

**PATRÍCIA MARIA DOMINGOS DE SOUSA CARNEIRO
BROCHADO**

**NANOTECNOLOGIA E A SUA APLICAÇÃO À
TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA**

Orientadora: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

LISBOA

2013

**PATRÍCIA MARIA DOMINGOS DE SOUSA CARNEIRO
BROCHADO**

**NANOTECNOLOGIA E A SUA APLICAÇÃO À
TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA**

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Orientadora: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

LISBOA

2013

*"The human tendency to regard little things as important
has produced very many great things."
(Georg C. Lichtenberg)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que me incentivaram, apoiaram e proporcionaram esta oportunidade de ampliar os meus horizontes.

À minha filha Lara e ao meu marido José, que tantas horas do seu tempo viram roubadas para que eu conseguisse atingir os objectivos a que me propus. Foram, sem dúvida, a minha força motriz;

Aos meus sogros, por acreditarem e me possibilitarem alcançar mais uma marca no meu percurso académico;

À Professora Doutora Catarina Pinto Reis pela sua dedicação, disponibilidade e conhecimentos transmitidos. Obrigada por ser a responsável pelo meu interesse na Nanotecnologia Farmacêutica.

A Todos um Bem-Haja

PALAVRAS-CHAVE

Nanotecnologia, Nanomedicina, nanossistemas, nanopartículas, terapêutica oncológica, cancro, diagnóstico

RESUMO

A nanotecnologia, e a sua aplicação na área da biomedicina, em particular na terapêutica e diagnóstico oncológico, tem sido alvo de um desenvolvimento exponencial, com impacto profundo no que respeita a cuidados de saúde. O cancro é uma das doenças que afecta mais pessoas a nível mundial, com elevados índices de mortalidade, níveis de sofrimento físico e emocional e, encargos para o doente, família e sociedade. É uma doença complexa, e a prática clínica convencional constitui um paradigma, na medida em que se revela insuficiente e extremamente agressiva, expondo o doente a medicamentos citotóxicos, não específicos, com elevada toxicidade sistémica e efeitos adversos. A Nanomedicina, e a exploração das propriedades únicas das nanopartículas, apresenta a potencialidade de melhorar a capacidade de detecção e diagnóstico do cancro e, aumentar a especificidade e efectividade no tratamento das células tumorais. No entanto, o recurso a nanotecnologias continua a ser alvo de alguma controvérsia e cepticismo por parte de alguns elementos das comunidades científicas e académica.

Com nanoprodutos já aprovados e utilizados em prática clínica e muitos outros em desenvolvimento e investigação em ensaios clínicos, a realização deste trabalho tem como objectivo compreender os conceitos de nanotecnologia e Nanomedicina, perceber o estado da arte, ponderando as vantagens e desvantagens da abordagem “nano” e a sua real aplicação à terapêutica oncológica.

KEYWORDS

Nanotechnology, nanomedicine, nanocarriers, nanoparticles, cancer therapy, cancer diagnosis

ABSTRACT

Nanotechnology and its application in biomedicine, particularly in cancer diagnosis and treatment, has been the target of an exponential development, with profound impact on healthcare. Cancer is a disease that affects more people globally, with high mortality rates, levels of physical and emotional suffering and burden for the patient, family and society. It is a complex disease, and the conventional clinical practice constitutes a paradigm, as it is not quite effective and extremely aggressive, exposing the patient to non-specific cytotoxic drugs, with high systemic toxicity and adverse effects. Nanomedicine and exploitation of the unique properties of nano-sized particles, has the potential to improve the detection and diagnosis of cancer and increase the specificity and effectiveness in the treatment of tumor cells. However, the use of nanotechnology remains the subject of some controversy and uncertainty by some elements of the scientific and academic communities.

With nanomedicines already approved and used in clinical practice, and many others in development and research in clinical trials, this work aims to understand the concepts of nanotechnology and nanomedicine, realize the state of art, balancing the advantages and disadvantages of the "nano" approach and its actual application to cancer therapy.

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADC	Conjugados de Anticorpo-fármaco (<i>Antibody-drug conjugates</i>)
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ag	Prata
AIM	Autorização Introdução no Mercado
Al₂O₃	Alumina
alloSCT	Transplante autólogo (ou alogénico) de células estaminais (<i>Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation</i>)
AMF	Campos electromagnéticos alternados (<i>alternating magnetic field</i>)
ARF	Ablação por radiofrequência
ARKS	Sarcoma de Kaposi relacionado com SIDA (<i>AIDS-related Kaposi's Sarcoma</i>)
Au	Ouro
BHE	Barreira Hemato-encefálica
CE	Comissão Europeia
DMT	Dose Máxima Tolerada
EMA	Agência Europeia do Medicamento
EPR	Efeito de permeabilidade e retenção aumentada
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe₂O₃	Óxido de Ferro
FR	Receptores de folato
FRET	Transferência de energia de ressonância por fluorescência
HA	Hidroxiapatite

HBV	Vírus da Hepatite B
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Vírus do papiloma humano
HPMA	N-(2-hidroxipropil)-metacrilato
ICH	Conferência Internacional de Harmonização
IFP	Pressão do fluido intersticial
IM	Intramuscular
INC	Instituto Nacional do Cancro
IV	Intravenoso
LLA	Leucemia Linfocítica Aguda
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
MHT	Hipertermia magnética (<i>magnetic hyperthermia</i>)
MLV	Vesícula multilamelar (<i>multilamellar vesicle</i>)
MTS	Sistema <i>multi-targeting</i>
MWNTs	Nanotubos multicamada (<i>Multi-walled nanotubes</i>)
N&N	Nanociências e Nanotecnologias
NLC	Transportadores lipídicos nanoestruturados
NLS	Nanopartículas lipídicas sólidas
nm	nanómetros
NP	Nanopartículas
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Princípio Activo

PAMAM	Poli-(amidoamina)
PCL	Poli-(ε-caprolactona)
PEG	Polietilenoglicol
PEHAM	Poli-(éter-hidroxilamina)
PGA	Ácido poli(glutâmico)
PLA	Ácido poliláctico
PLGA	Ácido poli(láctico-co-glicólico)
PPI ou DAB	Poli-(propileno-imina)
QD	Ponto Quântico (<i>Quantum Dot</i>)
RMI	Ressonância Magnética de Imagem
ROS	Espécie reactiva de oxigénio
SFM	Sistema fagocitário mononuclear
SiO₂	Silício
siRNA	Ácido ribonucleico de interferência (<i>small interfering RNA</i>)
SLP	Sobrevivência livre de progressão
SPARC	<i>Secreted protein acidic rich in cysteine</i>
SPION	Nanopartícula superparamagnética de óxido de ferro
SRE	Sistema retículo-endotelial
SNC	Sistema Nervoso Central
SWNTs	Nanotubos de monocamada (<i>Single-walled nanotubes</i>)
TiO₂	Óxido de Titânio
TRG	Taxa de resposta global

ULV Vesícula unilamelar (*unilamellar vesicle*)

ZrO₂ Zircónio

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
I. INTRODUÇÃO	1
1.1. Epidemiologia e Etiologia	1
1.1.1. Incidência	1
1.1.2. Variáveis Ambientais/Geográficas e Factores de Risco	3
1.1.3. Idade	3
II. NANOTECNOLOGIA E NANOMEDICINA: UMA GRANDE REALIDADE EM PEQUENA ESCALA	5
2.1. Definição nanomedicina e nanotecnologia	5
2.2. Enquadramento Histórico	7
2.3. Desenvolvimento de Nanossistemas para veiculação de Fármacos	10
2.3.1. Capacidade de Carga ou <i>Loading Capacity</i>	11
2.3.2. Segurança	11
2.3.3. Destino Metabólico	12
2.3.4. Farmacocinética	13
2.3.5. Estabilidade/ Taxa de libertação do Fármaco	13
2.4. Método de Produção	14
2.4.1. Material Encapsulante	14
2.4.1.1. <i>NPs Poliméricas</i>	15
2.4.1.2. <i>NPs Lipídicas</i>	15
2.4.1.3. <i>Dendrímeros</i>	17
2.4.1.4. <i>NPs Proteicas</i>	18
2.4.1.5. <i>SPIONs</i>	18
2.4.1.6. <i>NPs Cerâmicas</i>	19
2.4.1.7. <i>NPs Metálicas</i>	21
2.4.1.8. <i>Quantum Dots</i>	22
2.4.1.9. <i>Fulurenos e Nanotubos de Carbono</i>	23
III. NANOMEDICINA E TERAPIA ONCOLÓGICA	24
3.1. Medicina Translacional	25
3.2. Nanotecnologia Oncológica: Quais os desafios?	27

3.2.1. Vascularização Anormal (sanguínea e linfática)	27
3.2.2. Efeito de Permeabilidade e Retenção Aumentada (EPR)	28
3.2.3. Clearance de Nanopartículas pelo Sistema Fagocitário Mononuclear (SFM)	29
3.2.4. Factores com Impacto na distribuição das NPs	29
3.3. Vectorização de Fármacos na Oncologia	30
3.3.1. Vectorização Passiva	30
3.3.2. Vectorização Activa	32
3.3.3. <i>Multi-targeting</i>	33
3.4. Avaliação Risco-Benefício	35
IV. DISCUSSÃO	51
4.1. Questões de Segurança	52
4.2. Questões Éticas	53
4.3. Questões Regulamentares	54
4.4. Perspectivas Futuras	55
V. CONCLUSÃO	57
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
GLOSSÁRIO	75

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 Exemplos de Nanotecnologias aplicadas na área da Oncologia	35
Tabela 2 Taxa de Resposta nos estudos realizados	37
Tabela 3 Comparação da toxicidade da combinação de Abraxane®+Gemcitabina <i>versus</i> Gemcitabina	43
Tabela 4 Comparação da eficácia da combinação de Abraxane®+Gemcitabina <i>versus</i> FOLFIRINOX	43
Tabela 5 Comparação da toxicidade da combinação de Abraxane®+Gemcitabina <i>versus</i> FOLFIRINOX	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Gráf. 1 Incidência e Mortalidade dos principais tipos de cancro, por sexo, no ano de 2008 na Europa.	2
Fig. 1 Evolução dos nanossistemas	8
Fig. 2. Metodologia de desenvolvimento para nanossistemas	10
Fig. 3 Métodos de Produção de Nanossistemas	14
Fig. 4 Tipos de Materiais Encapsulante	14
Fig. 5 Estrutura esquemática de um Lipossoma <i>versus</i> uma micela	16
Fig.6 Estrutura básica de um dendrímero	17
Fig. 7 NPs de Sílica em forma de disco.	20
Fig. 8 QDs: 1) Espectro de Fotoluminescência de QDs em relação ao comprimento de onda de emissão; 2) QDs na forma de pós; 3) Dimensões de Qds, em nm, com a correspondência de cor ao comprimento de onda de emissão.	22
Fig. 9 Modelo do Fulureno – 60	23
Fig. 10 Nanotubos de Carbono: A) MWNT e B) SWNT	24
Fig. 11 Objectivos da Medicina Translacional	25
Fig. 12. Efeito EPR de nanopartículas em tumores	31
Fig. 13 Vectorização de NPs via endocitose mediada por receptores	33
Fig. 14 A) Concentração plasmática de Doxorubicina após administração única de 1,5 mg/kg de doxorubicina lipossomal peguilada(PLD) (quadrados) <i>versus</i> doxorubicina convencional (círculos) em modelo animal. B) Concentração plasmática de doxorubicina total (linha) e doxorubicina encapsulada (tracejado) após administração IV de PLD	38
Fig. 15 Concentração tumoral (µg/gr de tecido tumoral) de doxorubicina em tumores do cólon murinos C26, implantados em ratinhos Balb/c após administração de PLD (barras pretas) ou doxorubicina	

convencional (barras cinza), com respectivo desvio padrão.	39
Fig. 16 Concentrações Intratumorais de Paclitaxel após administração de doses iguais de Abraxane® e Taxol em murganhos portadores de xenoinxertos MX-1 de cancro de mama humano	41
Fig. 17 <i>In Vivo</i>) Quantidade de doxorubicina presente no tumor após o recurso a hipertermia. <i>In Vitro</i>) Percentagem de doxorubicina libertada dos lipossomas de acordo com variação de temperatura	44
Fig. 18 <i>Case study</i> da terapêutica com Adcetris™	48
Fig. 19 Taxa de Resposta Objectiva e Duração da Resposta do T-DM1 <i>versus</i> Capecitabina+Lapatiniba.	49

I. INTRODUÇÃO

O cancro representa uma das principais causas de morte, em particular nos países desenvolvidos e, segundo a OMS, 7,6 milhões de pessoas em todo o mundo morreram, em 2008, vítimas de cancro.¹ Pode afectar qualquer pessoa, em qualquer faixa etária e estrato social, representando um encargo enorme para o doente, família e sociedade. Mais preocupante que a taxa de mortalidade é o sofrimento físico e emocional provocado pelas neoplasias.

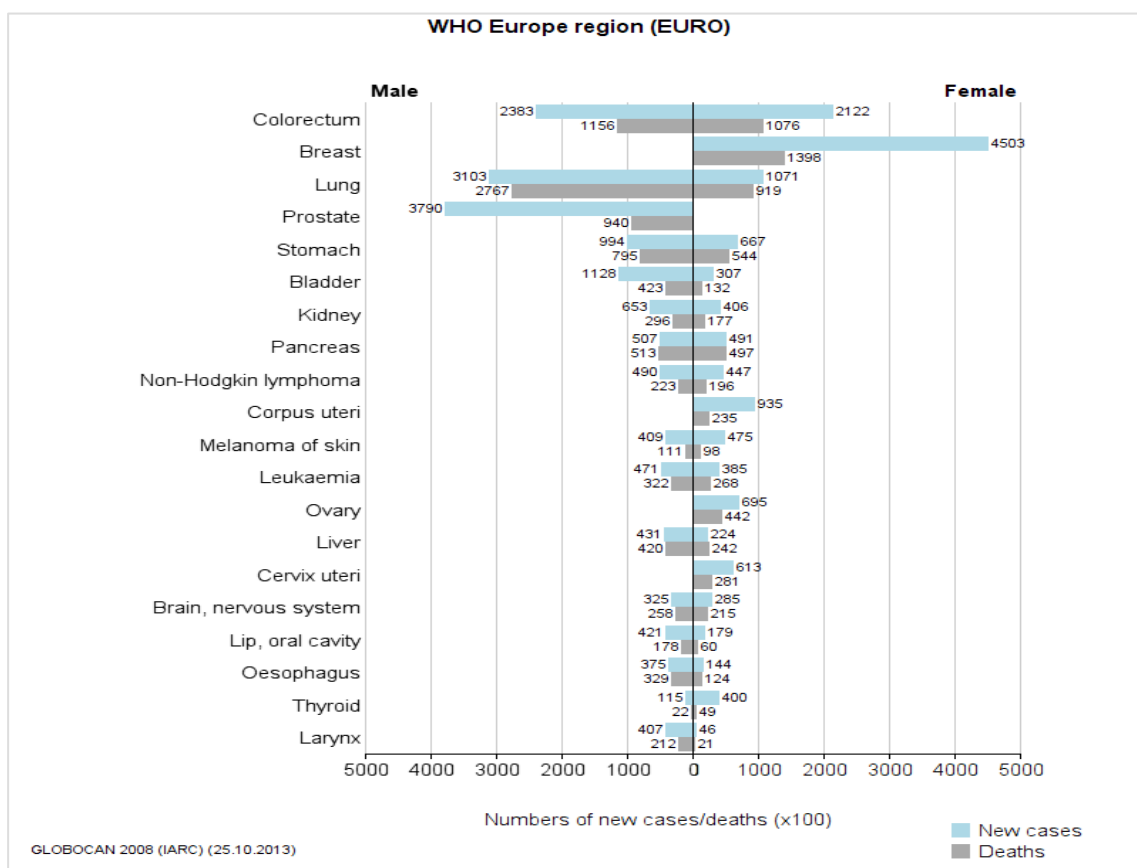
Neoplasia significa literalmente “crescimento novo”. Um neoplasma, comumente designado de tumor, é uma “massa anormal de tecido, cujo crescimento é descontrolado ultrapassando o do tecido normal, persistindo da mesma maneira excessiva após o término dos estímulos que provocaram a alteração.”^{2,3} Na oncologia, a divisão das neoplasias na categoria de benignas e malignas é importante na medida em que permite efectuar um julgamento do comportamento potencial do neoplasma. Certas características podem indicar um carácter inofensivo e outras podem indicar malignidade, sendo quatro os critérios fundamentais pelos quais os tumores benignos e malignos podem ser diferenciados:² diferenciação e anaplasia; taxa de crescimento; invasão local e metástase.

1.1. Epidemiologia e Etiologia

1.1.1. Incidência

A incidência do cancro varia de acordo com a idade, etnia, factores geográficos e condições genéticas. A maioria das neoplasias é esporádica; no entanto, sabe-se que a contribuição da herança genética é fulcral. A predisposição para cancros hereditários, ou familiares, pode ser autossómica dominante ou autossómica recessiva, sendo que a última encontra-se geralmente ligada à hereditariedade de uma mutação na linhagem germinativa dos genes supressores de tumores, ao passo que a primeira está associada a defeitos de reparação do ADN.

Alguma perspectiva sobre a probabilidade de desenvolver uma forma específica de cancro pode ser obtida a partir das taxas de incidência e dados de mortalidade, assim como o reconhecimento de alguns factores de risco. O gráfico 1 apresenta a taxa de incidência e mortalidade.



Gráf. 1 Incidência e Mortalidade dos principais tipos de cancro, por sexo, no ano de 2008 na Europa.

Fonte: OMS, Globocan 2008

Dados de 2008 indicaram que o cancro foi responsável por cerca de 13% de todas as mortes, sendo os principais tipos de cancro¹: pulmão (1,37 milhão de mortes); estômago (736 000 mortes); fígado (695 000 mortes); colorretal (608 000 mortes); de mama (458 000 mortes) e do colo do útero (275 000 mortes). Ainda segundo a OMS, estima-se que o número de mortes atinja os 13,1 milhões em 2030.

1.1.2. Variáveis Ambientais/Geográficas e Factores de Risco

Apesar de existirem avanços impressionantes na compreensão da patogenia molecular do cancro, através do estudo dos cancros hereditários, não se pode excluir as variáveis ambientais e geográficas e a sua potencial causalidade, dado que os factores ambientais que originam mutações somáticas são a causa predominante dos cancros esporádicos mais comuns. O cancro surge de uma única célula e a sua transformação, de uma célula normal numa célula de tumor, é um processo de várias fases. Estas mudanças, em que a lesão genética se encontra na origem da carcinogénese, são o resultado da interacção entre a predisposição genética do próprio doente e três categorias de agentes externos: carcinogénicos químicos (acção directa ou indirecta); energia radiante (radiação ionizante e raios UV) e microorganismos (oncogénese viral e microbiana).

De facto, a exposição a determinados carcinogénicos e a adopção de comportamentos de risco estão entre as possíveis influências ambientais que mais impacto possam ter no desenvolvimento de determinadas neoplasias. O conhecimento sobre as causas do cancro, e intervenções para prevenir e controlar a doença é extenso. Cerca de 30% das mortes poderiam ser evitadas modificando ou evitando factores de risco, incluindo¹: tabagismo, excesso de peso ou obesidade, dieta pouco saudável, com baixa ingestão de frutas e vegetais, falta de actividade física, consumo de álcool, infecção por HPV - sexualmente transmissível, poluição, etc.. O tabagismo é dos factores de risco mais importante, uma vez que é responsável por 22% das mortes globais de cancro e 71% das mortes globais por cancro do pulmão. Em muitos países menos desenvolvidos, até 20% das mortes são devidos à infecção por HBV e HPV.¹

1.1.3. Idade

A idade é outro factor fundamental para o desenvolvimento de cancro. Em geral, a frequência das neoplasias aumenta com o avançar da idade, sendo que a maior mortalidade ocorre na faixa etária dos 55-75 anos. O aumento da incidência com a idade pode ser explicado através da acumulação de mutações somáticas associadas ao aparecimento de neoplasias malignas, e um factor que lhe pode estar subjacente corresponde ao declínio da competência imune. A acumulação global de risco é combinada com a tendência de diminuição da eficácia, que os mecanismos de reparação celular apresentam, à medida que a pessoa envelhece.²

A terapêutica convencional para o tratamento do cancro consiste na dissecação cirúrgica (quando possível), radioterapia e/ou quimioterapia. No entanto, estas modalidades apresentam eficácia limitada, altos níveis de citotoxicidade e vários efeitos secundários indesejados. Adicionalmente, a natureza da patologia implica elevadas hipóteses de reincidência, estando associadas a tumores mais agressivos e resistentes à terapêutica.⁴

A nanotecnologia, tanto a nível do diagnóstico, como da terapia e prevenção, proporciona uma nova forma de abordar esta doença. Este trabalho pretende demonstrar o seu contributo, no que respeita à terapia oncológica.

II. NANOTECNOLOGIA E NANOMEDICINA: UMA GRANDE REALIDADE EM PEQUENA ESCALA

“As nanociências e nanotecnologias (N&N) são abordagens à investigação e desenvolvimento (I&D) que se referem ao estudo dos fenómenos e manipulação de materiais às escalas atómica, molecular e macromolecular, onde as propriedades diferem significativamente das de grande escala.”⁵

A aplicação da nanotecnologia para o desenvolvimento de medicamentos mais seguros e eficazes veio alterar o panorama das indústrias farmacêuticas e de biotecnologia. Os sistemas de veiculação de fármacos, assim como o ritmo exponencial de inovação e sucessos emergentes baseados em nanopartículas, têm impulsionado o interesse crescente pela área da Nanomedicina.⁶

2.1. Definição Nanomedicina e nanotecnologia

As definições de Nanotecnologia e Nanomedicina continuam a ser alvo de bastante controvérsia, não existindo, até ao momento, uma classificação universalmente aceite.⁷

A nanotecnologia é a ciência que estuda a compreensão e o controlo da matéria a dimensões entre 1 a 1000 nm, englobando engenharias e tecnologias, envolvendo áreas como a imagiologia, medição, modelação e manipulação de matéria a nanoescala. É uma área transversal a vários domínios científicos, como Engenharia de Materiais, Energia, Biotecnologia, Electrónica e Computação.⁸ Esta é uma das definições que tem sido dada como a que reúne maior consenso. Vários são os debates que visam uniformizar estes termos, no entanto devido à complexidade de definir o que consiste na realidade um “nanomaterial”, e qual a dimensão exacta da nanoescala, tem dificultado a sua concretização. Existem diversos grupos (académicos, científicos e industriais) que consideram que um nanomaterial, só assim o pode ser classificado se as suas dimensões estiverem compreendidas entre 1 a 100nm. No entanto, esta classificação peca pelo facto de não incluir todos os nanomateriais. Devido ao impacto que pode causar na qualidade de saúde das sociedades futuras, é na área da Biotecnologia e Saúde que se concentram as maiores expectativas sobre as potencialidades da nanotecnologia.

A Nanomedicina utiliza ferramentas da nanotecnologia para aplicação no diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças assim como para aumentar o conhecimento e compreensão acerca dos seus processos fisiopatológicos.⁹ Neste campo, o objectivo é manipular matéria de modo a obter nanoestruturas do mesmo tamanho de biomoléculas para interacção com as células humanas, permitindo alcançar um leque de soluções para o diagnóstico e terapêutica, estimulando os próprios mecanismos de reparação individuais.¹⁰

O recurso a micro- e nanossistemas para a administração de fármacos tem tido cada vez mais expressão, e o seu desenvolvimento implica a concepção de novos materiais e métodos, tais como radiofrequência para a vectorização de moléculas individuais ou a supressão da resposta imunitária a um dispositivo de libertação.¹¹

A Nanomedicina engloba as três principais áreas da nanotecnologia desenvolvidas para aplicação na área da saúde:⁹

1. Diagnóstico, biosensores e ferramentas cirúrgicas que podem ser utilizadas no exterior do doente;
2. Agentes de imagem e tecnologias de monitorização que podem ser utilizadas para o diagnóstico; nas células do doente
3. Tecnologias de inovação e biomateriais (muitas vezes combinadas com terapia celular) que podem ser utilizadas em veiculação e libertação de fármacos e, promoção da reparação e engenharia tecidual. Muitas aplicações requerem apenas manipulações *ex vivo*, mas a maioria permite que a administração ao doente possa ser efectuada utilizando uma das diferentes vias de administrações disponíveis (ex. tópica, oral, parental, pulmonar, implante cirúrgico, etc.)

Nanomedicina, continua a ser um termo muito lato, que inclui nanomedicamentos, nanoagentes de imagiologia e diagnóstico (teranóstico, terapia e diagnóstico simultaneamente). Os nanomedicamentos podem ser desenvolvidos tanto como sistemas de veiculação de fármacos como medicamentos biologicamente activos, com a ressalva de que o termo engloba sistemas complexos de escala nanométrica, compostos pelo menos por dois componentes, um dos quais é o princípio activo.⁹

O relatório do centro de pesquisa da Comissão Europeia (CE) “*Nanomedicina: drivers para o desenvolvimento e possíveis impactos*” é também uma fonte de informação que permite, adicionalmente, constatar o seguinte:⁹

- Nanopartículas (NPs) para aplicação médica são definidas como partículas com um tamanho compreendido entre 1 e 1000 nm;
- *Biochips* são classificados como nanotecnologia apenas se incluírem componentes de nanoescala;
- Polímeros terapêuticos são classificados como nanotecnologia.

2.2. Enquadramento Histórico

Apesar de ser um tema actual, “pensar nano” não é algo novo. Já em 1857, Michael Faraday atribuiu as diferenças de cores das soluções de ouro coloidal, dependendo do seu estado de polarização, ao tamanho das partículas de ouro que as compunham ¹² e, em 1908, Ilya Metchnikov e Paul Ehrlich receberam o Prémio Nobel da Medicina. Metchnikov contribuiu para a compreensão dos processos de fagocitose celular, e a sua importância no sequestro de determinadas partículas ¹³, e Ehrlich defendeu o conceito de diagnóstico específico celular assim como a necessidade da existência de terapêuticas direccionadas a células-alvo. ¹⁴

Na segunda metade do século 20 começam a surgir os primeiros nanomedicamentos, rodeados de grande cepticismo por parte da comunidade clínica, que punha em causa o seu potencial terapêutico tendo em conta o seu tamanho (como é que moléculas tão pequenas eram efectivamente capazes de curar doenças), a real aplicabilidade para produção industrial e a sua viabilidade económica. ⁹

A promoção da investigação interdisciplinar e da descoberta de mecanismos coloidais para a veiculação de fármacos em 1960 e 1970, conduziu ao desenvolvimento de nanotecnologias que incluíam **lipossomas** (Bangham, Gregoriadis, Papahadjopoulos, Barenholz) ¹⁵⁻¹⁹, **nanopartículas** e **nanocápsulas** (Speiser, Couvreur, Kreuter) ²⁰⁻²², **complexos Fármaco-DNA** (De Duve, Trouet) ²³, e **conjugados de fármaco-polímero** (Davis) ²⁴. O desenvolvimento destas últimas NPs foi possível ao modificar sua superfície polimérica, utilizando polietilenoglicol (PEG), com vista a impedir a opsonização, isto é, a ligação não específica da NP a superfícies de componentes do sangue. Deste modo conseguiu-se reduzir a sua rápida absorção e depuração *in vivo* pelas células do sistema fagocítico mononuclear, permitindo um prolongamento do seu tempo de meia-vida. ^{6,25}

A partir dos anos 90, as **NPs de Óxido de Ferro** começaram a ser clinicamente aplicadas em soluções para infusão parental, usadas para tratar anemias²⁶ e como agentes de imagem para ressonância magnética (RMI).

Conjugados de **anticorpo-fármaco** (Wilchek, Arnon, Sela)²⁷, **albumina-fármaco** (Trouet),²⁸ e **bloco micelar copolimérico** (Ringsdorf, Kataoka, Kabanov)^{29–31} foram as tecnologias que se seguiram.

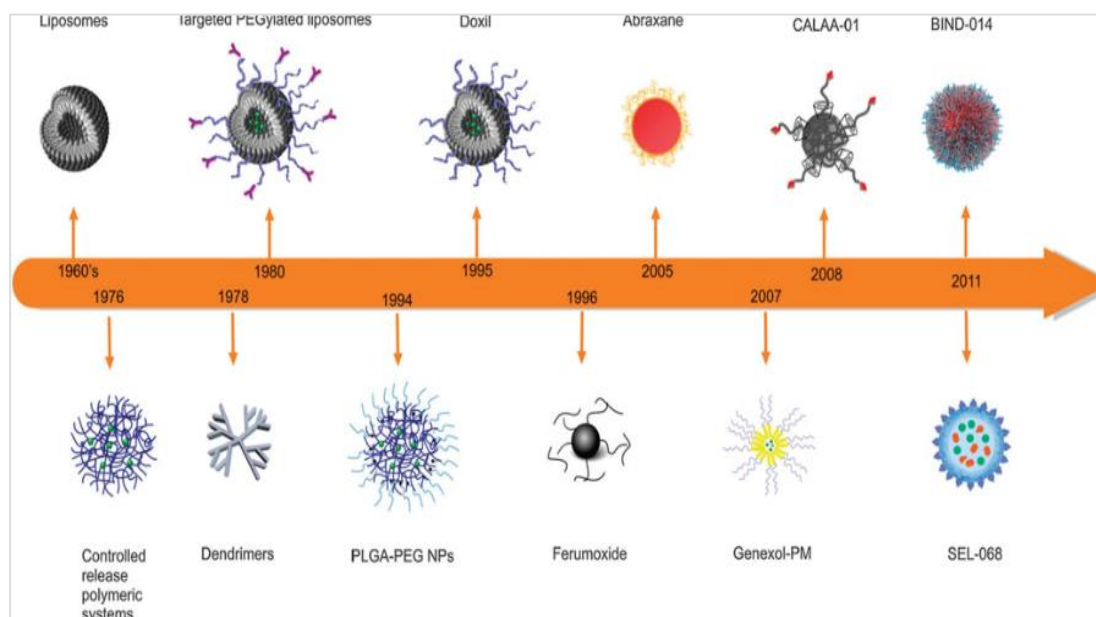


Fig. 1 Evolução dos nanossistemas

Adaptado Chem Soc Rev. Kamaly, N. et al. (2012)

Com o desenvolvimento da investigação surgiu a capacidade para potencialmente aumentar a especificidade das NPs através de bioconjugação de ligandos de afinidade tais como anticorpos, fragmentos de anticorpos, péptidos, aptâmeros (Apts), açúcares e pequenas moléculas de superfície, com vista a obter NP dirigidas.^{6,32–34}

É importante sublinhar que cada uma destas nanotecnologias de 1ª geração foi categorizada em várias classes tendo em consideração as suas diferentes características físico-químicas e tamanho em nanoescala: por exemplo, lipossomas (80-200nm), nanopartículas (20-1000nm), polímeros terapêuticos (5- 25 nm), bloco micelar copolimérico (50-200 nm), nanopartículas de ouro (5-50 nm) e nanocristais (100-1000 nm). Foram concebidas com o objectivo de (i) o fármaco conseguir alcançar um determinado órgão, célula doente ou compartimento intracelular (ex. núcleo, citosol), dirigindo-o para longe de locais onde a sua acção poderia ser potencialmente tóxica (obtendo deste modo um índice terapêutico óptimo)

e/ou (ii) libertar a concentração requerida, durante apenas o tempo necessário de modo a maximizar o efeito farmacológico, minimizando a toxicidade não específica.⁹

Entre as NPs de primeira geração, surgem o DOXIL[®], o Abraxane[®] e o Genexol -PM[®] desenvolvidos para terapia oncológica.³⁵⁻³⁷

DOXIL[®] foi o primeiro lipossoma peguilado aprovado pela FDA, em 1995, para aplicação clínica em doentes com Sarcoma de Kaposi associado ao HIV. Este sistema de veiculação demonstrou que as NPs de DOXIL[®] conduziram a uma maior concentração de doxorubicina no tumor (5 a 11 vezes superior), com a consequente melhoria da eficácia, e toxicidade reduzida³⁸

Em 2005, surge a aprovação do Abraxane[®] (tecnologia nab - paclitaxel) pela FDA, que se baseia na plataforma *nab* (NP ligada à albumina). O paclitaxel e docetaxel encontram-se estabelecidos como padrões de tratamento, quer em monoterapia ou em combinação com outros agentes citotóxicos, no cancro metastático da mama. A actividade do paclitaxel ligado à albumina na fase II e III de ensaios clínicos indicaram a sua eficácia significativa no tratamento deste tipo de cancro.³⁹

Os doentes tratados com Abraxane[®] demonstraram uma taxa de resposta global (TRG) significativamente maior (33% vs 19%), assim como um aumento do tempo de progressão do tumor (23,0 vs 16,9 semanas), em relação aos doentes em terapia com paclitaxel padrão formulado com Cremophor[®] EL¹ (Taxol). A incidência de neutropénia de grau 4 foi significativamente inferior para o Abraxane[®] em comparação com o paclitaxel padrão (9% vs 22%) apesar de conter uma dose de paclitaxel 49 vezes superior. Estes dados confirmaram os estudos pré-clínicos e clínicos que demonstraram que o paclitaxel ligado à albumina está associado a uma melhor tolerância em comparação com o paclitaxel padrão. A tecnologia *nab* permite eliminar a necessidade de utilização de Cremophor[®] EL (excipiente tóxico) conduzindo a um aumento da dose máxima tolerada (DMT). No entanto, nem todos os fármacos são passíveis de serem conjugados com a albumina.

O Genexol - PM[®] (micela polimérica contendo paclitaxel), foi aprovado na Coreia em 2007. Esta formulação e tal como o Abraxane[®] também não utiliza o Cremophor[®] EL, permitindo um aumento da DMT até 300 mg/m² a cada 3 semanas durante o tratamento.⁴⁰

Cada classe de NPs, clinicamente validada, fez progressos suficientes, conseguindo a aprovação bem-sucedida, demonstrando a segurança e eficácia; porém, cada uma tem limitações únicas e existem alguns aspectos que devem ser tidos em conta durante a sua

¹ Cremophor EL – Óleo de ricínio (ou óleo de castor) polioxietilado
Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias – Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

formulação. Para que cada classe consiga melhorar as propriedades farmacêuticas e farmacológicas de determinado fármaco, resultando numa nova terapêutica altamente diferenciada, com incrementos a nível da segurança e eficácia, na maioria dos casos, será necessário alterar e calcular de modo previsível e ajustado, a farmacocinética, biodisponibilidade do fármaco e a exposição dos tecidos ao mesmo.^{41–43}

O mais sofisticado dos sistemas consegue combinar, simultaneamente, a capacidade de atingir o local-alvo com a libertação controlada do agente bioactivo, o que permite um potencial para aplicação terapêutica mais variado. Actualmente, existem cerca de 250 produtos de nanomedicina em vários estágios pré-clínicos e desenvolvimento clínico.⁶

2.3. Desenvolvimento de Nanossistemas para veiculação de fármacos

Quando se pensa em nanossistemas para veiculação de fármacos e imagiologia existem vários aspectos a considerar. De acordo com a sua aplicação terapêutica, o nanoproducto em desenvolvimento deve ser optimizado tendo em conta a dosagem provável, a via e frequência de administração.

Independentemente do seu tipo e/ou aplicação, a metodologia para o seu desenvolvimento mantém uma sequência de *checkpoints* comum a todos os nanossistemas, esquematizada na Fig. 3.⁹

Assim, o conhecimento de elementos como a sua capacidade de carga, segurança, farmacocinética, destino metabólico, estabilidade e taxa de libertação de fármaco é de primordial importância durante esta fase.

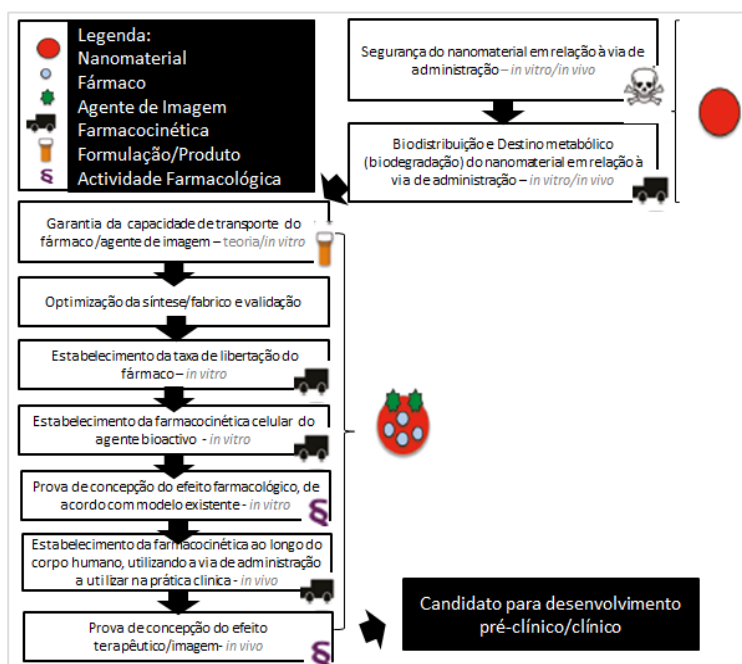


Fig. 2. Metodologia de desenvolvimento para nanossistemas

Adaptado Mol.Pharmaceutics., Duncan et Gaspar, (2011)

2.3.1. Capacidade de Carga ou *Loading Capacity*

Se o nanoproducto é biologicamente activo por si só (fármaco ou agente quelante), é essencial que a dose necessária para apresentar actividade farmacológica seja a menor possível, de modo a permitir uma formulação prática para a administração ao doente, dado que o tamanho de comprimidos/cápsulas/óvulos e volume de infusões/suspensões têm um determinado limite.⁹ Similarmente, um nanossistema de transporte de fármaco ou agente de imagem, tem de apresentar uma capacidade de carga útil suficientemente elevada para garantir a eficácia do mesmo. A potência, estrutura, propriedades físico-químicas e mecanismo de acção do componente bioactivo são essenciais para determinar a sua adequabilidade à incorporação num nanoproducto.⁹

2.3.2. Segurança

A toxicidade/imunotoxicidade do sistema como um todo ou dos seus componentes individuais (em resultado da acção de degradação/metabolismo) deve ser considerada logo no início quando se selecciona a via de administração.⁹ Apesar de alguns autores referirem que durante muito tempo, a indústria farmacêutica utilizava NPs com o intuito de reduzir a toxicidade e efeitos adversos dos fármacos sem, no entanto, considerar que os sistemas de transporte, acarretavam eles próprios riscos para os doentes ⁴⁴, a verdade é que os investigadores, desde o início, sempre estudaram a toxicidade geral, hematocompatibilidade, activação do complemento, imunotoxicologia, farmacocinética, toxicocinética e destino metabólico de todos os materiais propostos para a composição dos sistemas de libertação/vectorização de fármacos. ^{45–51} Deste modo, os materiais/productos a utilizar em Nanomedicina devem ser submetidos a uma rigorosa avaliação pré-clínica, assegurando as boas práticas de fabrico e de laboratório em todo o seu processo de desenvolvimento. ^{52–54}

No entanto, todos os medicamentos apresentam efeitos adversos, e os nanomedicamentos também não são excepção. A questão consiste em saber estimar a relação risco-benefício. As técnicas utilizadas para avaliar a segurança dos nanossistemas estão em constante evolução. Muitas vezes, são efectuados testes de citotoxicidade *in vitro* (ex. polímeros^{45,55,56}, dendrímeros^{57–60} e NPs poliméricas^{61,62}) para se obter uma primeira indicação do risco da utilização de determinado material para uma aplicação particular.⁹ Para cada nanossistema é essencial assegurar que o portfólio de testes e ensaios a realizar, esteja cuidadosamente optimizado. A duração dos ensaios deve ter em consideração a farmacocinética do material utilizado: uma única leitura de resultados a um dado tempo pode

conduzir a falsos positivos/negativos; é, por isso, necessário o recurso a um intervalo de tempo adequado, para que se consiga, efectivamente, traduzir a realidade. Similarmente, a linhagem de células escolhida deverá ser aquela a que, *in vivo*, a probabilidade de exposição seja a mais elevada e, a utilização de técnicas analíticas, apenas deve ser admitida quando é do conhecimento que os analitos não interferem com a leitura dos resultados.⁹

2.3.3. Destino Metabólico

Questões relacionadas com a segurança de cada componente do nanossistema e/ou os metabolitos que podem ser produzidos após a degradação/metabolismo *in vivo* devem ser colocadas.

Embora informação sobre os limites de exposição permitidos para muitos componentes inorgânicos de partículas nanométricas (por exemplo, ouro, prata, ferro, cádmio, etc.)⁶³ esteja bem documentada, os riscos potenciais a longo prazo da utilização de novos polímeros no desenvolvimento/revestimento de NPs não é totalmente conhecido. A biodegradação dos materiais nem sempre está presente. Muitos polímeros frequentemente utilizados, ex. PEG, não são biodegradáveis e, apesar de se recorrer a fracções poliméricas de baixo peso molecular de modo a facilitar a excreção renal, existe o perigo da sua acumulação no complexo lisossómico quando se trata de administração crónica.⁹

As consequências fisiopatológicas da acumulação de macromoléculas nos lisossomas, encontram-se descritas no contexto das disfunções lisossómicas. Estas disfunções têm, normalmente, a sua etiologia em mutações genéticas que resultam na ausência ou deficiência de enzimas catabólicas, cruciais para a digestão dos conteúdos lisossomais.⁶⁴ A potencialidade de acumulação de materiais não biodegradáveis tem sido clinicamente reportada, e o facto de proteínas peguilladas poderem induzir (mesmo que transitoriamente) vacuolização intracelular em modelos animais⁶⁵⁻⁶⁷, ilustra bem a necessidade de considerar cuidadosamente os potenciais efeitos destes materiais na função normal dos lisossomas.

Deste modo, nanossistemas cuja administração esteja prevista para longo prazo e/ou em doses elevadas, devem ser preferencialmente biodegradáveis (ou seja, que resultem em metabolitos com características atóxicas, excretáveis e/ou reabsorvíveis). Se não forem biodegradáveis, a cinética de excreção/eliminação renal e/ou hepatobiliar deve ser confirmada num estágio inicial.⁹

2.3.4. Farmacocinética

Os nanoproductos são muitas vezes desenvolvidos para aumentar a biodisponibilidade, capacidade de controlar a libertação de fármaco ou promover a sua vectorização, pelo que não seja surpreendente que os produtos que demonstram maior efectividade, tenham sido alvo de um criterioso estudo de farmacocinética aquando o seu desenvolvimento. Não importa quão promissora seja a resposta farmacológica, se o sistema não for capaz de atingir o seu alvo terapêutico, nunca será eficaz na prática clínica. O estabelecimento precoce do perfil farmacocinético é essencial, mesmo após comprovação da actividade farmacológica.⁹

Farmacocinética Total e Biodistribuição⁹: Todos os nanoproductos têm de ser dotados da capacidade de ultrapassar as barreiras biológicas⁶⁸ que, por um lado, protegem o organismo da entrada de agentes patogénicos e, por outro servem para compartimentar as vias bioquímicas/celulares biológicas responsáveis pela homeostase fisiológica normal.

Dependendo do alvo terapêutico e da via de administração, a farmacocinética tem de ser ponderada (i) ao nível da distribuição pelos órgãos do corpo, (ii) da distribuição celular nos tecidos (ex. fígado ou um tumor como patologia alvo), (iii) ao nível intracelular e/ou (iv) nível dos organelos celulares.

Farmacocinética Celular:⁹ se um nanotransportador requiere internalização e passagem para um dado compartimento intracelular antes da activação farmacológica, é essencial demonstrar a viabilidade do *uptake* celular, quantificar a taxa de internalização e determinar o destino intracelular. A compreensão e a optimização da taxa de absorção celular e da localização da libertação do agente bioactivo é o factor chave que irá determinar o resultado clínico. Para obter a eficácia pretendida, é necessário que o nanossistema liberte a quantidade de fármaco suficiente para o alvo farmacológico a uma taxa compatível com mecanismo de acção e, ter a capacidade de repetição de dosagem de acordo com a duração da acção farmacológica, taxas de reposição do alvo, e metabolismo do próprio fármaco.

2.3.5. Estabilidade/ Taxa de libertação do Fármaco

A degradação prematura de um nanomaterial e/ou a dissociação de ligações covalentes ou não covalentes entre as superfícies de revestimento do nanossistema são indicativos de uma estabilidade inadequada, e podem ocorrer durante a sua formulação, armazenamento e em dispositivos utilizados na administração aos doentes (ex. tubos de infusão).⁹

Uma fraca estabilidade pode afectar negativamente o perfil de segurança e eficácia, comprometendo simultaneamente a taxa de libertação do fármaco. Deste modo, durante o desenvolvimento de um nanossistema, são requeridas provas de concepção com estudos quantitativos que comprovem a adequada estabilidade.

2.4. Método de Produção

Existem duas abordagens básicas utilizadas na produção de nanossistemas: a técnica *Bottom-up* e a técnica *Top-Down*. Na primeira, parte-se de baixo para cima, ou seja, a partir de componentes à escala atómica e molecular, “cria-se” o sistema em estruturas ordenadas. Esta abordagem requer menos quantidade de material, e tem geralmente associadas perdas menores em relação à produção utilizando o

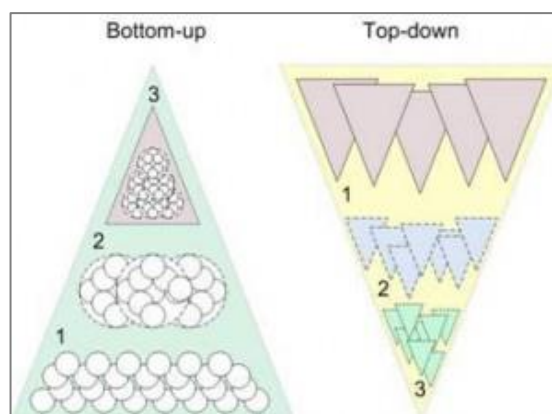


Fig. 3 Métodos de Produção de Nanossistemas²⁷³

método *Top-Down*. No entanto, trata-se de uma técnica mais demorada. Na segunda, parte-se de cima para baixo, ou seja, de grandes dimensões de material, o qual vai sendo reduzido sucessivamente até à escala nanométrica desejada. Esta abordagem requer maiores quantidades de material e pode conduzir a desperdícios se o excedente for descartado e não reaproveitado.

Consoante o tipo de material encapsulante a utilizar para o desenvolvimento do nanossistema, pode-se optar por uma destas abordagens ou por ambas, sendo que as metodologias para a sua obtenção serão diferentes.

2.4.1. Material Encapsulante

Várias nanotecnologias têm sido propostas para a utilização em Nanomedicina e a Fig.4 mostra algumas dessas estruturas. São designadas de acordo com os seus componentes e tipo de material encapsulante.

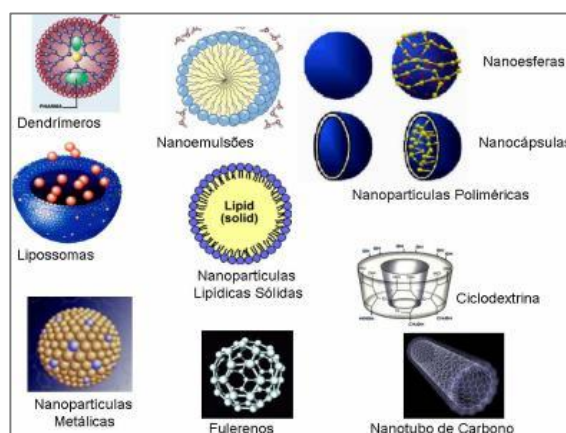


Fig. 4 Tipos de Materiais Encapsulante²⁷⁴

Para poderem ser utilizadas, é necessário identificar a aplicação específica, vantagem adicional na sua utilização e demonstrar o perfil de segurança. Além disso, cada uma das tecnologias deve também ser reprodutível, os seus componentes devem estar devidamente validados e apresentarem uma boa relação custo-efectividade quando a produção é efectuada a larga escala.

2.4.1.1. NPs Poliméricas

Diversos materiais poliméricos têm sido utilizados, há mais de 40 anos, nas áreas médicas e farmacêutica, numa grande variedade de tecnologias. Estes materiais evoluíram desde a sua aplicação em produtos com capacidade de biodegradação tais como suturas reabsorvíveis, implantes ortopédicos, sistemas de veiculação de fármacos, a macro e microescala, e matrizes, que possam actuar como depósitos de fármaco capazes de exercer a sua libertação controlada, até ao desenvolvimento de NPs multifuncionais, com vectorização e libertação controlada de fármacos e agentes de imagem.⁶

As NPs poliméricas têm a capacidade de encapsular diversos fármacos, e libertá-los de forma controlada por difusão das moléculas de fármaco através de uma matriz polimérica ou através de dissolução de camadas diferenciais de superfície de revestimento ou taxas de erosão em massa das partículas. Podem ser orientadas, incorporando na sua formulação ligandos-alvo, permitindo um aumento na sua taxa de absorção incrementando, deste modo, os resultados terapêuticos.⁶

Actualmente, os polímeros mais vulgarmente utilizados para aplicações de libertação controlada de fármacos incluem o poli (ácido D, L-láctico-co-glicólico) (PLGA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glutâmico) (PGA), poli (caprolactona) (PCL), copolímeros de N-(2-hidroxipropil)-metacrilato (HPMA), polissacáridos e poli (aminoácidos). Devido às suas propriedades de biocompatibilidade e biodegradação, PLA, PLGA e PGA têm sido amplamente utilizados numa quantidade impressionante de formulações. Isto deve-se, em parte, à clearance simplificada, das matrizes poliméricas, através dos sistemas metabólicos homeostáticos do organismo.^{69,70}

2.4.1.2. NPs Lipídicas

Dentro da categoria de NPS lipídicas, podemos ter pelo menos três tipos de NPs:

- Lipossomas
- Micelas

- Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS e NLC)

Lipossomas são vesículas microscópicas compostas de uma ou mais bicamadas lipídicas concêntricas, separadas por um meio aquoso. Podem encapsular substâncias hidrofílicas e/ou lipofílicas, sendo que as primeiras ficam no compartimento aquoso e as lipofílicas inseridas ou adsorvidas na membrana. Por serem biodegradáveis, biocompatíveis e não imunogénicos, os lipossomas, são altamente versáteis para pesquisa, terapêutica e aplicações analíticas.^{71,72} Estas vesículas são constituídas basicamente por fosfolípidos (podendo ser de natureza sintética ou natural), esteróis e um antioxidante.⁷³

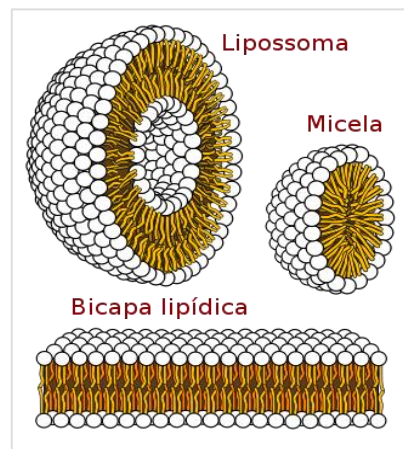


Fig. 5 Estrutura esquemática de um Lipossoma versus uma micela²⁷⁵

Os lípidos mais utilizados nas formulações de lipossomas são os que apresentam uma forma cilíndrica como as fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e esfingomiéline, que tendem a formar uma bicamada estável em solução aquosa. As fosfatidilcolinas são as mais aplicadas em estudos de formulação de lipossomas, pois apresentam grande estabilidade face a variações de pH ou da concentração de sal no meio.⁷⁴

Os lipossomas podem conter uma única bicamada lipídica ou bicamadas múltiplas em torno do compartimento aquoso interno e, portanto, são classificados em unilamelares (ULVs) e multilamelares (MLVs), respectivamente.⁷⁴

Micelas são definidas como um conjunto de moléculas de surfactante anfifílico, que se agregam de forma espontânea, quando em contacto com meio aquoso, adquirindo a forma de vesículas esféricas. O núcleo (centro) da micela é hidrofóbico e, portanto, tem a capacidade de encapsular fármacos hidrofóbicos. As micelas convencionais são formadas por uma camada constituída por moléculas de cabeça polar (hidrofílica) e cauda hidrofóbica (ex. fosfolípido) composta de hidrocarbonetos de ácidos gordos de cadeia longa.⁷⁵ O tamanho molecular do agente surfactante utilizado, assim como outras características físico-químicas, vão determinar o tamanho da micela obtida.⁷⁶

NPs lipídicas sólidas (NLS) foram desenvolvidas como um sistema alternativo de encapsulação de princípios activos em relação aos sistemas coloidais tradicionais, tais como emulsões, lipossomas e nanopartículas poliméricas. Na área farmacêutica, as NLS podem

ser usadas por todas as vias de administração, como a oral ⁷⁷, parenteral ⁷⁸ e cutânea ⁷⁹, devido ao seu tamanho reduzido e biocompatibilidade.⁸⁰

De acordo com a composição da matriz lipídica, as NPs lipídicas podem ser distinguidas em NLS (NPs de lípidos sólidos) e NLC (transportadores/vectores lipídicos nanoestruturados). Estas últimas, foram desenvolvidas com a finalidade de incrementar a capacidade de carga de fármaco das NLS e evitar o potencial efeito “burst”, recorrendo à mistura de lípidos sólidos com pequenas quantidades de lípidos líquidos (óleos) durante a sua formulação.

2.4.1.3. Dendrímeros

Um dendrímero é uma macromolécula polimérica à nano escala, composta por múltiplos monómeros (unidades funcionais) ramificados, que emergem radialmente a partir de um núcleo central (Fig.5).⁴

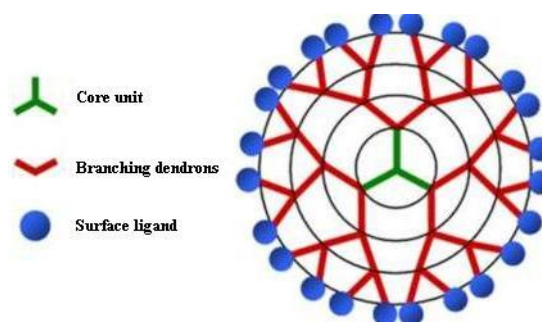


Fig.6 Estrutura básica de um dendrímero²⁷⁶

O alto nível de controlo sobre a arquitectura dendrítica (tamanho, funcionalidade das suas ramificações e densidade de superfície) faz dos dendrímeros plataformas de transporte ideais para aplicação clínica. Muitos fármacos, de tamanho molecular reduzido, com actividade anti-cancerígena, anti-inflamatória e antimicrobiana têm sido conjugados, com êxito, a dendrímeros de poli (amidoamina) (PAMAM), poli (propileno-imina) (PPI ou DAB) e poli (éter-hidroxilamina) (PEHAM), através de interacções físicas ou ligação química.⁸¹ Os dendrímeros apresentam geralmente um tamanho monodisperso, biocompatibilidade e solubilidade em água e cavidades internas, que os tornam úteis para veiculação de fármacos.^{4,82} A superfície facilmente modificável dos dendrímeros torna-os ainda polivalentes, podendo, simultaneamente, ser conjugados com ligandos (para vectorização terapêutica) e fármacos.⁸³

O dendrímero de PAMAM é o mais frequentemente utilizado como matriz de administração de fármacos. Tem sido, particularmente, aplicado em terapia oncológica, na veiculação de cisplatina, com resultados significativos.⁴

2.4.1.4. NPs Proteicas

Dentro do leque de potenciais nanossistemas coloidais para veiculação de fármacos, as NPs à base de proteínas desempenham um papel de elevada importância.⁸⁴ Grande parte deste tipo de NPs tem como ponto de partida na sua formulação albumina de soro humano e bovino, gelatina e proteínas de origem vegetal.

As proteínas são uma classe de moléculas de origem natural com funcionalidades únicas e potencialidades de aplicação quer no campo biológico, quer material. Os nanomateriais neste tipo de partículas são biodegradáveis, não antigénicos, metabolizáveis e podem ser facilmente adaptados, modificando a sua superfície, à conjugação com ligandos e fármacos.⁸⁵

A gelatina é um dos materiais proteicos que pode ser usado na formulação de NPs. É obtida através da hidrólise controlada de fibras de colagénio (proteína insolúvel), componente maioritário do tecido conjuntivo, pele e ossos.⁸⁶ O interesse nanofarmacêutico neste material advém do facto de ser biodegradável, não tóxico, facilmente moldável e modificável quimicamente, pode ser esterilizado e não é facilmente contaminado com pirogénios, possuindo uma antigenicidade relativamente baixa.

Sendo o elemento predominante do plasma, a albumina possui uma vantagem distintiva sobre os outros materiais: elevada biocompatibilidade e isenção de toxicidade e imunogenicidade. As NPs de albumina são biodegradáveis e de fácil preparação. Os fármacos encapsulados sofrem digestão por proteases e a capacidade de carga da NP pode ser facilmente quantificada.

De origem vegetal, a gliadina (extraída do glúten) é particularmente utilizada na preparação de NPs mucoadesivas, que tal como o seu nome indica, possuem a capacidade de aderir as camadas mucosas do organismo e aí exercerem o seu efeito farmacológico.

2.4.1.5. SPIONs

Pertencentes à classe de NPs superparamagnéticas, os SPIONs são alvo de elevado interesse científico devido às inúmeras propriedades que decorrem da formação de domínios magnéticos. Um material é superparamagnético quando exhibe magnetização apenas na presença de um campo magnético externo. Assim que este seja retirado, deixa de permanecer magnetizado, anulando qualquer tipo de magnetização residual. Este é um fenómeno que ocorre em materiais nanoparticulados com elevado grau de cristalinidade.^{87,88}

Entre os diversos materiais ferromagnéticos, os óxidos de ferro destacam-se pela sua disponibilidade, baixo custo, facilidade de preparação e estabilidade. As NPs superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) são compostas tipicamente por um núcleo de partículas magnéticas (usualmente magnetite, Fe_3O_4), revestido por um polímero, como por exemplo, o dextrano, que lhes confere o diâmetro final de 20-150nm.⁹ Têm normalmente a sua superfície modificada por agentes complexantes de modo a evitar a aglomeração das NPs, a reduzir potencial toxicidade, promover o controlo da biodistribuição e aumentar sua estabilidade impedindo que sejam rapidamente depuradas da circulação pelo sistema retículo-endotelial (SRE). Neste tipo de NPs é possível o revestimento polimérico dos SPIONs para melhorar a sua biocompatibilidade e estabilidade.⁸⁹⁻⁹³ Os SPIONs são normalmente utilizados para a formulação de agentes de imagiologia a utilizar em RMI, e a sua propensão para serem fagocitados resulta na visualização das imagens em negativo.

O seu potencial para poderem ser manipulados externamente, utilizando barras magnéticas, tem cativado os investigadores no seu desenvolvimento, não só para agentes de imagem multimodais, como para sistemas de veiculação de fármacos, com libertação controlada.⁹

Apesar de ser comumente aceite que as NPs de óxido de ferro não apresentam toxicidade para as células, por poderem ser degradadas e utilizadas pelas mesmas através do metabolismo físico do ferro, é importante considerar a sua toxicidade potencial, em cada aplicação clínica, dependente da dosagem e posologia utilizada.^{9,94} Vários autores têm alertado para o perigo que a carga elevada de ferro representa para as células, assim como a sua interferência no funcionamento normal de células-tronco⁹⁵⁻⁹⁸, pelo que estudos sistemáticos, *in vivo*, devem ser realizados para avaliar a toxicidade potencial dos SPIONs resultante da sua utilização a longo prazo.⁹⁹

2.4.1.6. NPs Cerâmicas

Actualmente, o desenvolvimento de novos materiais cerâmicos para aplicações biomédicas tem sofrido um crescimento exponencial. A libertação controlada de fármacos é uma das áreas mais exploradas em termos de aplicação de NPs de cerâmica na área da biomedicina.¹⁰⁰ A cerâmica apresenta propriedades interessantes, a serem exploradas, para a sua utilização na composição de materiais com diversas aplicações. As suas propriedades físicas e químicas são significativamente melhoradas recorrendo a pós de cerâmica, submicrométricos, que permitem uma distribuição uniforme do tamanho de partículas, elevada pureza química e cristalinidade e, com fraca, ou nenhuma, aglomeração.¹⁰¹

As NPs de cerâmica utilizam elementos como hidroxiapatite (HA), zircónio (ZrO_2), silício (SiO_2), óxido de titânio (TiO_2) e alumina (Al_2O_3), e o seu método de síntese é adequado de modo a melhorar as suas propriedades físico-químicas, procurando reduzir a citotoxicidade nos sistemas biológicos.¹⁰⁰

Utilizadas como sistemas de suporte de enzimas e anticorpos para imunoensaios, as NPs de sílica podem ainda ser conjugadas com partículas metálicas (por exemplo com ouro) ou outras NPs (*Quantum Dots* e fulerenos) com diferentes aplicações em Nanomedicina. O facto da sílica mesoporosa (amorfa) poder ser sintetizada numa variedade de tamanhos e formas e, possuir uma elevada área de superfície e estrutura de poros ajustáveis (2-20nm de canais hexagonais ou poros cúbicos), tem impulsionado a comunidade científica no estudo da sua potencialidade na área da terapêutica clínica.¹⁰²

Embora a toxicologia da sílica cristalina estar bem documentada¹⁰³, pouca tem sido a investigação das propriedades toxicológicas da sílica mesoporosa e dos silicatos com superfície funcionalizada.^{104–106}

Uma desvantagem que estas partículas apresentam é a sua grande dimensão, que condiciona o seu acesso a determinados tecidos. Alguns autores, sugerem que existem vantagens relativas entre as formas escolhidas para estas NPs. Por exemplo, as NPs de sílica com forma de disco superam as de forma esférica no que respeita a evitar a absorção pelas células fagocitárias do organismo, conseguindo fluir através dos capilares e aderir às paredes dos vasos sanguíneos. No entanto, como não apresentam uma boa capacidade de extravasamento, as NPs de sílica podem ser utilizadas quando o alvo terapêutico é a vasculatura, mas não quando o alvo são, p.ex., células tumorais.⁹



Fig. 7 NPs de Sílica em forma de disco.

Adaptado Mol.Pharmaceutics., Duncan et Gaspar, (2011)

Para cada nanossistema específico à base de sílica deve ser determinada a sua biodistribuição *in vivo*, eficácia e segurança. Ambas as NPs de sílica porosa e não porosa apresentam propriedades hemolíticas que se encontram dependentes do seu tamanho.¹⁰⁷ Apesar da sílica mesoporosa aparentar ser menos hemolítica, a sua estrutura porosa é crítica na determinação da hemólise.¹⁰⁷ Também pequenas partículas de sílica, incubadas com células humanas HaCaT demonstraram causar uma resposta epigénica generalizada, ex. hipoacetilação de metiltransferases e domínio sobre proteínas na ligação ao DNA¹⁰⁸,

indicando que os efeitos bioquímicos e toxicogenómicos devem ser cuidadosamente ponderados.

2.4.1.7. NPs Metálicas

As propriedades electrónicas, ópticas e magnéticas dos metais, como o ouro (Au) e a prata (Ag), e a sua possível utilização como agentes antimicrobianos fazem das NPs metálicas uma área de interesse com aplicações em Nanomedicina.⁹ Muitos destes materiais levantam questões de âmbito toxicológico¹⁰⁹ mas experiências pré-clínicas sugerem que a escolha criteriosa da via de administração possa facilitar o desenvolvimento para a prática clínica.⁹

Ouro

As NPs de Au estão entre as partículas mais estudadas devido ao número elevado de métodos disponíveis para a preparação de colóides com tamanhos uniformes e forma bem definida. A conjugação de NPs de Au a proteínas e lectinas permite a localização de receptores, assim como o recurso a ouro radioactivo coloidal possibilita a quantificação de endocitose.^{110,111} Reagentes à base de ouro são utilizados como marcadores para imunoensaios e, na prática clínica, as doses utilizadas, segurança e eficácia da administração, por via intramuscular (IM), de sais de ouro no tratamento artrite reumatóide, encontra-se bem documentada.¹¹²⁻¹¹⁴

A aplicação mais frequente das NPs de Au, a nível da terapia do cancro, é a hipertermia. Estas possuem a capacidade de absorver energia e convertê-la em calor, causando uma ablação das células tumorais, com respectiva destruição das membranas celulares.¹¹⁵

Vários são os tipos de NPs de Au: nanoconchas de ouro-sílica, nanobastões de ouro, NPs ouro-sulfureto de ouro, nanocelas e conchas ocas de ouro. Os últimos três tipos de NPs mencionados constituem uma “segunda geração de NPs de ouro, possuindo uma dimensão consideravelmente inferior, o que lhes confere uma vantagem em termos de distribuição de fármacos.¹⁰

Prata

O aumento da resistência que as estirpes bacterianas têm desenvolvido em relação aos antibióticos convencionais e a actividade antimicrobiana comprovada da Ag, veio renovar o interesse da sua utilização na formulação de NPs para aplicação terapêutica. A elevada citotoxicidade das NPs de Ag para uma vasta gama de micro-organismos tais como

bactérias e fungos é bem conhecida¹¹⁶, pelo que têm sido sugeridas para cicatrização de feridas e tratamento da dermatite atópica.¹¹⁷ Além da sua aplicação tópica, uma suspensão de Ag nanocristalina foi recentemente proposta no tratamento de doenças inflamatórias do tracto gastrointestinal (TGI).¹¹⁸

2.4.1.8. Quantum Dots

Quantum dots (QDs), ou pontos quânticos, são nanocristais (1-100nm) compostos de materiais semicondutores. Têm grande aplicabilidade em imagiologia e teranóstico oncológico.^{119,120}

Tipicamente são compostos a partir de seleneto de cádmio (CdSe) com um revestimento de superfície de sulfetos de zinco (ZnS) ou cádmio (CdS) para proteger contra a foto-oxidação e melhorar o rendimento quântico de fluorescência.¹²¹ Uma variedade de revestimentos superficiais adicionais (ex., com a interacção hidrofóbica ou electrostática e/ou PEGuilação) têm sido utilizados para minimizar a agregação, possibilitar a conjugação de ligandos, e para melhorar a biodistribuição / eliminação. Podem ainda estabilizar a NP de modo a evitar a perda de sinal em soluções salinas ou de pH ácido.⁹

O interesse nos QDs advém das suas propriedades como a capacidade de ajustar a cor de fluorescência emitida, através da variação da sua composição, tamanho, forma e solvente, e a sua estabilidade contra a fotodegradação. No entanto, esta capacidade de fluorescência “intermitente” pode ser considerada uma desvantagem para a sua detecção.⁹

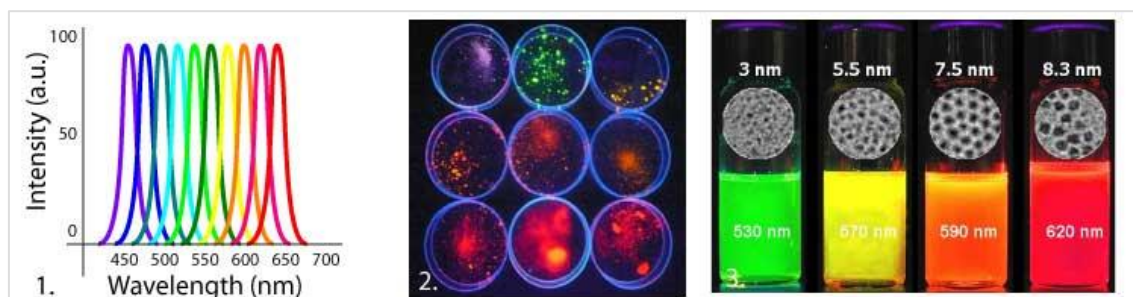


Fig. 8 QDs: 1) Espectro de Fotoluminescência de QDs em relação ao comprimento de onda de emissão; 2) QDs na forma de pós; 3) Dimensões de Qds, em nm, com a correspondência de cor ao comprimento de onda de emissão.¹²²

Vários estudos têm demonstrado a utilidade dos QDs como ferramentas *in vitro*, nomeadamente a nível de rastreamento celular, imunomarcacão e FRET^{2 123}, no entanto, o próximo passo é compreender as possíveis aplicações, *in vivo*, na área da Nanomedicina. Além do mais, colocam-se questões relacionadas com a toxicidade dos metais pesados, que se encontram bem documentadas.¹²⁴ O sucesso para a sua aplicação encontra-se dependente da identificação da janela onde a dose utilizada seja elevada o suficiente para emitir um sinal passível de detecção, mas desprovida de efeitos tóxicos. O tamanho, carga, tipo de revestimento de superfície e funcionalização influenciam tanto a biodistribuição subcelular como a toxicidade, e estes elementos permitem perceber qual do destino metabólico e qual o possível impacto, a nível celular, da utilização a longo prazo de QDs.^{125,126}

2.4.1.9. Fulrenos e Nanotubos de Carbono

Os **fulrenos** são uma forma alotrópica do carbono, sendo a terceira mais estável após o diamante e a grafite. Devido à sua forma tridimensional, às suas ligações insaturadas e à sua estrutura electrónica, os fulrenos apresentam propriedades físicas e químicas únicas, que podem ser exploradas em várias áreas da bioquímica e da medicina. Têm sido propostos como agentes bioactivos (ex. inibidores das proteases do vírus HIV e supressores de espécies reactivas de oxigénio (ROS) no tratamento da doença de Alzheimer), como sistemas de veiculação de fármacos, agentes de imagem e radioprotectores.¹²⁷⁻¹³⁰ No



Fig. 9 Modelo do Fulreno – 60²⁷⁷

entanto existe muito debate sobre a sua potencial toxicidade,^{131,132} muito devido à variedade de estruturas de fulreno existentes assim como as suas modificações de superfície.¹²⁷ A toxicidade do fulrenol em relação às células dos túbulos proximais renais foi recentemente reportado *in vitro*¹³³, o que é um dado de elevada importância, uma vez que os fulrenos são excretados pela via renal.

² FRET - Transferência de energia por ressonância de Förster (FRET), ou transferência de energia de ressonância por fluorescência (FRET): mecanismo de transferência de energia de forma não-radiativa entre dois cromóforos, sem a necessidade de reabsorção de radiação eletromagnética

Os **nanotubos de carbono**, cilindros de carbono compostos de anéis benzénicos, são subprodutos dos fulrenos obtidos através de uma descarga de corrente contínua em arco.

134

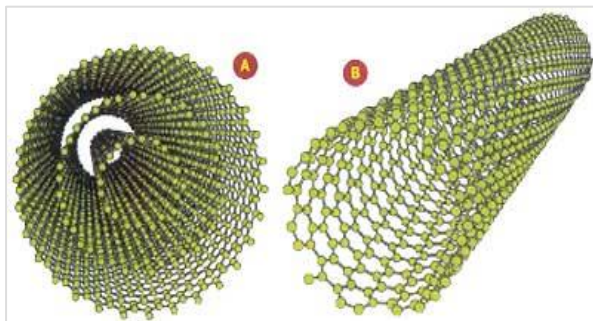


Fig. 10 Nanotubos de Carbono:

A) MWNT e B) SWNT²⁷⁸

Os nanotubos de carbono podem ser classificados como nanotubos de parede única (*Single-Walled Nanotubes (SWNTs)*), ou nanotubos de parede múltipla (*Multi-Walled Nanotubes (MWNTs)*), sendo que o seu tamanho pode variar da escala nanométrica até à micrométrica.⁹

A sua geometria singular e as suas propriedades térmicas, electroquímicas e espectrofotométricas resultaram na proposta para a sua aplicação na veiculação de fármacos, imagiologia, biossensores para detecção de ADN e proteínas, teranóstico, etc.^{9,4,83} Mais uma vez se coloca a questão da sua toxicidade¹³⁵, até porque a sua forma física é muitas vezes comparada com as fibras de amianto (cancerígenas) e são insolúveis em todos os solventes, o que gera alguma preocupação do risco para a saúde. Contudo, a sua superfície pode ser modificada quimicamente, para os tornar solúveis em água e, consequentemente, no sangue, com o intuito de poderem ser conjugados a moléculas activas como péptidos, proteínas, ácidos nucleicos e outros agentes terapêuticos.^{4,83}

III. NANOMEDICINA E TERAPIA ONCOLÓGICA

O cancro humano é uma doença complexa, causada pela instabilidade genética e acumulação de múltiplas alterações moleculares.^{136,137} Os actuais meios de diagnóstico e classificações de acordo com o prognóstico não reflectem toda a heterogeneidade clínica de tumores e, demonstram ser insuficientes nas previsões para o sucesso do tratamento e evolução do doente.^{138,139} Mesmo os agentes terapêuticos citotóxicos mais actuais não são dotados da capacidade de diferenciar entre o seu alvo, células tumorais, e as células normais, conduzindo a elevada toxicidade sistémica e efeitos adversos.¹⁴⁰ Para além disso, o cancro é muitas vezes diagnosticado e tratado muito tarde, possibilitando a invasão das células cancerosas, a outras partes do organismo, originando a formação de metástases. No

momento da manifestação clínica, por exemplo, muitos doentes já apresentam metastização, oculta ou não, fazendo das modalidades terapêuticas convencionais limitadas em termos de eficácia.^{140,141}

O cancro constitui, então, um foco importante no que respeita ao desenvolvimento de novos fármacos, sendo, aproximadamente 16 mil dos 40 mil ensaios clínicos registados em 2009, dedicados a este tópico.¹⁴²

A nanotecnologia aplicada à terapia oncológica tem vindo gradualmente a impor-se como uma nova área de investigação interdisciplinar, recorrendo a campos da biologia, química, engenharia, medicina e indústria farmacêutica, com o objectivo de conduzir a grandes avanços na detecção, diagnóstico e tratamento do cancro.^{143,144} Actualmente, aproximadamente 70 ensaios clínicos no campo da oncologia envolvem nanoprodutos,¹⁴⁵ combinados ou desenvolvidos a partir de nanotecnologias de 1ª geração.

3.1. Medicina translacional

Medicina translacional é uma disciplina dentro da investigação biomédica e de saúde pública que visa melhorar a saúde dos indivíduos e da comunidade. Consiste na transferência do conhecimento da investigação básica para o aperfeiçoamento e desenvolvimento de novos métodos de prevenção, diagnóstico e terapêuticos, bem como na transferência de problemas clínicos, que criam hipóteses, que podem ser testadas e validadas em laboratórios de investigação básica.¹⁴⁶

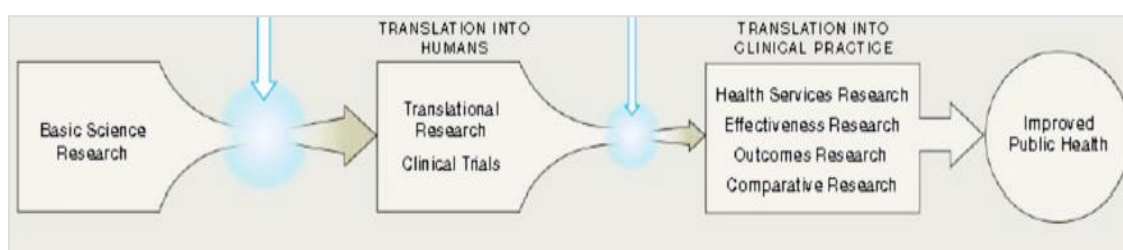


Fig. 11 Objectivos da Medicina Translacional

Adaptado Jama, Crowley, W.F. et al. (2004)

No limite, a medicina translacional propõe-se garantir que as estratégias comprovadas para o tratamento e prevenção de doenças são realmente implementadas dentro da comunidade. As necessidades e problemas actuais a serem desenvolvidas em oncologia translacional incluem¹⁴⁰:

- Tecnologias avançadas de imagiologia e detecção precoce do tumor,
- Novos métodos de diagnóstico preciso e prognóstico (teranóstico),
- Estratégias que visem superar a toxicidade e efeitos adversos de fármacos quimioterápicos,
- Investigação básica na biologia oncológica que possa conduzir a novos conhecimentos para o tratamento de fenótipos cancerígenos agressivos e letais, como a metastização óssea.

Os avanços nestas áreas constituirão os principais pilares para uma futura prática clínica de oncologia personalizada em que a detecção do cancro, diagnóstico e terapêutica são adaptados ao perfil molecular do tumor de cada indivíduo e em que prognóstico faça recurso de marcadores genéticos/moleculares para prever o desenvolvimento da doença, a sua progressão e resultados clínicos.¹⁴⁰

As nanotecnologias oncológicas emergentes têm sido extensamente debatidas^{119,143,147–149} e para que a probabilidade de sucesso da sua translação seja incrementada, devem atentar nos seguintes elementos chave⁹:

- Caracterização rigorosa da nanotecnologia antes de qualquer teste biológico, com o desenvolvimento de novos métodos que a possibilitem habilitar, sempre que necessário;
- Utilização de metodologias pré-clínicas apropriadas/modelos de tumores, para a selecção de candidatos;^{145,150}
- Se a capacidade de vectorização e focalização no tecido tumoral é reivindicada, deve ser quantitativamente determinável;
- Utilização do nanoproducto para veiculação de terapêuticas combinadas^{151,152} e/ou o seu uso no contexto de combinação terapêutica;
- Apreciação precoce da relevância, para o nanoproducto, do recurso a biomarcadores de modo a orientar a selecção de doentes apropriados para a terapia.

3.2. Nanotecnologia Oncológica: Quais os desafios?

Durante o desenvolvimento de nanoproductos para aplicação na área da oncologia, a peculiaridade e complexidade dos tumores, e a diferença patente entre o seu tipo de células em relação às células de um tecido/órgão normal, devem ser ponderadas.

O transporte de um agente terapêutico a partir da circulação sistémica para as células do cancro é um processo de três passos. Em primeiro lugar, as NPs circulam para diferentes regiões dos tumores através dos vasos sanguíneos. Posteriormente atravessam a parede dos vasos e, finalmente, passam para o espaço intersticial de modo a alcançarem as células alvo. A veiculação de meios de diagnóstico e terapêutica difere drasticamente entre os tecidos tumorais e normais devido a diferenças na sua estrutura. A organização e estrutura da vascularização anormal do tumor implicam um fluxo de sangue heterogéneo.^{153,154} Além disso, o défice de vasos linfáticos funcionais e da hiperpermeabilidade vascular dentro dos tumores resultam numa hipertensão intersticial.¹⁵⁵ Esta pressão elevada do fluido intersticial (IFP), reduz o transporte convectivo, enquanto a densa matriz extracelular dificulta a difusão.¹⁵⁶

3.2.1. Vascularização Anormal (sanguínea e linfática)

A taxa de fluxo sanguíneo e a morfologia vascular (arranjo geométrico, diâmetro, comprimento e número de vasos sanguíneos) afectam o movimento de compostos através da vasculatura sanguínea.^{157–160} Os vasos sanguíneos que alimentam o tumor, são altamente irregulares, no que respeita à sua arquitectura, quando comparados aos dos tecidos normais. Ao contrário dos ditos vasos “normais”, que possuem uma hierarquia de ramificação ordenada de grandes vasos para pequenos, que alimentam um leito capilar espaçado de forma regular, os vasos tumorais possuem uma distribuição espacial heterogénea e tortuosa conduzindo a espaços avasculares de diversos tamanhos.^{157,161} Também a estrutura da parede dos vasos sanguíneos, nos tumores, é anormal, possuindo grandes junções interendoteliais, com uma membrana basal excepcionalmente grossa ou fina, um elevado número de poros e canais transendoteliais formados por vesículas,^{162,163} e com um diâmetro de poros a rondar as centenas de nanómetros.^{164,165} Devido à sua estrutura irregular, as paredes dos vasos são hiperpermeáveis em algumas zonas, mas noutras não. Finalmente a proliferação das células

tumorais e/ou do estroma, exercem compressão contra as paredes dos vasos, o que pode levar ao seu colapso.^{166–168}

A velocidade de perfusão sanguínea nos tecidos tumorais é independente do calibre dos vasos e é efectuada de forma desigual, podendo resultar em áreas com baixa ou nenhuma perfusão.^{169–172} A presença destas regiões não perfundidas cria um microambiente tumoral hostil (com baixa pressão parcial de oxigénio, baixo pH e tecido necrosado) que induz a progressão do tumor e a resistência a fármacos.

A rede linfática normal tem como objectivo drenar os excessos de líquidos dos tecidos, a fim de manter o equilíbrio dos fluidos do tecido intersticial. Nos tecidos tumorais, particularmente no centro do tumor, a proliferação celular conduz à compressão, e por conseguinte o colapso, dos vasos linfáticos¹⁶⁶, pelo que apenas na periferia do tumor se pode encontrar uma rede minimamente funcional.^{173,174} A drenagem ineficiente, em conjunto com o extravasamento de fluidos das paredes dos vasos tumorais, contribui para a hipertensão intersticial. Esta hipertensão e a deficiente perfusão sanguínea reduzem a eficácia da veiculação de agentes terapêuticos ao tumor¹⁵³ e, a subsequente hipoxia das células tumorais não só induz resistência à radioterapia, como provoca a resistência a vários fármacos citotóxicos.

Resumindo, a heterogeneidade espacial e temporal do fornecimento de sangue e permeabilidade dos vasos, juntamente com uma deficiente drenagem linfática contribuem para a criação de um microambiente anormal que prejudica a entrega e eficácia de agentes terapêuticos nos tumores.¹⁷⁵

3.2.2. Efeito de Permeabilidade e Retenção Aumentada (EPR)

Tal como já foi referido, a vascularização tumoral é geralmente anormal, com ramificações aberrantes e paredes permeáveis.¹⁷⁵ Esta permeabilidade é devida à rápida proliferação das células endoteliais e redução do número de pericitos. Estas características resultam em grandes poros nas vasculaturas tumorais, que variam de 100 nm a várias centenas de nanómetros de diâmetro, quando comparado com as junções dos vasos normais de 5-10nm¹⁶⁴. É o diâmetro anormal dos poros que permitem a elevada permeabilidade vascular e condutividade hidráulica, admitindo a passagem de macromoléculas, como NPs, para os tumores.^{175,176}

Os tumores são geralmente caracterizados pela deficiência de vasos linfáticos. A ineficiência do sistema linfático em conjunto com o aumento da permeabilidade da

vasculatura do tumor resulta no efeito EPR. As NPs, assim como outras macromoléculas, têm, então, os tempos de retenção aumentados no tumor, resultando em maiores concentrações aí localizadas do que no plasma ou outros tecidos.¹⁷⁷

3.2.3. Clearance de Nanopartículas pelo Sistema Fagocitário Mononuclear (SFM)

Para que se possa retirar o máximo partido do efeito EPR, as NPs devem permanecer em circulação o tempo necessário para que se proporcione a sua acumulação no tumor. Contudo, as NPs estão sujeitas a depuração pelo SFM (ou SRE) que faz parte do sistema imunitário. É composto por células, localizadas em diferentes partes do organismo, com características reticulares e endoteliais que são dotadas de capacidade fagocitária. Intervém na formação de células sanguíneas (ex.monócitos), no metabolismo do ferro, além de desempenhar funções de defesa contra infecções generalizadas. São os monócitos e todas as células a que eles dão origem em outros tecidos como os macrófagos, as células da microglia e as células de Kupffer, que são responsáveis pela depuração de macromoléculas.¹⁷⁸

Durante o seu percurso, a interacção das NPs com células do SFM pode conduzir à sua opsonização. Dado que a sua eliminação prematura pode comprometer a acumulação nas células tumorais, têm sido desenvolvidos esforços no sentido de criar NPs com capacidade de “iludir” o sistema imunitário.¹⁷⁷ A estratégia adoptada, para esse fim, assenta sobre a modificação da superfície das NPs, recorrendo ao PEG ou outros polissacáridos. A presença destas moléculas, na sua superfície, vai permitir a estabilização estérica, impedir a adsorção de proteínas e possíveis interacções com as células do sistema imunitário.¹⁷⁹

3.2.4. Factores com Impacto na distribuição das NPs

A identificação das características mais adequadas que as NPs, de aplicação oncológica têm de apresentar, é de primordial importância para que a optimização da terapêutica seja alcançada.

Diversos estudos têm demonstrado que o tamanho das NPs é um dos factores principais que afecta directamente a sua distribuição nas células tumorais.^{180–182} Geralmente, as NPs de tamanho inferior a 100nm são consideradas excelentes para a veiculação, conseguindo atingir o alvo proposto. Recentemente, *Perrault et al.* estudaram o efeito do tamanho das NPs na acumulação no tumor, utilizando para o isso um modelo de murina. Os seus resultados sugerem que partículas de tamanho inferior a 20nm apresentam uma rápida permeação tumoral, mas fraca retenção/acumulação e que partículas superiores a 100nm

têm baixa permeação. Deste modo, o intervalo de tamanho adequado para as NPs está compreendido entre os 60-80nm, segundo o estudo em questão.¹⁸³ O tamanho também afecta o tráfego intracelular, o que por sua vez pode influenciar a acumulação das NPs nas células tumorais.^{184,185}

Outro factor condicionante do *uptake* tumoral é a carga que as NPs possam apresentar à sua superfície. Apesar de NPs carregadas positivamente aparentem ser rapidamente captadas pelas células tumorais, têm associadas a si elevadas reacções imunológicas. Deste modo, NPs neutras ou carregadas negativamente são preferenciais para aplicação clínica.¹⁸²

A natureza dos nanomateriais deve ser ponderada. É reconhecido que NPs hidrofílicas apresentam fraca interacção com a matriz intersticial, sendo rapidamente drenadas pelos vasos linfáticos iniciais, ao passo que NPs lipofílicas são rapidamente captadas pelas células, devido à natureza hidrófoba das membranas celulares.¹⁸⁶

A morfologia começa a ser um factor chave no que respeita à biodistribuição, *uptake* celular e clearance.¹⁸² Existem estudos que demonstram que diferentes morfologias apresentam taxas de acumulação diferentes. De facto, formas discóides aparentam possuir vantagens em relação a outros tipos (ex. cilíndricas) com uma distribuição uniforme e elevados níveis de acumulação.¹⁸⁷ Também a rugosidade de superfície parece ter peso no processo de internalização das partículas. Por conseguirem minimizar as forças de repulsão entre as superfícies celulares, as NPs rugosas são mais facilmente captadas pelas células, do que NPs de aspecto liso.¹⁸⁶

3.3. Vectorização de Fármacos na Oncologia

A utilização de NPs para veiculação e vectorização de fármacos é talvez das aplicações mais interessantes da nanotecnologia oncológica. A possibilidade de vectorização permite localizar os agentes terapêuticos apenas e só nas células-alvo, eliminando deste modo a toxicidade não específica. A vectorização pode ser feita por duas vias possíveis: passiva e activa.

3.3.1. Vectorização Passiva

A rápida angiogénese verificada em tecidos tumorais¹⁸⁸, assim como a sua arquitectura defeituosa em conjunto com uma drenagem linfática deficiente, permite a acessibilidade ao tumor de agentes nanoterapêuticos.

Esta estruturação possibilita a verificação do efeito EPR^{189–192}, descrita pela primeira vez nos anos 80 por *Matsumura e Maeda*, resultando na acumulação de NPs no tecido tumoral. (Fig.12)

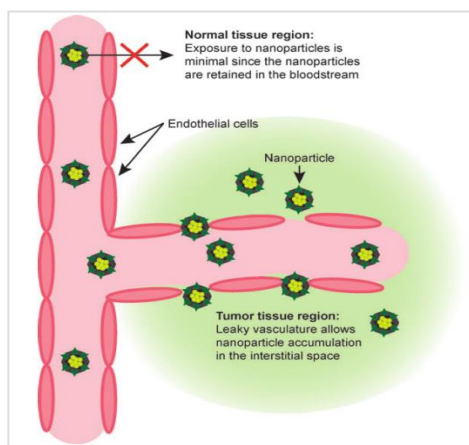


Fig. 12. Efeito EPR de nanopartículas em tumores. A vasculatura dos tecidos normais é revestida por células endoteliais apertadas, impedindo o extravasamento de NPs. A vasculatura tumoral, porosa e hiperpermeável, permite o extravasamento e acumulação preferencial no espaço intersticial do tumor (Vectorização Passiva).

Adaptado Annu.Rev.Biomed.Eng. Nie, S. et al. (2007)

Para que o mecanismo de vectorização passiva funcione, o tamanho e as propriedades de superfície do nanossistema devem ser optimizadas para evitar a acção do SFM. Uma superfície hidrófila nas NPs confere protecção contra a adsorção por parte das proteínas plasmáticas e pode ser conseguida recorrendo a revestimentos de polímeros hidrofílicos como PEG, poloxaminas, poloxâmeros, polissacáridos ou copolímeros anfifílicos, ramificados ou em bloco^{24,193,194}. A ligação covalente de copolímeros anfifílicos (ex. PLA) é geralmente preferencial, uma vez que evita a agregação e dessorção de ligandos quando em contacto com os componentes sanguíneos.¹⁴⁰

Uma estratégia alternativa de vectorização passiva consiste em utilizar as especificidades do microambiente tumoral para desenvolver nanossistemas de profármacos activados pelo próprio tumor. Estes nanossistemas consistem na conjugação do fármaco com uma molécula tumoral específica, permanecendo inactivos até que atinjam o seu alvo.¹⁹⁵ A elevada expressão da metaloproteinase de matriz (MMP) MMP-2 em doentes com melanoma tem sido reportada em diversos estudos pré-clínicos e clínicos. *Mansour et al.*¹⁹⁶ relataram um derivado maleimido solúvel em água de doxorubicina (DOX), com uma sequência peptídica específica de 2-MMP (Gli-Pro-Leu-Gli-Ile-Ala-Gli-Gln) que se liga rápida e selectivamente à cisteína, na posição 34, da albumina circulante. O conjugado formado, albumina-DOX, é eficiente e especificamente clivado pela MMP-2, libertando um tetrapéptido de DOX (Ile-Ala-Gli-Gln-DOX) e, subsequentemente, a DOX. O pH e potencial redox também têm sido alvo de estudo como possíveis agentes desencadeadores da libertação de fármacos no local do tumor.¹⁹⁷

Outro método de vectorização passiva é a veiculação directa de citostáticos nos tumores. Esta abordagem tem a vantagem óbvia de evitar a circulação sistémica do fármaco. No entanto, o tipo de administração pode ser altamente invasivo, uma vez que envolve injeções ou procedimentos cirúrgicos. Para alguns tumores, tais como o cancro do pulmão, que são de difícil acesso, a técnica é praticamente impossível de utilizar.¹⁴⁰

3.3.2. Vectorização Activa

A vectorização activa verifica-se quando os nanossistemas exercem a sua acção terapêutica, ao libertar o fármaco que transportam, através do seu acoplamento específico a um ligando de superfície, *in vivo*, sob determinadas condições físicas.¹⁹⁸

Este tipo de vectorização providencia uma acumulação preferencial das NPs no órgão em que o tumor se encontra alojado, no próprio tumor, em células individuais, ou em organelos intracelulares. Esta abordagem é baseada em interacções específicas como as interacções lectina-hidratos de carbono, ligando-receptor e anticorpo-antigénio.¹⁹⁹

As interacções lectina-hidratos de carbono são um exemplo clássico em vectorização de fármacos²⁰⁰. As lectinas são proteínas de origem não-imunológica, capazes de reconhecerem e acoplarem-se a glicoproteínas expressas na superfície celular. Estas interacções são de elevada especificidade com determinados hidratos de carbono. Fragmentos de hidratos de carbono podem ser utilizados como sistemas de vectorização de fármacos, tendo como alvo lectinas (vectorização lectínica directa) ou, por outro lado, fragmentos de lectinas podem ser vectorizados a hidratos de carbono de superfície de células-alvo (vectorização lectínica reversa). Contudo, os sistemas de veiculação de fármacos baseados neste tipo de interacção foram, maioritariamente, desenvolvidos para atingir órgãos inteiros, o que pode resultar em danos nas células normais²⁰¹. Sendo assim, na maioria dos casos, a vectorização dos fragmentos é direccionada para receptores ou antigénios específicos expressos ao nível da membrana plasmática celular ou em determinadas regiões tumorais.

A sobre-expressão de receptores ou antigénios em muitos cancros humanos conduz, por si só, a um eficiente *uptake* celular, via endocitose mediada por receptores (Fig.13). Uma vez que as glicoproteínas não possuem a capacidade de remover os conjugados de fármaco-polímero que entraram na célula por endocitose^{202,203}, este mecanismo de vectorização activa proporciona uma estratégia alternativa no combate à multirresistência de fármacos.^{204–209}

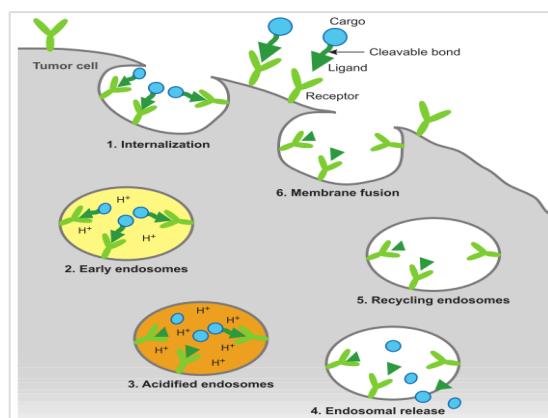


Fig.13. Vectorização de NPs via endocitose mediada por receptores: A NP é internalizada pela célula tumoral através da interacção ligando-receptor. Dependendo do desenho da ligação clivável, o fármaco irá ser libertado intracelularmente por exposição a enzimas lisossomais ou diminuição de pH.

Adaptado Annu.Rev.Biomed.Eng. Nie,S. et al. (2007)

Os nanossistemas desenvolvidos para vectorização activa, além de enfrentarem os mesmos desafios que os de vectorização passiva: durante a sua circulação têm de possuir a capacidade de evasão de receptores-alvo, que também se encontram expressos nos tecidos normais; deparam-se com a heterogeneidade da expressão de receptores das células tumorais; encaram com a interacção com os receptores presentes nas células proximais da vasculatura que restringem a permeação e confrontam-se com a possibilidade da existência de uma saturação de receptores, com a consequente perda de eficiência da vectorização. A expressão de receptores também pode variar de acordo com o estadio da doença e o microambiente tumoral. Estes factos fazem da selecção de doentes para a terapia e a escolha da dose a administrar, elementos de extrema importância.⁹

3.3.3. Multi-targeting

Sistemas *multi-targeting* (MTS) referem-se geralmente a NPs cuja superfície apresenta dois ou mais ligandos que reconhecem diferentes tipos de receptores, na mesma ou em células diferentes. Este tipo de vectorização tem associado um elevado interesse uma vez que permite aumentar o *uptake* das células tumorais através da abordagem “two-punch” (ou “three-punch”). Um exemplo deste tipo de abordagem foi apresentado por *Kluza et al.*²¹⁰ onde conjugaram ligandos RGD (direccionado a receptores de integrina) e anginex (cujo alvo é a galectina-1) em lipossomas, fluorescentes e paramagnéticos, para estudarem o comportamento celular ao nível de *uptake* das NPs. Como resultados obtiveram que a vectorização dupla de RGD-anginex aumentou, de forma sinérgica, o *uptake* destes lipossomas pelas células HUVEC.

Outro exemplo, de eficácia deste tipo de abordagem, foi demonstrado por *Li et al.* que utilizaram para o efeito pequenas moléculas de ácido fólico e glucose como ligandos, para atingir células KB com sobre-expressão de FRs.²¹¹ Os resultados sugeriram que o aumento

do reconhecimento e internalização celular foi devido às interacções multivalentes das NPs de ouro com a superfície celular.

*Patil et al.*²¹² desenvolveram NPs de PLA-PEG, com dupla vectorização, utilizando como ligandos o ácido fólico e a biotina, para estudarem a acumulação no tumor e eficácia deste tipo de sistema, quando comparado com NPs controlo (conjugadas apenas com ácido fólico ou biotina) . A estratégia de vectorização resultou no aumento da acumulação ao nível das células tumorais, e melhoria substancial da sua eficácia, quando comparada com os controlos.

Mais recentemente *Ashley et al.*²¹³ desenvolveram NPs de sílica porosa, revestidas de uma bi-camada lipídica, recorrendo ao péptido SP94 (que tem como alvo um receptor desconhecido do carcinoma hepatocelular humano) e ao péptido fusogénico H5WYG (que permite escapar dos endossomas após protonação) . Esta estratégia permitiu alcançar uma afinidade 10000 vezes superior para o carcinoma hepatocelular do que para os hepatócitos e uma melhoria de 106% em relação a lipossomas comparáveis.

Sugahara et al. utilizaram iRGD para demonstrar as potencialidades desta modalidade.^{214,215} Este péptido de penetração celular tem como propriedade adicional a capacidade de reconhecimento de dois tipos de receptores diferentes na mesma célula (receptores da integrina e neuropilina – 1) . Neste caso, a vectorização ocorre de forma sequencial, em que as integrinas são o alvo inicial do fragmento de iRGD, seguido de uma clivagem proteolítica do péptido expondo a porção CendR, que por sua vez se vai ligar ao receptor neuropilina-1, receptor chave para a penetração das barreiras biológicas.^{214,215}

Apesar de a dupla vectorização representar uma estratégia atractiva para potenciar o *uptake* de NPs pelas células cancerosas, tem associado um outro nível de complexidade no que respeita ao desenvolvimento das NPs. Para que uma NP com vectorização seja altamente efectiva, todas as suas propriedades físico-químicas necessitam de ser optimizadas. Considerando as interacções destas propriedades e a dificuldade em alterar uma sem afectar as outras, a introdução de múltiplos tipos de ligandos no desenho das NPs pode potencialmente complicar esta optimização.⁶

Além disso, quanto maior for o número de componentes de uma NP, mais difícil se torna a sua produção em larga escala, a aprovação de regulamentação e a tradução para a prática clínica. E, embora alguns estudos tenham demonstrado que a presença de dois ligandos destinados a diferentes alvos, numa única NP, tenha conduzido a uma

citotoxicidade aumentada, comparando com a ausência de toxicidade utilizando apenas um tipo de ligando,²¹⁶ o benefício dos sistemas *multi-targeting* deve continuar a ser investigado, pelo menos na fase pré-clínica.

3.4. Avaliação Risco-Benefício

A maioria dos agentes quimioterapêuticos é limitada, resultado dos seus problemas inerentes, tais como má solubilidade e baixa biodisponibilidade, assim como a utilização de solventes tóxicos na sua formulação²¹⁷. O desenvolvimento obtido na área da nanotecnologia veio abalar as terapias oncológicas, tendo um impacto profundo na resolução de muitos dos problemas associados à quimioterapia convencional. O recurso a estratégias de conjugação, de ligandos e NPs, visa proporcionar pontos de interação molecular entre as NPs e receptores/antígenos presentes nas células e tecidos tumorais alvo. Destes estudos, surgiram diversas formulações nanotecnológicas para aplicação oncológica. Na tabela 1 encontram-se alguns exemplos de nanossistemas terapêuticos, ou de imagem, disponíveis no mercado ou em desenvolvimento clínico.

Tabela 1 Exemplos de Nanotecnologias aplicadas na área da Oncologia

Produto	PA*	Formulação	Via Administração	Aplicação Terapêutica	Status
Abraxane	Paclitaxel	NP-Albumina (tecnologia nab)	IV	Cancro Mama	Comercializado
Caelyx	Doxorubicina	Lipossoma Peguilado	IM	Cancro Mama, Ovário e Sarcoma de Kaposi	Comercializado
Myocet	Doxorubicina	Lipossoma	IV	Cancro Mama	Comercializado
Doxil	Doxorubicina	Lipossoma Peguilado	IV	Sarcoma de Kaposi	Comercializado
CT-2103; Xyotax; Opaxio	Paclitaxel	NP polimérica - PGA	IV	Cancro Ovário, pulmonar células não pequenas, Outros Tipos e Combinações	Fase III
ThermoDox	Doxorubicina	Lipossoma Termossensível + RadioFrequência	IV	Carcinoma Hepatocelular	Fase III
Transtuzumab emtansine (transtuzumab-DM1)	Mertansina	Conjugado Ac monoclonal	IV	Cancro Mama	Fase II/III
ONCO TCS	Sulfato Vincristina	Nanocristais	IV	Linfoma Não-Hodgkin	Fase II/III
Glembatumumab vedotin	Auristatina	Conjugado Ac monoclonal	IV	Melanoma, Cancro Mama	Fase II

(CDX-011)					
NK 105	Paclitaxel	Micela bloco Copolimérica	IV	Cancro Estômago	Fase II
ABI 008	Docetaxel	NP-Albumina (tecnologia nab)	IV	Cancro Próstata	Fase II
ABI 009	Rapamicina	NP-Albumina (tecnologia nab)	IV	Tumores Sólidos	Fase II
Nano-Cancer	Fe ₃ O ₄	SPION	Local, cérebro	Glioblastoma	Fase II
SLIT Cisplatin	Cisplatina	Lipossoma	Aerossol	Cancro Pulmão	Fase II
Genexol-PM	Paclitaxel	Micela Polimérica	IV	Cancro Mama e Pulmão	Fase II
L-Annamycin	Anamicina	Lipossoma	IV	LMA e LLA em Adultos jovens e crianças	Fase I/II
CALAA-01	Anti-R2 SiRNA	Conjugado Polimérico Ciclodextrina-SiRNA	IV	Tumores Sólidos	Fase I
BikDD	Gene Bik pro-apoptótico	Lipossoma	IV	Cancro Pancreático	Fase I

Adaptado Chem Soc Rev. Kamaly, N. et al. (2012); Cancers Mousa, S. et al (2011); Mol. Pharmaceutics., Duncan et Gaspar, (2011)

A doxorubicina, é um dos agentes utilizados em quimioterapia devido à sua potente actividade antitumoral. No entanto levanta questões altamente problemáticas, relacionadas com a sua toxicidade sistémica, nomeadamente cardiotoxicidade. Por esta razão, as nanotecnologias para veiculação de fármacos mais estudadas em oncologia envolveram antraciclinas de modo a preservar, ou melhorar a eficácia contra células tumorais, limitando a exposição de locais-alvo críticos, tais como o miocárdio e medula óssea.

As antraciclinas têm sido encapsuladas em formulações envolvendo lipossomas. As versões actuais utilizam os métodos iónicos de modo a alcançar uma encapsulação extremamente eficiente de doxorubicina ou daunorubicina, no interior aquoso de lipossomas unilamelares, conseguindo-se obter cerca de 10^4 moléculas de fármaco por partícula de lipossoma.²¹⁸

A 13 de Julho de 2000, a CE concedeu uma Autorização de Introdução no Mercado (AIM), válida para toda a União Europeia, para o medicamento MyocetTM.²¹⁹ MyocetTM foi estudado em três estudos principais que incluíram um total de 681 mulheres adultas com cancro da mama metastático.

No primeiro estudo, o Myocet™ foi comparado com a doxorrubicina-padrão (não-lipossómica), ambos em associação com a ciclofosfamida, em 297 mulheres²²⁰.

No segundo estudo, o Myocet™ foi comparado com a doxorrubicina-padrão, em monoterapia, em 224 mulheres e o terceiro comparou o Myocet™ com a epirubicina (outra antraciclina), ambos em associação com a ciclofosfamida, em 160 mulheres.

Tabela 2 Taxa de Resposta nos estudos realizados

(Adaptado EMA EPAR (2005))

	Combination				Single-Agent	
	Study 1		Study 3		Study 2	
	Myocet /CPA (n=142)	Dox/CPA (n=155)	Myocet /CPA (n=80)	Epi/CPA (n=80)	Myocet (n=108)	Dox (n=116)
Difference in Response Rate	0%		7%		0%	
Two-sided 95% CI	(-10%, 12%)		(-8%, 23%)		(-9%, 13%)	
One-sided p-value ($\Delta=15\%$) ^a	0.003		0.002		0.0012	
One-sided p-value ($\Delta=10\%$) ^b	0.03		0.012		0.0165	
Response Rate	43%	43%	46%	39%	26%	26%
95% CI	(35-52%)	(35-51%)	(35-58%)	(28-50%)		
Risk Ratio (95% CI)	1.01 (0.78-1.31)		1.19 (0.83-1.72)		1.00 (0.64-1.56)	
Complete response	5%	6%	11%	11%	0%	2%
Partial response	38%	37%	35%	28%	26%	24%
Stable disease	29%	25%	31%	33%	34%	39%
Progressive disease	20%	24%	15%	21%	32%	27%
Not evaluable	8%	9%	8%	8%	7%	9%

^aOne-sided test to rule out 15% difference in response rate (prespecified test for non-inferiority).
^bOne-sided test to rule out 10% difference in response rate.
Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio for objective response (control taken as reference).

Nos três estudos, o principal parâmetro de eficácia foi o número de doentes que responderam ao tratamento após seis semanas e as TRG obtidas foram comparáveis, para os regimes escolhidos, sendo os níveis de eficácia semelhantes.

No primeiro estudo, 43% das doentes que receberam o Myocet™ ou a doxorrubicina-padrão em associação com a ciclofosfamida responderam ao tratamento, ao passo que no estudo do Myocet™ ou da doxorrubicina-padrão em monoterapia (segundo estudo), 26% de cada grupo apresentaram uma resposta. No terceiro estudo, 46% das doentes que tomaram o Myocet™ em associação com a ciclofosfamida responderam ao tratamento, em comparação com 39% das doentes que receberam a epirubicina em associação com a ciclofosfamida, evidenciando uma mais-valia.

Quando analisada a toxicidade, a probabilidade de virem a sofrer de problemas cardíacos foi menor nas doentes que receberam o Myocet™ do que nas doentes que receberam a doxorrubicina-padrão e, ainda que ambos os medicamentos possuam níveis de eficácia semelhantes, a AIM foi concedida ao Myocet™ tendo por base este benefício.²¹⁹⁻²²¹

A doxorrubicina lipossomal peguila (Doxil® ou Caelyx®), devido ao seu revestimento de PEG consegue reduzir a absorção pelo SRE e apresentar maior estabilidade na capacidade de retenção do fármaco, em resultado da encapsulação lipossomal, efectuada através de

um gradiente químico de sulfato de amónio. Estas características conduzem a um perfil farmacocinético caracterizado por um tempo de circulação prolongado e um volume reduzido de distribuição, promovendo a absorção pelas células tumorais.²²² Doxil®, foi o primeiro nanomedicamento aprovado pela FDA (1995)²²³, baseado em diversos estudos em que se comprovou as vantagens da doxorubicina veiculada em nanolipossomas^{218,224} sobre o seu homólogo, doxorubicina livre.

Estudos pré-clínicos demonstraram que a maior parte do fármaco é eliminado com um tempo de semi-vida de 20-30 horas. O volume de distribuição é próximo do volume de sangue, e a área sob a curva (AUC) é aumentada pelo menos 60 vezes em comparação com a doxorubicina livre.²²⁵ A distribuição nos tecidos evidencia acumulação preferencial em vários tumores implantados e tumores humanos transplantados, com um aumento das concentrações de fármaco, quando comparado com o fármaco livre. Independentemente da dose, os níveis teciduais de doxorubicina, quando veiculada em nanolipossomas, foram aproximadamente 5 a 11 vezes maior em relação à doxorubicina convencional.³⁸ Os estudos clínicos de doxorubicina lipossomal peguilada em humanos incluíram pacientes com Sarcoma de Kaposi, relacionado com a SIDA (ARKS) e com uma variedade de tumores sólidos, incluindo os do ovário, da mama e carcinoma da próstata.^{222,226,227}

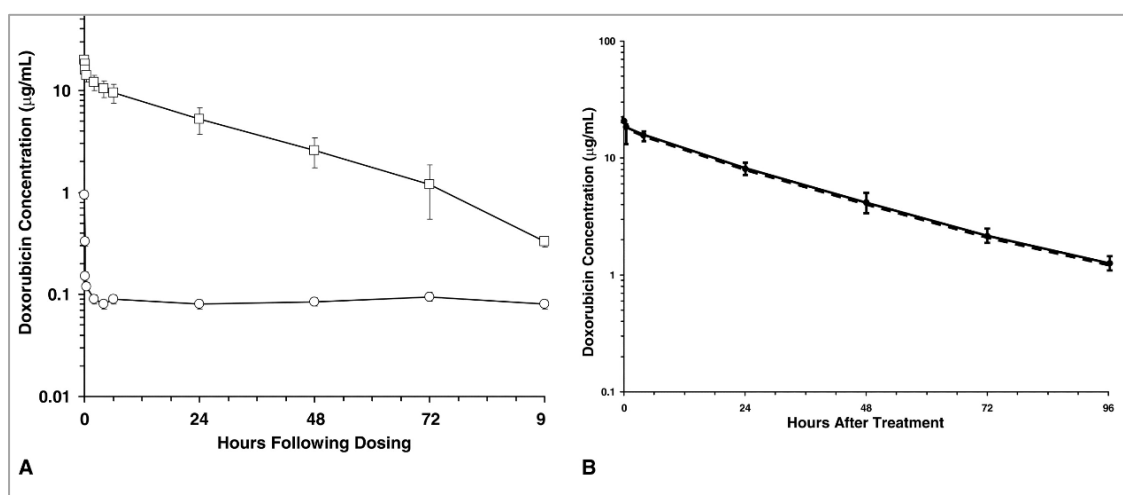


Fig. 14 A) Concentração plasmática de Doxorubicina após administração única de 1,5 mg/kg de doxorubicina lipossomal peguilada(PLD) (quadrados) versus doxorubicina convencional (círculos) em modelo animal. B) Concentração plasmática de doxorubicina total (linha) e doxorubicina encapsulada (tracejado) após administração IV de PLD

Adaptado Semin Oncol Vail, D. et al (2004)

A farmacocinética desta nanotecnologia é caracterizada por um volume reduzido de distribuição, uma longa intravascular semivida de circulação e de depuração do plasma

lenta, em comparação com a doxorubicina livre. Estas características, aliadas ao seu pequeno tamanho vesicular ($\approx 100\text{nm}$)²¹⁸, promove a focalização de Caelyx® / Doxil® em células tumorais e explica o seu perfil de toxicidade alterada, resultando na diminuição de alguns efeitos adversos, tais como alopecia e náuseas, verificados com doxorubicina livre.^{218,228} Contudo a administração de Doxil®, apresenta eritrodisestesia palmo-plantar dose-dependente, o que torna problemática qualquer aumento substancial de dose.²¹⁸

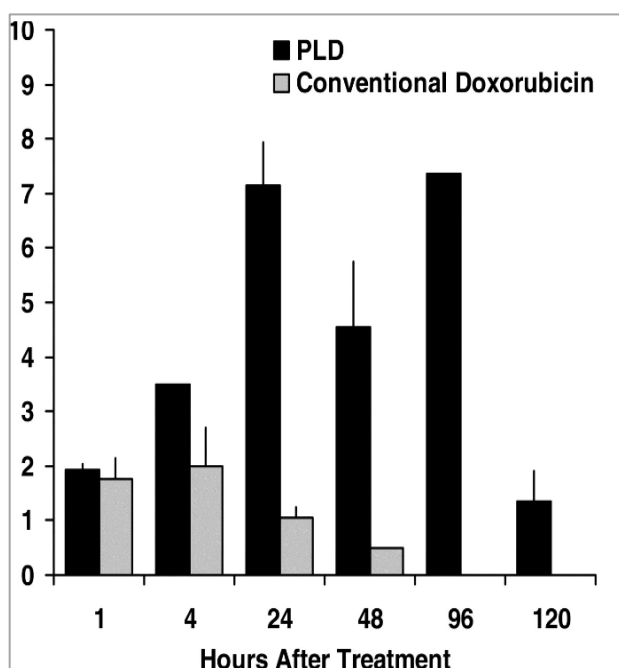


Fig. 15 Concentração tumoral ($\mu\text{g/gr}$ de tecido tumoral) de doxorubicina em tumores do cólon murinos C26, implantados em ratinhos Balb/c após administração de PLD (barras pretas) ou doxorubicina convencional (barras cinza), com respectivo desvio padrão.

Adaptado Semin Oncol Vail, D. et al (2004)

Estudos de poliquimioterapia, envolvendo a associação de Doxil® com ciclofosfamida como primeira linha no tratamento do cancro de mama metastático, apresentaram uma taxa de resposta de 65%.²¹⁸ A sua combinação com gemcitabina²²⁹ ou docetaxel²³⁰ também foi testada, evidenciando boa tolerabilidade e eficácia.

Tal como referido anteriormente, a biodistribuição de lipossomas pode reduzir os efeitos cardiotoxícos das antraciclinas. Foi realizado um estudo, envolvendo a realização de biópsias cardíacas, em 10 doentes tratados com DOXIL®, nas quais se observou evidência histopatológica de lesões do miocárdio significativamente menores em comparação com doentes que receberam doses correspondentes, um pouco mais elevadas, de doxorubicina livre. Neste estudo, foram utilizados dois grupos de controlo com base nas doses

cumulativas ($\pm 10\text{mg/m}^2$) e de pico de doxorubicina (60 ou 20mg/m^2 , grupo 1) ou apenas de pico (20mg/m^2 , grupo 2). Os scores obtidos, comparando o grupo que recebeu DOXIL® e os grupos de doxorubicina livre foram, respectivamente, de 0.3 versus 3.0 ($P = 0,002$, teste de Cochran -Mantel -Haenszel) para o grupo 1 e de 1.25 para o grupo 2 ($P < 0,001$, teste de Wilcoxon).²³¹

Os taxanos pertencem a outra classe de agentes antitumorais utilizados em quimioterapia em vários tipos de tumores, incluindo cancro de mama metastático, ovário e cancro de pulmão de células não-pequenas (NSCLC). Apesar do benefício clínico conseguido com taxanos numa base de solvente, estes agentes encontram-se associados a toxicidade significativa e grave, tal como a supressão da medula óssea, neutropenia, neuropatia periférica e mucosite.^{232,233} Deste modo, o recurso à tecnologia *nab*, insurgiu-se como alternativa viável para contornar as questões relacionadas com toxicidade e incrementar a eficácia dos agentes terapêuticos.

Em Janeiro de 2005 a FDA aprovou a comercialização do Abraxane® (ligação entre paclitaxel e albumina) com indicação para o tratamento do carcinoma da mama metastático em doentes adultos que não respondiam à terapêutica de primeira linha e para os quais a terapêutica padrão com antraciclinas não se encontrava indicada. Três anos depois, em 2008, também a Agência Europeia do Medicamento (EMA) dava o seu parecer positivo para a sua introdução no espaço europeu.

O paclitaxel é um fármaco inibidor mitótico, que ao actuar como agente antimicrotubular vai promover a união e a estabilização dos microtúbulos, a partir dos dímeros de tubulina, evitando a despolimerização. Esta estabilidade resulta na inibição da reorganização dinâmica normal da rede de microtúbulos, essencial para as funções vitais celulares mitóticas e da interfase.²³⁴

O Abraxane® contém NPs de paclitaxel-albumina humana sérica com um tamanho de aproximadamente 130 nm, estando o paclitaxel presente num estado amorfo, não cristalino. Ao serem administradas por via intravenosa, as NPs dissociam-se rapidamente em complexos de paclitaxel solúveis, ligados à albumina, com um tamanho de aproximadamente 10 nm. A albumina é conhecida por mediar a transcitose caveolar endotelial dos constituintes do plasma e os estudos *in vitro* demonstraram que a presença de albumina no Abraxane® promove o transporte de paclitaxel através das células endoteliais. Existe a hipótese de que este transporte caveolar transendotelial aumentado seja mediado pelo receptor gp-60 da albumina, e que haja maior acumulação de paclitaxel na área do tumor devido à proteína de ligação à albumina, proteína ácida secretada e rica em cisteína (Secreted Protein Acidic Rich in Cysteine - SPARC).^{232,234}

Dados pré-clínicos demonstram a biodisponibilidade imediata do paclitaxel, quando ligado à albumina e a sua possibilidade de ser transportado ao longo do corpo e para os locais de tumor, utilizando as vias endógenas da albumina, que normalmente são inibidas

pelos solventes utilizados nas formulações convencionais (ex. Cremophor-EL, Tween (polissorbato) 80).²³⁵ Após a administração de 20 mg/kg de paclitaxel, formulado como Abraxane[®], e Taxol utilizando um modelo animal MX-1, verificou-se que as concentrações de paclitaxel intratumorais foram 33% superiores para o Abraxane[®]. Estas concentrações demonstraram ser mais elevadas no primeiro ponto de tempo medido (5 min), demonstrando a biodisponibilidade imediata da formulação de tecnologia *nab* (Fig. 16).²³⁵

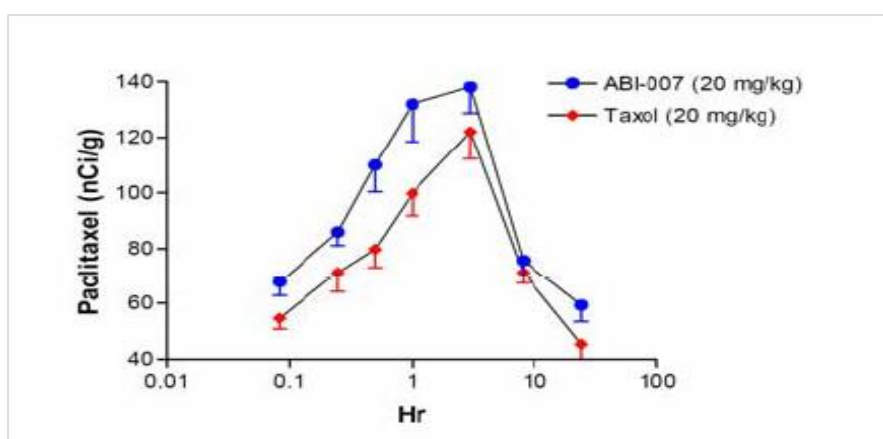


Fig. 16 Concentrações Intratumorais de Paclitaxel após administração de doses iguais de Abraxane[®] e Taxol em murganços portadores de xenoinxertos MX-1 de cancro de mama humano

Adaptado ODAC Abraxane (2006)

Para suportar a utilização de Abraxane[®] no carcinoma da mama metastático, foram disponibilizados dados de dois estudos abertos com único braço que incluíram 106 doentes e de um estudo comparativo de fase III, aleatorizado, em que foram tratados 454 doentes.

Nos estudos abertos com um único braço, o Abraxane[®] foi administrado sob forma de infusão durante 30 min com doses de 175mg/m² (n=43) e 300mg/m² (n=63). A taxa de resposta global (TRG) foi de 39,5% no primeiro (IC a 95%: [54,9-54,2]) e de 47,6% no segundo (IC a 95%: [35,3-60,0]). O tempo mediano para a progressão da doença (TMP) foi de 5,3 e 6,1 meses, respectivamente.²³⁴

No estudo comparativo, Abraxane[®] (260mg/m²) versus Paclitaxel padrão (175mg/m²), ficou demonstrada a eficácia do primeiro ao se obter TRGs significativamente superiores, quando comparado com o padrão (26,5% versus 13,2% [IC a 95%]; p=0,006). O TMP foi de 20,9 semanas no grupo tratado com Abraxane[®] em comparação com 16,1 semanas no grupo tratado com Paclitaxel padrão, sendo estes valores idênticos à mediana da sobrevivência livre de progressão (SLP) ([IC a 95%]; p=0,01). No geral, com a utilização do Abraxane[®], conseguiu-se obter neste estudo um ganho de 20%, em termos de

sobrevivência, traduzidas em aproximadamente 10 semanas (56,4 versus 46,7 semanas [IC a 95%]; $p=0,02$).²³⁴

O risco / benefício do Abraxane[®] no tratamento de carcinoma metastático de mama é considerado positivo. Não necessita de pré -medicação e demonstrou uma TRG mais elevada em comparação com o paclitaxel padrão. Desde de 2005 que detém a aprovação para esta indicação e, em 2010 foram publicados resultados positivos a partir de um estudo de fase III em cancro de pulmão das células não-pequenas (NSCLC). A utilização de Abraxane[®] melhorou TRG em doentes com NSCLC, quando administrado como tratamento de primeira linha junto com carboplatina. Comparado com Taxol mais carboplatina, na Fase III, este estudo mostrou um aumento estatisticamente significativo da TRG na ordem dos 31%.²³⁶ Em Outubro de 2012 a FDA aprova, assim, esta nova indicação para o Abraxane[®].

Mais recentemente, a 6 de Setembro de 2013, a FDA volta a expandir o leque de indicações, e aprova a sua utilização para o tratamento de doentes com adenocarcinoma pancreático metastático. O cancro do pâncreas é a quarta principal causa de morte por cancro nos Estados Unidos. Estima-se que 45.220 pacientes serão diagnosticados e 38.460 morrerão da doença em 2013, segundo o Instituto Nacional do Cancro.²³⁷

A FDA analisou o novo uso para o Abraxane[®] no âmbito do programa de revisão prioritária da agência, que prevê uma revisão acelerada de fármacos. Também foi concedida a designação do produto órfão para o cancro de pâncreas, porque se destina a tratar uma doença ou condição rara.²³⁷

A aprovação para esta indicação foi baseada na demonstração de melhoria na sobrevida global num estudo de fase III multicêntrico, internacional, aberto e aleatorizado, envolvendo um total de 861 doentes com cancro de pâncreas metastático. Os participantes foram aleatoriamente designados para receber a combinação de Abraxane[®] mais gemcitabina ($n = 431$) ou gemcitabina sozinha ($n = 430$). No primeiro grupo obteve-se uma TRG de 23% comparando com os 7% do segundo grupo. A SLP e o TMS também evidenciaram a vantagem da combinação Abraxane[®] mais gemcitabina com valores de 5,5 versus 3,7 meses e, 8,5 versus 6,7 meses, respectivamente ([IC a 95%]; $p<0,0001$).^{237,238}

A combinação de Abraxane[®] mais gemcitabina, mostrou-se superior à gemcitabina em monoterapia, em termos de eficácia, no entanto, apresentou um perfil de toxicidade ligeiramente superior (Tab.3).

Tabela 3 Comparação da toxicidade da combinação de Abraxane+Gemcitabina vs Gemcitabina

(Adaptado *Journal of clinical oncology* Daniel,D. et al (2012))

	Abraxane® + Gemcitabina	Gemcitabina
Fadiga	17%	7%
Diarreia	6%	1%
Neutropenia	38%	27%
Neutropenia Febril	3%	1%
Neuropatia	17%	1%

Apesar destes resultados, os autores do estudo consideraram o perfil de toxicidade aceitável, tendo em conta os níveis de eficácia alcançada na TRG.²³⁹

O esquema terapêutico convencional neste tipo de adenocarcinoma passa pela poliquimioterapia FOLFIRINOX (5-fluorouracilo, oxaliplatina, irinotecano, leucovorina), que tem associada uma toxicidade preocupante. Assim, tendo em conta os resultados obtidos de estudos realizados, o Abraxane® surge como uma alternativa menos tóxica (tab.5), apesar de menos efectiva (tab.4), em relação ao FOLFIRINOX.²³⁸⁻²⁴⁰

Tabela 4 Comparação da eficácia da combinação de Abraxane®+Gemcitabina versus FOLFIRINOX

(Adaptado *JOP* Khotari et al (2013))

	Abraxane® + Gemcitabina	FOLFIRINOX
Tempo Mediano de Sobrevivência	8,5 meses	11,1 meses
Sobrevivência livre de progressão	5,5 meses	6,4 meses
Taxa de resposta	23%	31,6%

Tabela 5 Comparação da toxicidade da combinação de Abraxane+Gemcitabina vs FOLFIRINOX

(Adaptado *JOP* Khotari et al (2013))

	Abraxane® + Gemcitabina	FOLFIRINOX
Fadiga	17%	24%
Diarreia	6%	13%
Neutropenia	38%	46%
Neutropenia Febril	3%	5%
Neuropatia	17%	9%

Outra nanotecnologia com bastante potencial no tratamento de tumores consiste em lipossomas sensíveis à temperatura. Estes lipossomas vão servir como veículo protector, permitindo o aumento da quantidade de fármaco na circulação sanguínea, minimizando a *clearance* e o *uptake* celular não específico. Beneficiando do efeito EPR, ao atingir a microvasculatura tumoral, os lipossomas são então sujeitos a uma fonte de energia externa (radiofrequência) que vai provocar uma hipertermia localizada, permitindo a rápida libertação e penetração do fármaco encapsulado nas células tumorais.²⁴¹

O carcinoma hepatocelular é uma das formas mais letais de cancro, encontrando-se classificado como o quinto tumor sólido mais comum. Existem cerca de 20 mil novos casos por ano nos Estados Unidos e tem uma incidência mundial de aproximadamente 650 mil casos, devido à alta prevalência de hepatite B e C nos países em desenvolvimento. A primeira linha de tratamento padrão para o cancro do fígado é a ressecção cirúrgica do tumor, mas 80% a 90% dos doentes não são elegíveis para a cirurgia.²⁴²

ThermoDox[®] consiste na encapsulação de doxorubicina activado por calor em lipossomas, recorrendo à ablação por radiofrequência (ARF). No estudo HEAT, ThermoDox[®] é administrado iv em combinação com ARF. Uma zona térmica criada pela ARF liberta a doxorubicina encapsulada. Esta tecnologia permite a entrega de concentrações elevadas de doxorubicina e a sua deposição preferencial nas células do tumor-alvo (Fig.17).

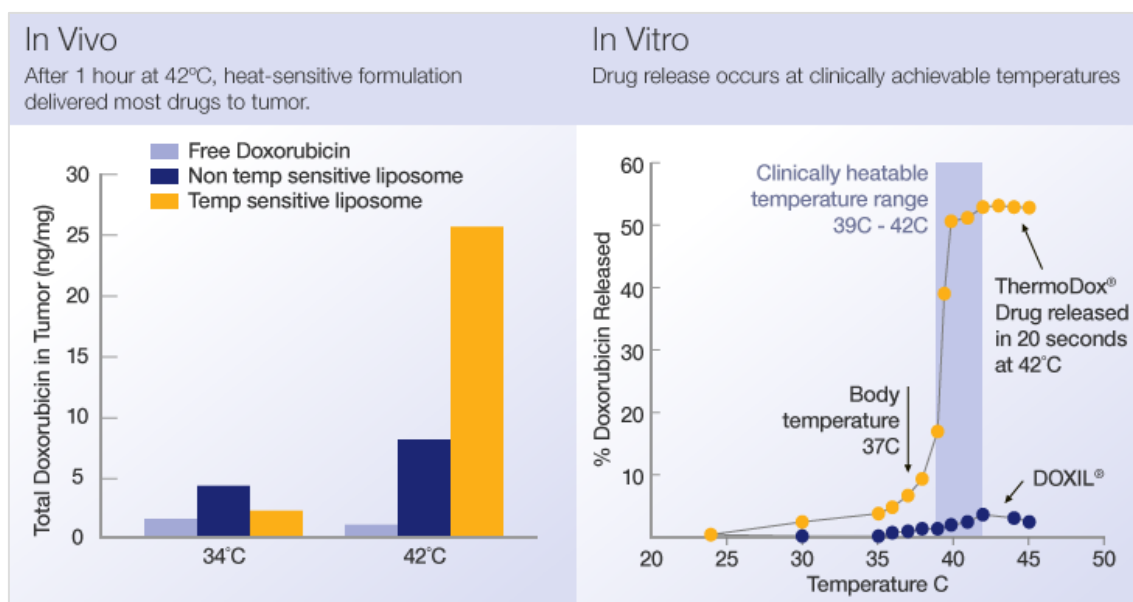


Fig. 17 *In Vivo*) Quantidade de doxorubicina presente no tumor após o recurso a hipertermia. *In Vitro*) Percentagem de doxorubicina libertada dos lipossomas de acordo com variação de temperatura²⁴³

O ThermoDox[®] encontra-se actualmente a ser avaliado para o tratamento do carcinoma hepatocelular. O estudo de Fase III inclui 600 doentes em 75 centros clínicos no âmbito de um Protocolo de Avaliação Especial da FDA. O estudo foi concebido para avaliar a eficácia de ThermoDox[®] em combinação com ARF quando comparados com os doentes que recebem ARF sozinha como controlo. O *endpoint* primário do estudo é a SLP.²⁴² Embora ainda não se encontrarem publicados os resultados deste estudo, as expectativas para a sua rápida aprovação e comercialização são bastante elevadas.

Apesar do cenário promissor que a nanotecnologia vem acrescentar à área da terapia oncológica, e de já existirem nanoprodutos comercializados e muitos em vias do ser, também existem casos de insucesso. Dois exemplos destes casos são os projectos LiPlaCis, cuja investigação foi suspensa durante a Fase I, e Livatag[®] ainda que tenha chegado à Fase II, também foi suspenso. Em ambos os casos, a suspensão da investigação foi devida a problemas de elevada toxicidade detectada.

O LiPlaCis consiste numa formulação lipossomal, contendo um composto de platina, destinado ao tratamento de doentes com tumores sólidos. Durante o estudo, foram avaliados 18 doentes e administrados em 64 ciclos. No primeiro nível de dose, 3 doentes apresentaram reacção aguda à administração (perfusão). Apesar do recurso a pré-medicação profiláctica e prolongamento do tempo de perfusão (2h) em mais doentes, outros 3 tiveram reacção aguda, mais moderada, à infusão. A toxicidade reportada no quinto nível de dose (120mg), consistiu em toxicidade renal de grau 2, reversível após hidratação, em 2 doentes e trombocitopenia de grau 4 num desses mesmos doentes. Assim, deste modo, tendo em conta o perfil de segurança apresentado, não foram reconhecidos benefícios adicionais da formulação de LiPlaCis em comparação com as formulações standard de platina já existentes, pelo que se justificou o abandono da investigação. Para que o estudo seja retomado, será então necessário proceder à reformulação do LiPlaCis.²⁴⁴

O Livatag[®] é constituído por doxorubicina adsorvida em NPs de cianoacrilato que têm como objectivo contornar os mecanismos de resistência a múltiplos fármacos em células cancerígenas. Com indicação para o carcinoma hepatocelular, a sua eficácia foi avaliada, em comparação com os cuidados terapêuticos standard, em doentes não elegíveis para ressecção cirúrgica, transplante ou radiofrequência.

O ensaio de Fase II, consistiu num estudo aberto multicêntrico prospectivo e randomizado. De Dezembro de 2006 a Julho de 2008, 28 doentes foram aleatoriamente designados para Livatag[®] (n = 17) ou melhor padrão terapêutico (n = 11). Este estudo foi

interrompido prematuramente a Julho de 2008, devido a grave reacção respiratória aguda, que ocorreu em 3 doentes, resultando na morte de 2. Não foi observada nenhuma outra toxicidade de grau 3 ou 4. Não obstante, os resultados do ensaio demonstraram que a administração de Livatag[®] resultava numa melhoria substancial da sobrevivência global (32 meses), em relação ao grupo de controlo (15 meses).^{245,246}

Testes toxicológicos posteriores evidenciaram a relevância da dosagem e duração da perfusão na toxicidade pulmonar. Pelo que apesar de ter sido suspenso o ensaio de Fase II, a empresa responsável pelo desenho continuou a investigação, desenvolvendo ensaios em modelos animais, de modo melhorar o perfil de segurança do Livatag[®]. Actualmente encontra-se em Fase III, estudo aprovado tendo por base as evidências retiradas do ensaio de Fase II, em que a diferença de 17 meses reforçou o interesse no produto e justificou o pedido deste novo ensaio clínico.²⁴⁶

Tal como já foi referido anteriormente, a procura contínua de alternativas terapêuticas para o cancro tem conduzido ao desenvolvimento de tecnologias que visam melhorar a selectividade dos fármacos citotóxicos e o índice terapêutico. O recurso a conjugados de anticorpos monoclonais com fármacos citotóxicos (ADCs) permite a veiculação e libertação dos fármacos apenas nas células tumorais de interesse.

Até o momento, foram aprovados pela FDA dois ADCs: Mylotarg[®] (gemtuzumab ozogamicina) e Adcetris[™] (brentuximab vedotina). Aprovado no ano de 2000, o Mylotarg[®] consiste na conjugação de um anticorpo com o antibiótico neoplásico caliqueamicina, que tem como alvo as células CD33. Tem como indicação o tratamento de recidivas de LMA, CD33 positiva, em doentes com mais de 60 anos.²⁴⁷ No entanto, em 2010, a FDA emitiu um comunicado, suspendendo a AIM, com base nos estudos realizados pós-aprovação, em 2004, nos quais efectivamente não se demonstrou benefício adicional do Mylotarg[®]. De facto, o ensaio que se encontrava a decorrer foi interrompido quando se detectou a ocorrência de um elevado número de mortes, no grupo tratado com Mylotarg[®], em relação ao grupo controlo.²⁴⁸

O Adcetris[™] foi aprovado em 2011 pela FDA, e em 2012 pela EMA, para o tratamento de doentes com linfoma de Hodgkin (LH) que não respondem a pelo menos dois esquemas de poliquimioterapia convencional ou após falha de transplante autólogo de células estaminais (alloSCT).^{249,250} O Adcetris[™] tem como alvo os receptores CD30, que se encontram expressos em células malignas do LH, mas com expressão limitada nas células normais. É constituído por um anticorpo monoclonal conjugado com monometil auristatina E

(molécula citotóxica). Após a ligação às células cancerígenas com positividade para CD30, o conjugado é clivado por proteases e o agente, monometil auristatina E é libertado e internalizado. Uma vez no interior das células, ao interromper a formação da rede de microtúbulos, induz a paragem do ciclo celular e subsequente apoptose.^{251,252}

Foi efectuado um estudo principal envolvendo 102 doentes com LH com positividade para CD30, que tinham recebido previamente um alloSCT e cujo cancro recidivara ou não respondera a tratamento prévio. O principal parâmetro de eficácia foi a percentagem de doentes com uma resposta completa (ausência de sinais de cancro) ou parcial ao tratamento. A resposta ao tratamento foi avaliada por meio de exames radiográficos corporais e dados clínicos dos doentes. No estudo do LH, 75 % dos doentes apresentaram uma resposta parcial ou completa ao tratamento, observando-se uma resposta completa em 33 % dos doentes. Os dados relativos a 40 doentes demonstraram que 55 % dos doentes (22 num total de 40) responderam ao tratamento. Observou-se uma resposta completa em 23 % desses doentes (9 num total de 40).²⁵³

Num outro estudo, realizado para determinar a eficácia e segurança do Adcetris™ no LH recorrente em 24 doentes com alloSCT prévio, obteve-se 50% de resposta objectiva (38% com resposta completa e 13% com resposta parcial), com um tempo médio de 8,1 ([5,3-32,0]) semanas. A taxa de controlo da doença (resposta completa + resposta parcial + doença estável) foi de 92%. O tempo médio para a resposta completa foi de 10,7 semanas (variação [6,3-32,0]). A SLP para todos os doentes foi de 7,8 meses (variação de 0,5-12,2 +) e a mediana de sobrevida global não tinha sido atingida, dado 23 doentes permaneceram vivos no momento da recolha de dados. Todos os doentes apresentaram, pelo menos, um efeito adverso. Os mais comuns foram tosse, fadiga, febre, náuseas, neuropatia sensorial periférica e dispneia. 72% apresentaram, pelo menos, um efeito adverso superior ou igual a grau 3: neutropenia (n = 6, 24%), anemia (n = 5, 20%), trombocitopenia (n = 4, 16%), e hiperglicemia (n = 3, 12%).²⁴⁹

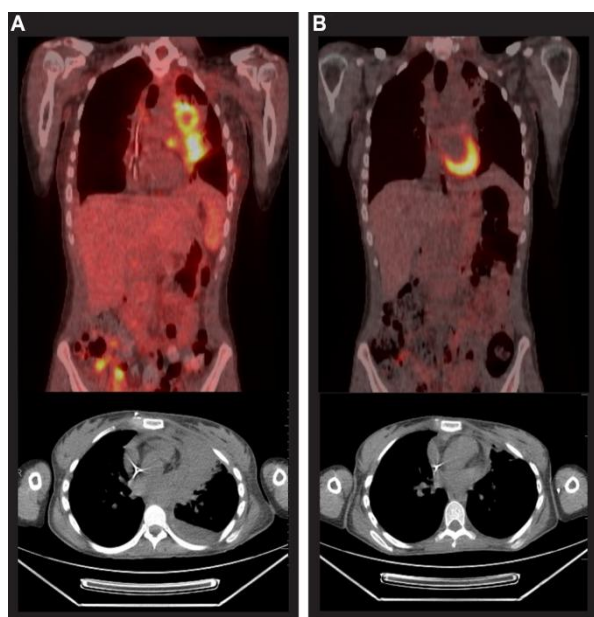


Fig. 18 Case study da terapêutica com Adcetris™.

A tomografia por emissão de positrões demonstra o antes (A) e o após (B) terapia com Adcetris™ num doente com 20 anos de idade, diagnosticado com LH 3 anos antes. O doente tinha recebido quatro ciclos de doxorubicina, bleomicina, vincristina, etopósido, prednisolona e ciclofosfamida seguidos de radioterapia, que produziu uma resposta completa com duração de 2 meses. Após novos regimes terapêuticos, foi sujeito a um alloSCT e irradiação corporal total (200 cGy). No entanto, foi detectada a progressão da doença ao fim de 4 meses. Recebeu sua primeira dose de Adcetris™ em Dezembro de 2009, alcançando uma resposta parcial antes da terceira dose e a resposta completa foi reportada após a nona dose. Completou 16 ciclos de tratamento e permanecia em resposta completa, no último contacto, 6 meses após a última dose de Adcetris™

Adaptado Blood Gopal et al.(2012)

Apesar de os dados existentes serem limitados e de os estudos não compararem o Adcetris™ com um tratamento de controlo, este foi considerado benéfico para os doentes com LH cujo cancro recidivara ou não respondera à terapêutica. Nestes doentes que geralmente apresentam maus resultados e sofrem de falta de tratamentos adequados, o Adcetris™ pode conduzir a uma resposta completa ou permitir que sejam submetidos a tratamentos potencialmente curativos. O perfil de segurança global do Adcetris™ foi aceitável para estes doentes e, com base nos benefícios obtidos nos ensaios realizados, foi-lhe concedida uma “autorização condicional”. Isto significa que se aguardam mais dados sobre este medicamento, nomeadamente, acerca dos seus efeitos a longo prazo, tais como duração da resposta e sobrevivência, os quais são necessários para confirmar a relação risco-benefício.²⁵³

Outro exemplo promissor que assenta sobre a tecnologia dos conjugados de anticorpos monoclonais é o trastuzumab-DM1 (T-DM1). O trastuzumab (Herceptin®) é um anticorpo monoclonal dirigido contra o receptor tirosina-quinase HER2. Embora seja um agente muito activo na superexpressão de HER2 no cancro de mama metastático, a maioria dos doentes, que inicialmente respondem ao trastuzumab começam a desenvolver resistência, no espaço de 1 ano, após o início do tratamento.²⁵⁴

O T-DM1 utiliza um análogo do fármaco anti-mitótico maitansina que devido à sua potência (cerca de 100 vezes mais potente que a vincristina)^{255,256} e toxicidade não pode ser utilizado isoladamente. Deste modo, o T-DM1 proporciona a sua administração em

segurança e em doses terapeuticamente eficazes.²⁵⁷ É o primeiro ADC que utiliza ligações tioéster irreversíveis em ensaios clínicos.²⁵⁴ Ensaios clínicos de fase I e II do T-DM1 como agente único e em combinação com paclitaxel, docetaxel e pertuzumab demonstraram actividade clínica e um perfil de segurança favorável em doentes com cancro de mama HER2-positivo metastático. Dois ensaios aleatorizados de fase III ainda aguardam resultados finais (EMILIA e MARIANNE).²⁵⁴

No estudo EMILIA foram acompanhadas, aproximadamente, 1000 mulheres, que já tinham sido tratadas previamente com taxanos e trastuzumab. Este ensaio teve como objectivo o estudo da segurança e eficácia do T-DM1 *versus* capecitabina mais lapatiniba. Nos resultados preliminares obtidos, verificou-se que o T-DM1 aumentou significativamente a mediana da PFS, sendo de 9,6 meses no grupo T-DM1 comparado com 6,4 meses no grupo capecitabina mais lapatiniba (HR 0,650, [IC a 95%]: 0,55-0,77, $p < 0,0001$). A taxa de resposta objectiva foi significativamente superior na coorte de T-DM1 em 43,6 % comparado com 30,8% na coorte de capecitabina mais lapatiniba ([IC a 95%]: 6,0-19,4, $p = 0,0002$) (Fig.19).

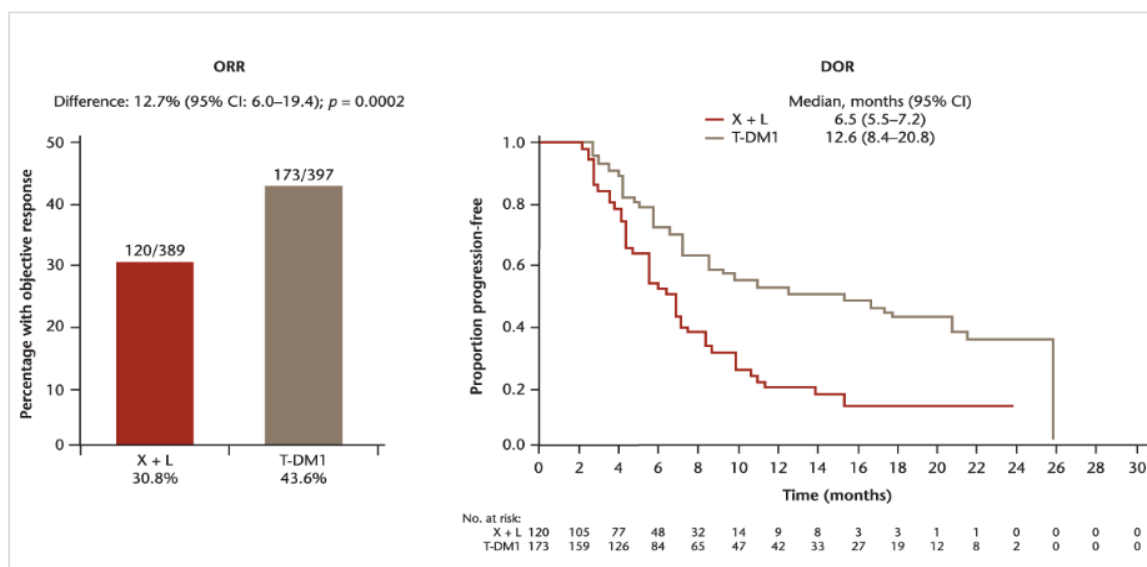


Fig. 19 Taxa de Resposta Objectiva e Duração da Resposta do T-DM1 *versus* Capecitabina+Lapatiniba.

Adaptado ASCO, Blackwell (2012)

Além dos resultados acima referidos, este tratamento reduziu o risco de eventos o risco de morte em 38%, quando comparado com a capecitabina mais lapatiniba e, a taxa de efeitos adversos de grau 3, ou superior, foi de cerca de um terço inferior comparado com a terapia de combinação.^{254,258} Assim, o T-DM1 demonstra um progresso significativo no desenvolvimento de ADCs como agentes anticancerígenos.

Outra tecnologia, tem vindo a insurgir-se, cada vez mais, na terapêutica oncológica é a hipertermia magnética (MHT), que consiste na geração de calor, na região do tumor, por meio da aplicação de NPs magnéticas submetidas a um campo magnético alternado (AMF), demonstrou resultados positivos em ensaios, pré-clínicos e clínicos, realizados.

Os gliomas correspondem a um grupo heterogêneo de tumores primários do sistema nervoso central (SNC) que atingem as células da glia. Constituem a maioria dos tumores malignos primários do SNC, encontrando-se associados a altas taxas de morbilidade e mortalidade. O glioblastoma é o mais frequente dos gliomas malignos e, apesar dos recentes avanços no diagnóstico e novas opções de tratamento, o seu prognóstico permanece sombrio.²⁵⁹ Alguns estudos preliminares da utilização de MHT na prática clínica para o tratamento de gliomas sugerem que os SPIONs, possuem uma capacidade de promover o aquecimento controlado das regiões sujeitas à hipertermia, demonstrando uma adequada distribuição intratumoral, com a vantagem de minimizar efeitos secundários.^{260,261}

Num estudo realizado em dois centros, 66 pacientes (59 com glioblastoma recorrente) receberam uma instilação intratumoral de uma dispersão aquosa de SPIONs, e aquecimento subsequente das partículas recorrendo a MHT. O tratamento foi combinado com radioterapia estereotáxica fraccionada. De acordo com a literatura, o tempo médio de sobrevivência, após o diagnóstico de glioblastoma recorrente e tratamento com terapêutica convencional (cirurgia, radioterapia e quimioterapia), foi de 6,2 meses.²⁶² O objectivo principal era demonstrar que esta alternativa terapêutica poderia de facto, prolongar o tempo de médio de sobrevivência, comparando os resultados obtidos com um grupo controlo.

A mediana de sobrevida global desde o diagnóstico da primeira recorrência do tumor entre os 59 pacientes com glioblastoma recorrente foi de 13,4 meses ([IC a 95%]: 10,6-16,2 meses). O tempo médio de sobrevida global após o diagnóstico do tumor primário foi de 23,2 meses, enquanto o intervalo de tempo médio entre o diagnóstico primário e a primeira recorrência do tumor foi de 8,0 meses. Só o volume do tumor no início do estudo foi significativamente correlacionado com a sobrevivência que se seguiu ($p < 0,01$). Os efeitos adversos registados foram moderados e sem complicações graves.²⁶³

Nano-Cancer[®] é a primeira nanotecnologia, utilizando a MHT, dirigida a tumores cerebrais, encontrando-se ainda em investigação em ensaios de fase II.

IV. DISCUSSÃO

Na maioria dos países desenvolvidos, o cancro é considerada a segunda maior causa de morte, logo depois das doenças cardiovasculares e, segundo a OMS, existem evidências epidemiológicas que apontam para esta tendência emergente também nos países menos desenvolvidos.

Tal como foi descrito ao longo deste trabalho, a Nanotecnologia aplicada à terapia oncológica surge com potencialidades elevadas, sendo que as propriedades únicas das NPs como sistemas de transporte e entrega de fármacos fazem desta área um alvo preferencial de pesquisa e investigação para que efectivamente se consigam obter respostas eficazes no tratamento, diagnóstico e até prevenção de diversos tipos de cancro. O campo da Nanomedicina está a mover-se a um ritmo muito elevado. No entanto, por mais promissores que os nanoproductos possam ser, o entusiasmo da comunidade científica por eles deve ser contido e considerações apropriadas, relacionadas com segurança dos doentes e profissionais de saúde, devem ser tornadas prioritárias no contexto da perspectiva de uma rigorosa aprovação regulamentar.

Questões relevantes, vão bem além das considerações sobre biocompatibilidade dos nanotransportadores, da sua farmacocinética ou da fiabilidade dos protocolos adoptados para a sua produção, não deixando, no entanto, de constituir preocupações centrais. Dada a sua natureza tripartida, as NPs estão, sem dúvida, sobre a responsabilidade dos três ramos das agências reguladoras, como a FDA ou a EMA: medicamentos, dispositivos médicos e agentes biológicos. Consequentemente, qualquer nanoproducto para aplicação clínica deve ser examinado a partir destas três perspectivas.¹⁴³

A principal vantagem das NPs reside na sua multifuncionalidade, na capacidade de poder incorporar vários agentes terapêuticos e/ou diagnóstico, contornando as barreiras biológicas. De acordo com a regulamentação em vigor, a aprovação regulamentar deve ser emitida para cada agente, e só depois, para a suas possíveis combinações. A natureza tripartida das Nps pode representar preocupações ao nível regulamentar, mas também apresenta emocionantes oportunidades para o desenvolvimento de um grande número de formulações terapêuticas: por exemplo, através da combinação de 100 fármacos reconhecidos e 100 nanotransportadores/vectores mais promissores, e direccionando-os

com 100 fragmentos eleitos de bioreconhecimento, pode-se obter um milhão de novos agentes direccionados.¹⁴³

A Nanotecnologia oferece consideráveis perspectivas para a medicina, e apesar de já existirem alguns nanoproductos comercializados e a serem efectivamente utilizados na prática clínica, a maior parte ainda se encontra sob investigação e ensaios, pelo que apenas poderemos aferir a sua efectividade no futuro. Esta orientação futura faz da Nanotecnologia vulnerável ao surgimento de questões, por parte da comunidade científica, acerca dos seus benefícios ou danos potenciais. Devido a este facto, é necessário ter alguma contenção, e não especular prematuramente sobre esperanças ou preocupações relevantes a nanotecnologias em desenvolvimento, antes de qualquer evidência formal científica. Qualquer uma destas especulações, poderia resultar no risco de que o envolvimento público no início promovesse ou a segurança pública ou preocupações com questões erradas.²⁶⁴

4.1. Questões de Segurança

Questões de segurança surgem, imperativamente, quando se aborda o tema da Nanotecnologia, sobretudo as que se encontram intrinsecamente ligadas à toxicologia. Estas questões, amplamente abordadas na literatura, são contraditórias devido à própria natureza dos sistemas nanoestruturados assim como a sua morfologia, métodos de preparação, grau de pureza e tipo de protocolo dos testes utilizados.

A toxicologia, visa estudar os efeitos nocivos ou adversos de agentes de natureza física, química ou biológica sobre os seres vivos e o seu impacto sobre o meio ambiente, tendo como objectivo diagnosticar, tratar e prevenir qualquer possível intoxicação. O estudo dos nanoriscos, riscos inerentes à nanotecnologia, implica a articulação entre disciplinas como a nanotoxicologia, genotoxicologia e ecotoxicologia. Dentro do contexto da Nanotecnologia, algumas considerações são necessárias, dado que os nanomateriais apresentam características exclusivas, dependentes do tamanho e da morfologia, tais como um grande aumento da sua reactividade química em relação ao estado '*bulk*' (sólido macro) e a sua enorme diversidade estrutural-funcional.²⁶⁵

Não é pois de admirar, que exista algum cepticismo por parte dos toxicologistas quando confrontados com esta realidade emergente da Nanotecnologia e Nanomedicina. Não obstante a existência de bases de dados sobre NPs, pouco ainda se sabe sobre a sua toxicidade em humanos até o momento e, os estudos toxicológicos tradicionais não estão completamente adaptados para nanomateriais, em virtude do rápido avanço experimentado

por esta área. Adicionalmente, dados ecotoxicológicos limitados criam, na verdade, grande dificuldade para uma avaliação sistemática do impacto das NPs nos ecossistemas.²⁶⁵

Segundo *Oberdörster*²⁶⁶, a exposição dos seres humanos a partículas nanométricas tem aumentado significativamente no último século, devido à presença de fontes antropogénicas (derivadas da actividade humana). Sublinha, que a Nanotecnologia, em virtude de seu desenvolvimento acelerado, constitui outra fonte de exposição via inalação, ingestão, absorção cutânea e injeção de materiais artificiais. Considerando a maior área superficial por massa, quando comparadas com partículas de maiores dimensões, a actividade biológica das NPs encontra-se aumentada, contribuindo também para um maior risco.

Tendo em conta todas estas premissas, para que se consiga, efectivamente, um desenvolvimento seguro e sustentável da Nanotecnologia, com o respectivo equilíbrio ambiental, é necessário adaptar os estudos toxicológicos tradicionais aos nanomateriais, de modo a que se obtenha uma avaliação de risco o mais fidedigna possível. Já existem programas específicos, tais como o NanoSafe2, da Comunidade Europeia, que estudam várias nanoestruturas, considerando os mais diferentes aspectos, entre eles: detecção, monitorização e técnicas de caracterização; saúde e avaliação de riscos; desenvolvimento de sistemas seguros de produção industrial, aplicações e meio ambiente e aspectos sociais²⁶⁷.

4.2. Questões Éticas

A Nanotecnologia sendo uma tecnologia que permite muitas futuras aplicações médicas levanta questões como a sensibilidade da informação genética, a diferença entre diagnóstico e terapia, acesso a recursos de saúde e as tensões existentes entre medicina holística e funcional. Para além disso, a Nanotecnologia acrescenta novas possibilidades na interface entre o bio (humano) e não-bio (máquina), tais como chips ou implantes cerebrais, que podem, eventualmente, levantar novas questões éticas específicas para a Nanomedicina. Assim, é indispensável uma análise cuidadosa dos aspectos éticos, tendo em vista a existência de normas e regulamentos estabelecidos pelo Comité de Ética à escala europeia.²⁶⁴ Simultaneamente, qualquer nova invenção nanomédica deve ser avaliada sob os aspectos legais, éticos e sociais pelos respectivos especialistas da matéria. O ideal, é a análise precoce de todos e quaisquer desenvolvimentos tecnológicos de modo a se poder identificar e discutir potenciais problemas o mais rapidamente possível, evitando conflitos de interesse.

A colaboração estreita e a co-aprendizagem entre os investigadores e criadores da tecnologia e os especialistas de ética, assistidos por profissionais de comunicação, garante a informação aberta, eficiente e adequada do público sobre os aspectos éticos relacionados com a Nanomedicina.²⁶⁴

Segundo *Boisseau e Loubaton*²⁶⁴, é necessária uma análise profunda do campo da Nanomedicina, sob o ponto de vista ético e tendo em conta a dignidade humana, baseada nos seguintes princípios:

- Não instrumentalização: A exigência ética de não usar indivíduos meramente como um meio, mas sempre como um fim próprio.
- Privacidade: O princípio ético de não invadir o direito da pessoa à privacidade.
- Não discriminação: As pessoas merecem igualdade de tratamento, a menos que existam razões que permitam justificar a diferença de tratamento. É um princípio amplamente aceite e, neste contexto, refere-se principalmente à distribuição de recursos dos cuidados de saúde.
- Consentimento: O princípio ético que os doentes não estão expostos a um tratamento ou pesquisa sem o seu consentimento livre e informado.
- Equidade: O princípio ético que todos devem ter acesso equitativo aos benefícios sob consideração.
- Precaução: Este princípio implica o dever moral da avaliação do risco contínuo da exposição às novas tecnologias uma vez que o seu impacto não é totalmente previsível.

A preocupação com a competitividade económica e de outros valores económicos (crescimento económico) podem entrar em conflito com o respeito pela dignidade humana. A liberdade plena de alguns pode comprometer a saúde e a segurança de outros. Portanto, um equilíbrio deve ser atingido entre os valores que são todos legítimos na nossa cultura.²⁶⁴

4.3. Questões Regulamentares

Há mais de 50 anos que as entidades reguladoras de medicamentos de todo o mundo têm vindo a desenvolver procedimentos juridicamente vinculativos de modo a garantir o acesso da sociedade a medicamentos e dispositivos médicos seguros e eficazes. Apesar de diferentes países e territórios possuírem quadros legislativos específicos, tem havido um esforço significativo para o desenvolvimento de normas e procedimentos comuns a todos através da implementação de directrizes da Conferência Internacional de Harmonização

(ICH). A ICH reúne as entidades reguladoras, assim como as indústrias de inovação, dos Estados Unidos, Europa e Japão.²⁶⁸ O contexto histórico da regulamentação dos medicamentos²⁶⁹ e o debate actual sobre a necessidade de regulamentar a Nanomedicina^{52,270–272} foram recentemente sujeitos a uma revisão.

Actualmente, as autoridades reguladoras deparam-se com as seguintes questões⁹:

- i. Uma vez que algumas tecnologias de primeira geração (incluindo alguns produtos terapêuticos lipossomais e poliméricos) já se encontram disponíveis há muito tempo, as autoridades reguladoras necessitam de definir mecanismos que garantam a introdução segura de produtos *'follow-on'*. Tendo em conta que os fabricantes desses produtos não têm acesso a informações confidenciais sobre a introdução do produto inovador original, e que vão estar a utilizar um novo local de fabrico (e, provavelmente, um processo de fabrico diferente), estes mecanismos serão essenciais para garantir idêntico risco-benefício à medida que produtos *'follow-on'* possam surgir.
- ii. Existência da necessidade das autoridades reguladoras se manterem a par da rápida evolução do estado da arte de tal forma a poderem aconselhar as empresas, em primeiro lugar, sobre os requisitos para a autorização de estudos em humanos e, mais tarde, sobre os necessários para a aprovação do produto final.
- iii. Necessidade de uma monitorização pró-activa da Política Regulamentar de modo a garantir a ausência de "lacunas" que surgem com as novas tecnologias ao nível dos designados produtos fronteira, por ex. muitas das abordagens emergentes podem ser vistas tanto como um "dispositivo médico", um "medicamento" e / ou um "agente de imagem".

Assim, o actual quadro regulamentar deve-se basear na abordagem da relação risco-benefício, incluindo um plano de gestão de riscos, não esquecendo a respectiva avaliação de impacto ambiental, encontrando-se assim adequado para o desenvolvimento e avaliação das nanotecnologias na indústria farmacêutica.

4.4. Perspectivas Futuras

A Nanomedicina deixou de ser conceito puramente académico e a sua translação para a prática clínica tem vindo a ser uma realidade premente. As nanotecnologias para aplicação

clínica não só vieram revolucionar todo o conceito de terapia, diagnóstico e prognóstico, como também se apresentam como um elevado foco de investimento.

A Nanomedicina representa uma grande indústria, com vendas atingindo os 6,8 bilhões de dólares em 2004, e com mais de 200 empresas e 38 produtos em todo o mundo. A cada ano, um mínimo de 3,8 bilhões de dólares é investido em I&D de nanotecnologias. Como a indústria da Nanomedicina continua a crescer, espera-se um impacto significativo economia. O mercado global de Nanomedicina foi avaliado em 53 bilhões de dólares em 2009 e deverá aumentar a uma taxa de crescimento anual de 13,5%, atingindo mais de 100 bilhões de dólares em 2014. Os nanoprodutos de aplicação em terapia oncológica corresponderam a um dos maiores segmentos do mercado, no valor de quase 20 bilhões de dólares em 2009. Prevê-se que este sector cresça a uma taxa de crescimento anual de 11%, atingindo 33 bilhões de dólares em 2014.²⁶⁴

Estes investimentos proporcionam assim, uma fonte de esperança no que respeita ao combate das doenças oncológicas.

V. CONCLUSÃO

A Nanomedicina é uma área em franca expansão e o recurso às nanotecnologias disponíveis, revela-se promissor no que respeita ao desenvolvimento de alternativas sustentáveis às terapias oncológicas convencionais.

Actualmente os nanoprodutos comercializados, ou em desenvolvimento, não consistem propriamente em fármacos inovadores, mas sim em novos sistemas de veiculação de moléculas/princípios activos cuja acção farmacológica já é amplamente conhecida e devidamente validada.

Ao longo do trabalho foram descritos alguns exemplos que demonstram bem a potencialidade destas tecnologias, sendo quase impossível a não rendição a esta nova realidade.

As NPs revelam-se extremamente atractivas na terapia oncológica, devido a todas as características anteriormente mencionadas. No entanto, várias são as questões que se levantam em torno do seu real potencial, e até que ponto, a longo prazo, a sua utilização, na prática clínica de rotina, se pode revelar contraproducente? São questões válidas e pertinentes, no entanto, estas também são dúvidas que surgem no desenvolvimento de qualquer tecnologia médica. Como tal, uma correcta avaliação de risco-benefício, biotoxicidade, assim como o respeito pelos critérios rigorosos da produção e desenvolvimento de qualquer Nanotecnologia torna-se imperativa.

As expectativas são elevadas e os investimentos nesta área demonstram a confiança e a esperança que a sociedade coloca nas nanotecnologias, abrindo portas para a prosseguimento da investigação e desenvolvimento de produtos para aplicação em oncologia, onde a palavra “nano” nunca foi tão grande.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cancer mortality. at <http://www.who.int/gho/ncd/mortality_morbidity/cancer/en/index.html>
2. Kummar, V., Abbas, A., Fausto, N. & Mitchell, R. *Robbins: Patologia Básica*. 187–244 (Elsevier Inc., 2008).
3. *Stedman: Dicionário Médico*. (Guanabar - Koogan, 2000).
4. Shin, D. M. Nanotherapeutic Delivery Systems: Cancer Nanotechnology Plan, Office of Cancer Nanotechnology Research - Center for Strategic Scientific Initiatives. (2010).
5. From, C. *et al.* COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE COUNCIL , THE EUROPEAN PARLIAMENT Nanosciences and nanotechnologies : An action plan for Europe 2005-2009. (2009).
6. Kamaly, N., Xiao, Z., Valencia, P. M., Radovic-Moreno, A. F. & Farokhzad, O. C. Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 2971–3010 (2012).
7. Etheridge, M. L. *et al.* The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine* **9**, 1–14 (2013).
8. Fatal, V. & Eugénio, J. Evolução da Nanotecnologia: abordagem nacional e internacional. *INPI* 1–22 (2010).
9. Duncan, R. & Gaspar, R. Nanomedicine(s) under the microscope. *Mol. Pharm.* **8**, 2101–41 (2011).
10. Parreira, D. B. & Eugénio, J. Nanopartículas para aplicação oncológica. *INPI* (2011).
11. LaVan, D. A., McGuire, T. & Langer, R. Small-scale systems for in vivo drug delivery. *Nat. Biotechnol.* **21**, 1184–91 (2003).
12. Faraday, M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. *Philos. Trans. R. Soc. London* **147**, 145–181 (1857).
13. Cooper, E. L. From Darwin and Metchnikoff to Burnet and beyond. *Contrib. Microbiol.* **15**, 1–11 (2008).
14. Ehrlich, P. Address in Pathology, ON CHEMIOTHERAPY: Delivered before the Seventeenth International Congress of Medicine. *Br. Med. J.* **2**, 353–9 (1913).
15. Amselem, S., Gabizon, A. & Barenholz, Y. Optimization and upscaling of doxorubicin-containing liposomes for clinical use. *J. Pharm. Sci.* **79**, 1045–52 (1990).
16. Bangham, A. D. Liposomes: the Babraham connection. *Chem. Phys. Lipids* **64**, 275–85 (1993).
17. Bangham, A. D. Lipid bilayers and biomembranes. *Annu. Rev. Biochem.* **41**, 753–76 (1972).
18. Gregoriadis, G., Leathwood, P. D. & Ryman, B. E. Enzyme entrapment in liposomes. *FEBS Lett.* **14**, 95–99 (1971).

19. Papahadjopoulos, D., Mayhew, E., Poste, G., Smith, S. & Vail, W. J. Incorporation of lipid vesicles by mammalian cells provides a potential method for modifying cell behaviour. *Nature* **252**, 163–6 (1974).
20. Couvreur, P., Tulkens, P., Roland, M., Trouet, A. & Speiser, P. Nanocapsules: a new type of lysosomotropic carrier. *FEBS Lett.* **84**, 323–6 (1977).
21. Kreuter, J. & Speiser, P. P. In vitro studies of poly(methyl methacrylate) adjuvants. *J. Pharm. Sci.* **65**, 1624–7 (1976).
22. Speiser, P. P. Non-liposomal nanocapsules, methodology and application. *Front. Biol.* **48**, 653–68 (1979).
23. Cornu, G., Michaux, J. L., Sokal, G. & Trouet, A. Daunorubicin-DNA: further clinical trials in acute non-lymphoblastic leukemia. *Eur. J. Cancer* **10**, 695–700 (1974).
24. Davis, F. F. The origin of pegnology. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **54**, 457–8 (2002).
25. Allen, T. M. & Chonn, A. Large unilamellar liposomes with low uptake into the reticuloendothelial system. *FEBS Lett.* **223**, 42–6 (1987).
26. MARCHASIN, S. & WALLERSTEIN, R. O. THE TREATMENT OF IRON-DEFICIENCY ANEMIA WITH INTRAVENOUS IRON DEXTRAN. *Blood* **23**, 354–8 (1964).
27. Hurwitz, E. *et al.* The covalent binding of daunomycin and adriamycin to antibodies, with retention of both drug and antibody activities. *Cancer Res.* **35**, 1175–81 (1975).
28. Trouet, A., Masquelier, M., Baurain, R. & Deprez-De Campeneere, D. A covalent linkage between daunorubicin and proteins that is stable in serum and reversible by lysosomal hydrolases, as required for a lysosomotropic drug-carrier conjugate: in vitro and in vivo studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **79**, 626–9 (1982).
29. Gros, L., Ringsdorf, H. & Schupp, H. Polymeric antitumour agents on a molecular and cellular level. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **20**, 301–323 (1981).
30. Slepnev, V. I. *et al.* Micelles of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) block copolymer (pluronic) as a tool for low-molecular compound delivery into a cell: phosphorylation of intracellular proteins with micelle incorporated [γ -³²P]ATP. *Biochem. Int.* **26**, 587–95 (1992).
31. Yokoyama, M. *et al.* Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res.* **50**, 1693–700 (1990).
32. Heath, T. D., Fraley, R. T. & Papahadjopoulos, D. Antibody targeting of liposomes: cell specificity obtained by conjugation of F(ab')₂ to vesicle surface. *Science* **210**, 539–41 (1980).
33. Leserman, L. D., Barbet, J., Kourilsky, F. & Weinstein, J. N. Targeting to cells of fluorescent liposomes covalently coupled with monoclonal antibody or protein A. *Nature* **288**, 602–4 (1980).
34. Torchilin, V. P. Immunoliposomes and PEGylated immunoliposomes: possible use for targeted delivery of imaging agents. *Immunomethods* **4**, 244–58 (1994).

35. Gabizon, A. & Martin, F. Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours. *Drugs* **54 Suppl 4**, 15–21 (1997).
36. Moreno-Aspitia, A. & Perez, E. A. Nanoparticle albumin-bound paclitaxel (ABI-007): a newer taxane alternative in breast cancer. *Future Oncol.* **1**, 755–62 (2005).
37. Zeidan, A., Wang, E. S. & Wetzler, M. Pegasparginase: where do we stand? *Expert Opin. Biol. Ther.* **9**, 111–9 (2009).
38. Udhain, A., Skubitz, K. M. & Northfelt, D. W. Pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma. *Int. J. Nanomedicine* **2**, 345–52 (2007).
39. Montana, M. *et al.* Albumin-bound paclitaxel: the benefit of this new formulation in the treatment of various cancers. *J. Chemother.* **23**, 59–66 (2011).
40. Kim, T.-Y. *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of Genexol-PM, a cremophor-free, polymeric micelle-formulated paclitaxel, in patients with advanced malignancies. *Clin. Cancer Res.* **10**, 3708–16 (2004).
41. Chan, J. M., Valencia, P. M., Zhang, L., Langer, R. & Farokhzad, O. C. Polymeric nanoparticles for drug delivery. *Methods Mol. Biol.* **624**, 163–75 (2010).
42. Davis, M. E. The first targeted delivery of siRNA in humans via a self-assembling, cyclodextrin polymer-based nanoparticle: from concept to clinic. *Mol. Pharm.* **6**, 659–68
43. Kolishetti, N. *et al.* Engineering of self-assembled nanoparticle platform for precisely controlled combination drug therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 17939–44 (2010).
44. De Jong, W. H. & Borm, P. J. A. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *Int. J. Nanomedicine* **3**, 133–49 (2008).
45. Sgouras, D. & Duncan, R. Methods for the evaluation of biocompatibility of soluble synthetic polymers which have potential for biomedical use. 1 - Use of the tetrazolium-based colorimetric assay (MTT) as a preliminary screen for evaluation of in vitro cytotoxicity. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1**, 61–68 (1990).
46. Duncan, R., Bhakoo, M., Riley, M. L. & Tuboku-Metzger, A. Soluble polymeric drug carriers: Haematocompatibility. *Prog. Membr. Biotechnol.* 253–265 (1991).
47. Rihova, B. Biocompatibility of biomaterials: haematocompatibility, immunocompatibility, and biocompatibility of solid polymeric materials and soluble targetable polymeric carriers. *Adv. Drug Deliv. Rev* **21**, 157–176 (1996).
48. Simeckova, J., Plocova, D., Rihova, B. & Kopecek, J. Activity of complement in the presence of N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers. *J. Bioact. Compat. Polym.* **1**, 20–31 (1986).
49. Flanagan, P. A., Duncan, R., Rihova, B., Subr, V. & Kopecek, J. Immunogenicity of protein-N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer conjugates measured in A/J and B10 mice. *J. Bioact. Compat. Polym.* **5**, 151–166 (1990).
50. Rihova, B. *et al.* Biocompatibility of N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymers containing adriamycin. Immunogenicity, and effect on haematopoietic stem cells in bone marrow in vivo and mouse splenocytes and human peripheral blood lymphocytes in vitro. *Biomaterials* **10**, 335–42 (1989).

51. Rihova, B. & Riha, I. Immunological problems of polymer-bound drugs. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1**, 311–74 (1985).
52. Gaspar, R. & Duncan, R. Polymeric carriers: preclinical safety and the regulatory implications for design and development of polymer therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **61**, 1220–31 (2009).
53. Amantea, M., Newman, M. S., Sullivan, T. M., Forrest, A. & Working, P. K. Relationship of dose intensity to the induction of palmar-plantar erythrodysesthesia by pegylated liposomal doxorubicin in dogs. *Hum. Exp. Toxicol.* **18**, 17–26 (1999).
54. Duncan, R., Coatsworth, J. K. & Burtles, S. Preclinical toxicology of a novel polymeric antitumour agent: HEMA copolymer-doxorubicin (PK1). *Hum. Exp. Toxicol.* **17**, 93–104 (1998).
55. Carreno-Gomez, B. & Duncan, R. Evaluation of the biological properties of soluble chitosan and chitosan microspheres. *Int. J. Pharm* **148**, 231–240 (1997).
56. Hunter, A. C. Molecular hurdles in polyfectin design and mechanistic background to polycation induced cytotoxicity. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **58**, 1523–31 (2006).
57. Lee, C. C., MacKay, J. A., Fréchet, J. M. J. & Szoka, F. C. Designing dendrimers for biological applications. *Nat. Biotechnol.* **23**, 1517–26 (2005).
58. Khandare, J. *et al.* Structure-biocompatibility relationship of dendritic polyglycerol derivatives. *Biomaterials* **31**, 4268–77 (2010).
59. Duncan, R. & Izzo, L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **57**, 2215–37 (2005).
60. Malik, N. *et al.* Dendrimers: relationship between structure and biocompatibility in vitro, and preliminary studies on the biodistribution of 125I-labelled polyamidoamine dendrimers in vivo. *J. Control. Release* **65**, 133–48 (2000).
61. Maynard, A. D. *et al.* Safe handling of nanotechnology. *Nature* **444**, 267–9 (2006).
62. Cruz, T., Gaspar, R., Donato, A. & Lopes, C. Interaction between polyalkylcyanoacrylate nanoparticles and peritoneal macrophages: MTT metabolism, NBT reduction, and NO production. *Pharm. Res.* **14**, 73–9 (1997).
63. Maximum exposure limits for metals in foodstuffs. at <http://www.fera.defra.gov.uk/scienceResearch/nationalReferenceLaboratory/chemicalSafetyFood/heavyMetals/legislation.cfm>
64. Reuser, A. J. J. & Drost, M. R. Lysosomal dysfunction, cellular pathology and clinical symptoms: basic principles. *Acta Paediatr. Suppl.* **95**, 77–82 (2006).
65. Young, M. A., Malavalli, A., Winslow, N., Vandegriff, K. D. & Winslow, R. M. Toxicity and hemodynamic effects after single dose administration of MalPEG-hemoglobin (MP4) in rhesus monkeys. *Transl. Res.* **149**, 333–42 (2007).
66. Bendele, A., Seely, J., Richey, C., Sennello, G. & Shopp, G. Short communication: renal tubular vacuolation in animals treated with polyethylene-glycol-conjugated proteins. *Toxicol. Sci.* **42**, 152–7 (1998).

67. Webster, R. *et al.* PEGylated proteins: evaluation of their safety in the absence of definitive metabolism studies. *Drug Metab. Dispos.* **35**, 9–16 (2007).
68. Sarkadi, B. & Szakács, G. Understanding transport through pharmacological barriers--are we there yet? *Nat. Rev. Drug Discov.* **9**, 897–8 (2010).
69. Acharya, S. & Sahoo, S. K. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63**, 170–83 (2011).
70. Shive, M. & Anderson, J. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **28**, 5–24 (1997).
71. Puisieux, F., Couvreur, P., Delattre, J. & Devisaguet, J. P. (Eds. . Liposomes, new systems and new trends in their applications. *Éditions de Santé* 266 (1995).
72. Edwards, K. A. & Baeumner, A. J. Liposomes in analyses. *Talanta* **68**, 1421–31 (2006).
73. Vemuri, S. & Rhodes, C. T. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. *Pharm. Acta Helv.* **70**, 95–111 (1995).
74. Batista, C. M., Carvalho, C. M. B. & Magalhães, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. *Rev Bras Cien Farm* **43(2)**, 167–179 (2007).
75. Hussein, G. A. & Pitt, W. G. Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **60**, 1137–52 (2008).
76. Rangel-Yagui, C. O., Pessoa, A. & Tavares, L. C. Micellar solubilization of drugs. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **8**, 147–65 (2005).
77. Rawat, M. K., Jain, A. & Singh, S. Studies on binary lipid matrix based solid lipid nanoparticles of repaglinide: in vitro and in vivo evaluation. *J. Pharm. Sci.* **100**, 2366–78 (2011).
78. Nayak, A. P., Tiyafoonchai, W., Patankar, S., Madhusudhan, B. & Souto, E. B. Curcuminoids-loaded lipid nanoparticles: novel approach towards malaria treatment. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **81**, 263–73 (2010).
79. Zhang, J. & Smith, E. Percutaneous permeation of betamethasone 17-valerate incorporated in lipid nanoparticles. *J. Pharm. Sci.* **100**, 896–903 (2011).
80. Kaur, T. & Slavcev, R. Tuneable Anti-Cancer Gene/Drug Delivery Systems in “Novel Gene Therapy Approaches.” *Med. Genet.* 53–73 (2013).
81. Svenson, S. Dendrimers as versatile platform in drug delivery applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **71**, 445–62 (2009).
82. Patri, A. K., Kukowska-Latallo, J. F. & Baker, J. R. Targeted drug delivery with dendrimers: comparison of the release kinetics of covalently conjugated drug and non-covalent drug inclusion complex. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **57**, 2203–14 (2005).
83. Cho, K., Wang, X., Nie, S., Chen, Z. G. & Shin, D. M. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin. Cancer Res.* **14**, 1310–6 (2008).
84. Jahanshahi, M. & Babaei, Z. Protein nanoparticle: A unique system as drug delivery Vehicles. *Afr J Biotech* **7(25)**, 4926–4934 (2008).

85. Weber, C., Coester, C., Kreuter, J. & Langer, K. Desolvation process and surface characterisation of protein nanoparticles. *Int. J. Pharm.* **194**, 91–102 (2000).
86. Coester, C., Nayyar, P. & Samuel, J. In vitro uptake of gelatin nanoparticles by murine dendritic cells and their intracellular localisation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **62**, 306–14 (2006).
87. No Title. at <91. <http://www.olharnano.com/artigos/4001/20001/Entenda-as-nanopartículas-superparamagnéticas>>
88. Fabian, F. A. Síntese e caracterização de nanopartículas de maguema suspensas em NaOH à 10% e HCl. Monografia (Departamento de Física). (2009).
89. Tan, S. T., Wendorff, J. H., Pietzonka, C., Jia, Z. H. & Wang, G. Q. Biocompatible and biodegradable polymer nanofibers displaying superparamagnetic properties. *Chemphyschem* **6**, 1461–5 (2005).
90. Schweiger, C., Pietzonka, C., Heverhagen, J. & Kissel, T. Novel magnetic iron oxide nanoparticles coated with poly(ethylene imine)-g-poly(ethylene glycol) for potential biomedical application: synthesis, stability, cytotoxicity and MR imaging. *Int. J. Pharm.* **408**, 130–7 (2011).
91. Mahmoudi, M., Sant, S., Wang, B., Laurent, S. & Sen, T. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63**, 24–46
92. Fan, C. *et al.* Tumor selectivity of stealth multi-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Int. J. Pharm.* **404**, 180–90 (2011).
93. Elias, A. & Tsourkas, A. Imaging circulating cells and lymphoid tissues with iron oxide nanoparticles. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 720–6 (2009). doi:10.1182/asheducation-2009.1.720
94. Bulte, J. W. M. & Kraitchman, D. L. Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging. *NMR Biomed.* **17**, 484–99 (2004).
95. Dousset, V., Tourdias, T., Brochet, B., Boiziau, C. & Petry, K. G. How to trace stem cells for MRI evaluation? *J. Neurol. Sci.* **265**, 122–6 (2008).
96. Bulte, J. W. *et al.* Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cells. *Nat. Biotechnol.* **19**, 1141–7 (2001).
97. Chen, Y.-C. *et al.* The inhibitory effect of superparamagnetic iron oxide nanoparticle (Ferucarbotran) on osteogenic differentiation and its signaling mechanism in human mesenchymal stem cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **245**, 272–9 (2010).
98. Kedziorek, D. A. *et al.* Gene expression profiling reveals early cellular responses to intracellular magnetic labeling with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Magn. Reson. Med.* **63**, 1031–43 (2010).
99. Xu, C. *et al.* Nanoparticle-based monitoring of cell therapy. *Nanotechnology* **22**, 494001 (2011).
100. Moreno-Vega, A., Gómez-Quintero, T., Nuñez-Anita, R., Acosta-Torres, L. & Castaño, V. Polymeric and Ceramic Nanoparticles in Biomedical Applications. *J. Nanotechnol.* (2012).
101. Birol, H., Rambo, C., GuioTokuc, M. & Hotzab, D. Preparation of ceramic nanoparticles via cellulose-assisted glycine nitrate process: a review. *RSC Adv.* **3**, 2873–2884 (2013).

102. Giri, S., Trewyn, B. G. & Lin, V. S. Y. Mesoporous silica nanomaterial-based biotechnological and biomedical delivery systems. *Nanomedicine (Lond)*. **2**, 99–111 (2007).
103. Fadeel, B. & Garcia-Bennett, A. E. Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **62**, 362–74 (2010).
104. Tasciotti, E. *et al.* Mesoporous silicon particles as a multistage delivery system for imaging and therapeutic applications. *Nat. Nanotechnol.* **3**, 151–7 (2008).
105. Garcia-Bennett, A. E., Lund, K. & Terasaki, O. Particle-size control and surface structure of the cubic mesocaged material AMS-8. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **45**, 2434–8 (2006).
106. Ambrogio, M. W. *et al.* Snap-top nanocarriers. *Org. Lett.* **12**, 3304–7 (2010).
107. Lin, Y.-S. & Haynes, C. L. Impacts of mesoporous silica nanoparticle size, pore ordering, and pore integrity on hemolytic activity. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 4834–42 (2010).
108. Gong, C. *et al.* SiO₂(2) nanoparticles induce global genomic hypomethylation in HaCaT cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **397**, 397–400 (2010).
109. Kunzmann, A. *et al.* Toxicology of engineered nanomaterials: focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation. *Biochim. Biophys. Acta* **1810**, 361–73 (2011).
110. Horisberger, M. Colloidal gold : a cytochemical marker for light and fluorescent microscopy and for transmission and scanning electron microscopy. *Scan. Electron Microsc.* 9–31 (1981). at <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7034182>>
111. Roth, J. The silver anniversary of gold: 25 years of the colloidal gold marker system for immunocytochemistry and histochemistry. *Histochem. Cell Biol.* **106**, 1–8 (1996).
112. Sander, O., Herborn, G., Bock, E. & Rau, R. Prospective six year follow up of patients withdrawn from a randomised study comparing parenteral gold salt and methotrexate. *Ann. Rheum. Dis.* **58**, 281–7 (1999).
113. Bendix, G. & Bjelle, A. A 10 year follow up of parenteral gold therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **55**, 169–76 (1996).
114. Kvien, T. K. *et al.* Long term efficacy and safety of cyclosporin versus parenteral gold in early rheumatoid arthritis: a three year study of radiographic progression, renal function, and arterial hypertension. *Ann. Rheum. Dis.* **61**, 511–6 (2002).
115. Tong, L. *et al.* Gold Nanorods Mediate Tumor Cell Death by Compromising Membrane Integrity. *Adv. Mater.* **19**, 3136–3141 (2007).
116. Carlson, C. *et al.* Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *J. Phys. Chem. B* **112**, 13608–19 (2008).
117. Ong, P. Y. Emerging drugs for atopic dermatitis. *Expert Opin. Emerg. Drugs* **14**, 165–79 (2009).
118. Bhol, K. C. & Schechter, P. J. Effects of nanocrystalline silver (NPI 32101) in a rat model of ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.* **52**, 2732–42 (2007).

119. Choi, H. S. *et al.* Design considerations for tumour-targeted nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* **5**, 42–7 (2010).
120. Gao, X., Cui, Y., Levenson, R. M., Chung, L. W. K. & Nie, S. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.* **22**, 969–76 (2004).
121. Klostranec, J. M. & Chan, W. C. W. Quantum dots in biological and biomedical research: Recent progress and present challenges. *Adv.Mater.* **18**, 1953–1964 (2006).
122. Quantum dots. at <<http://www.oceannanotech.com/nav.php?qid=5>>
123. Alivisatos, A. P., Gu, W. & Larabell, C. Quantum dots as cellular probes. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **7**, 55–76 (2005).
124. Templeton, D. M. & Liu, Y. Multiple roles of cadmium in cell death and survival. *Chem. Biol. Interact.* **188**, 267–75 (2010).
125. Maysinger, D. Nanoparticles and cells: good companions and doomed partnerships. *Org. Biomol. Chem.* **5**, 2335–42 (2007).
126. Lovrić, J., Cho, S. J., Winnik, F. M. & Maysinger, D. Unmodified cadmium telluride quantum dots induce reactive oxygen species formation leading to multiple organelle damage and cell death. *Chem. Biol.* **12**, 1227–34 (2005).
127. Partha, R. & Conyers, J. L. Biomedical applications of functionalized fullerene-based nanomaterials. *Int. J. Nanomedicine* **4**, 261–75 (2009).
128. Galano, A. Carbon nanotubes: promising agents against free radicals. *Nanoscale* **2**, 373–80 (2010).
129. Chawla, P., Chawla, V., Maheshwari, R., Saraf, S. A. & Saraf, S. K. Fullerenes: from carbon to nanomedicine. *Mini Rev. Med. Chem.* **10**, 662–77 (2010).
130. Yang, Z. *et al.* Pharmacological and toxicological target organelles and safe use of single-walled carbon nanotubes as drug carriers in treating Alzheimer disease. *Nanomedicine* **6**, 427–41 (2010).
131. Oberdörster, E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environ. Health Perspect.* **112**, 1058–62 (2004).
132. Nielsen, G. D., Roursgaard, M., Jensen, K. A., Poulsen, S. S. & Larsen, S. T. In vivo biology and toxicology of fullerenes and their derivatives. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **103**, 197–208 (2008).
133. Johnson-Lyles, D. N. *et al.* Fullerenol cytotoxicity in kidney cells is associated with cytoskeleton disruption, autophagic vacuole accumulation, and mitochondrial dysfunction. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **248**, 249–58 (2010).
134. Sinha, N. & Yeow, J. T. W. Carbon nanotubes for biomedical applications. *IEEE Trans. Nanobioscience* **4**, 180–95 (2005).
135. Aschberger, K. *et al.* Review of carbon nanotubes toxicity and exposure--appraisal of human health risk assessment based on open literature. *Crit. Rev. Toxicol.* **40**, 759–90 (2010).
136. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell* **100**, 57–70 (2000).

137. Hahn, W. C. & Weinberg, R. A. Modelling the molecular circuitry of cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 331–41 (2002).
138. Petricoin, E. F., Zoon, K. C., Kohn, E. C., Barrett, J. C. & Liotta, L. A. Clinical proteomics: translating benchside promise into bedside reality. *Nat. Rev. Drug Discov.* **1**, 683–95 (2002).
139. Liotta, L. & Petricoin, E. Molecular profiling of human cancer. *Nat. Rev. Genet.* **1**, 48–56 (2000).
140. Nie, S., Xing, Y., Kim, G. J. & Simons, J. W. Nanotechnology applications in cancer. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **9**, 257–88 (2007).
141. Menon, U. & Jacobs, I. J. Recent developments in ovarian cancer screening. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* **12**, 39–42 (2000).
142. Aggarwal, S. Targeted cancer therapies. *Nat. Rev. Drug Discov.* **9**, 427–8 (2010).
143. Ferrari, M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat. Rev. Cancer* **5**, 161–71 (2005).
144. Srinivas, P. R., Barker, P. & Srivastava, S. Nanotechnology in early detection of cancer. *Lab. Invest.* **82**, 657–62 (2002).
145. Farrell, D., Ptak, K., Panaro, N. J. & Grodzinski, P. Nanotechnology-based cancer therapeutics--promise and challenge--lessons learned through the NCI Alliance for Nanotechnology in Cancer. *Pharm. Res.* **28**, 273–8 (2011).
146. Woolf, S. H. The meaning of translational research and why it matters. *JAMA* **299**, 211–3 (2008).
147. Scheinberg, D. A., Villa, C. H., Escorcía, F. E. & McDevitt, M. R. Conscripits of the infinite armada: systemic cancer therapy using nanomaterials. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **7**, 266–76 (2010).
148. Phillips, M. A., Gran, M. L. & Peppas, N. A. Targeted Nanodelivery of Drugs and Diagnostics. *Nano Today* **5**, 143–159 (2010).
149. Minelli, C., Lowe, S. B. & Stevens, M. M. Engineering nanocomposite materials for cancer therapy. *Small* **6**, 2336–57 (2010).
150. Stern, S. T. *et al.* Translational considerations for cancer nanomedicine. *J. Control. Release* **146**, 164–74 (2010).
151. Lammers, T. *et al.* Polymeric nanomedicines for image-guided drug delivery and tumor-targeted combination therapy. *Nano Today* **5**, 197–212 (2010).
152. Greco, F. & Vicent, M. J. Combination therapy: opportunities and challenges for polymer-drug conjugates as anticancer nanomedicines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **61**, 1203–13 (2009).
153. Jain, R. K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* **307**, 58–62 (2005).
154. Jain, R. K. Barriers to drug delivery in solid tumors. *Sci. Am.* **271**, 58–65 (1994).

155. Boucher, Y., Baxter, L. T. & Jain, R. K. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy. *Cancer Res.* **50**, 4478–84 (1990).
156. Jain, R. K. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res.* **47**, 3039–51 (1987).
157. Jain, R. K. Determinants of tumor blood flow: a review. *Cancer Res.* **48**, 2641–58 (1988).
158. Gazit, Y., Berk, D., Leunig, M., Baxter, L. & Jain, R. Scale-invariant behavior and vascular network formation in normal and tumor tissue. *Phys. Rev. Lett.* **75**, 2428–2431 (1995).
159. Baxter, L. T. & Jain, R. K. Transport of fluid and macromolecules in tumors. II. Role of heterogeneous perfusion and lymphatics. *Microvasc. Res.* **40**, 246–63 (1990).
160. Baish, J. W. *et al.* Role of tumor vascular architecture in nutrient and drug delivery: an invasion percolation-based network model. *Microvasc. Res.* **51**, 327–46 (1996).
161. Vakoc, B. J. *et al.* Three-dimensional microscopy of the tumor microenvironment in vivo using optical frequency domain imaging. *Nat. Med.* **15**, 1219–23 (2009).
162. Roberts, W. G. & Palade, G. E. Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated. *Cancer Res.* **57**, 765–72 (1997).
163. Jain, R. K. Transport of molecules across tumor vasculature. *Cancer Metastasis Rev.* **6**, 559–93 (1987).
164. Hobbs, S. K. *et al.* Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 4607–12 (1998).
165. Hashizume, H. *et al.* Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness. *Am. J. Pathol.* **156**, 1363–80 (2000).
166. Padera, T. P. *et al.* Pathology: cancer cells compress intratumour vessels. *Nature* **427**, 695 (2004).
167. Roose, T., Netti, P. A., Munn, L. L., Boucher, Y. & Jain, R. K. Solid stress generated by spheroid growth estimated using a linear poroelasticity model small star, filled. *Microvasc. Res.* **66**, 204–12 (2003).
168. Griffon-Etienne, G., Boucher, Y., Brekken, C., Suit, H. D. & Jain, R. K. Taxane-induced apoptosis decompresses blood vessels and lowers interstitial fluid pressure in solid tumors: clinical implications. *Cancer Res.* **59**, 3776–82 (1999).
169. Yuan, F. *et al.* Vascular permeability and microcirculation of gliomas and mammary carcinomas transplanted in rat and mouse cranial windows. *Cancer Res.* **54**, 4564–8 (1994).
170. Kamoun, W. S. *et al.* Simultaneous measurement of RBC velocity, flux, hematocrit and shear rate in vascular networks. *Nat. Methods* **7**, 655–60 (2010).
171. Endrich, B., Reinhold, H. S., Gross, J. F. & Intaglietta, M. Tissue perfusion inhomogeneity during early tumor growth in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* **62**, 387–95 (1979).
172. Leunig, M. *et al.* Angiogenesis, microvascular architecture, microhemodynamics, and interstitial fluid pressure during early growth of human adenocarcinoma LS174T in SCID mice. *Cancer Res.* **52**, 6553–60 (1992).

173. Padera, T. P. *et al.* Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics. *Science* **296**, 1883–6 (2002).
174. Leu, A. J., Berk, D. A., Lymboussaki, A., Alitalo, K. & Jain, R. K. Absence of functional lymphatics within a murine sarcoma: a molecular and functional evaluation. *Cancer Res.* **60**, 4324–7 (2000).
175. Jain, R. K. & Stylianopoulos, T. Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **7**, 653–664 (2011).
176. Jang, S. H., Wientjes, M. G., Lu, D. & Au, J. L. S. Drug delivery and transport to solid tumors. *Pharm. Res.* **20**, 1337–50 (2003).
177. Wang, A. Z., Langer, R. & Farokhzad, O. C. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu. Rev. Med.* **63**, 185–98 (2012).
178. Hume, D. A. The mononuclear phagocyte system. *Curr. Opin. Immunol.* **18**, 49–53 (2006).
179. Peracchia, M. T. *et al.* Pegylated nanoparticles from a novel methoxypolyethylene glycol cyanoacrylate-hexadecyl cyanoacrylate amphiphilic copolymer. *Pharm. Res.* **15**, 550–6 (1998).
180. Champion, J. A., Walker, A. & Mitragotri, S. Role of particle size in phagocytosis of polymeric microspheres. *Pharm. Res.* **25**, 1815–21 (2008).
181. Wang, M. & Thanou, M. Targeting nanoparticles to cancer. *Pharmacol. Res.* **62**, 90–9 (2010).
182. Gratton, S. E. A. *et al.* The effect of particle design on cellular internalization pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 11613–8 (2008).
183. Perrault, S. D., Walkey, C., Jennings, T., Fischer, H. C. & Chan, W. C. W. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design. *Nano Lett.* **9**, 1909–15 (2009).
184. Zauner, W., Farrow, N. A. & Haines, A. M. In vitro uptake of polystyrene microspheres: effect of particle size, cell line and cell density. *J. Control. Release* **71**, 39–51 (2001).
185. Rejman, J., Oberle, V., Zuhorn, I. S. & Hoekstra, D. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. *Biochem. J.* **377**, 159–69 (2004).
186. Vonarbourg, A., Passirani, C., Saulnier, P. & Benoit, J.-P. Parameters influencing the stealthiness of colloidal drug delivery systems. *Biomaterials* **27**, 4356–73 (2006).
187. Decuzzi, P. *et al.* Size and shape effects in the biodistribution of intravascularly injected particles. *J. Control. Release* **141**, 320–7 (2010).
188. Folkman, J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat. Rev. Drug Discov.* **6**, 273–86 (2007).
189. Matsumura, Y. & Maeda, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* **46**, 6387–92 (1986).
190. Jain, R. K. Delivery of molecular medicine to solid tumors: lessons from in vivo imaging of gene expression and function. *J. Control. Release* **74**, 7–25 (2001).

191. Duncan, R. The dawning era of polymer therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2**, 347–60 (2003).
192. Jain, R. K. Understanding barriers to drug delivery: high resolution in vivo imaging is key. *Clin. Cancer Res.* **5**, 1605–6 (1999).
193. Moghimi, S. M. & Hunter, A. C. Poloxamers and poloxamines in nanoparticle engineering and experimental medicine. *Trends Biotechnol.* **18**, 412–20 (2000).
194. Park, E. K., Lee, S. B. & Lee, Y. M. Preparation and characterization of methoxy poly(ethylene glycol)/poly(epsilon-caprolactone) amphiphilic block copolymeric nanospheres for tumor-specific folate-mediated targeting of anticancer drugs. *Biomaterials* **26**, 1053–61 (2005).
195. Chari, R. Targeted delivery of chemotherapeutics: tumor-activated prodrug therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **31**, 89–104 (1998).
196. Mansour, A. M. *et al.* A new approach for the treatment of malignant melanoma: enhanced antitumor efficacy of an albumin-binding doxorubicin prodrug that is cleaved by matrix metalloproteinase 2. *Cancer Res.* **63**, 4062–6 (2003).
197. Guo, X. & Szoka, F. C. Chemical approaches to triggerable lipid vesicles for drug and gene delivery. *Acc. Chem. Res.* **36**, 335–41 (2003).
198. Liu, Y. Review on nano-drugs. *Nat. Sci.* **02**, 41–48 (2010).
199. Allen, T. M. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 750–63 (2002).
200. Kannagi, R., Izawa, M., Koike, T., Miyazaki, K. & Kimura, N. Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis. *Cancer Sci.* **95**, 377–84 (2004).
201. Yamazaki, N. *et al.* Endogenous lectins as targets for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **43**, 225–44 (2000).
202. Bennis, S., Chapey, C., Couvreur, P. & Robert, J. Enhanced cytotoxicity of doxorubicin encapsulated in polyisohexylcyanoacrylate nanospheres against multidrug-resistant tumour cells in culture. *Eur. J. Cancer* **30A**, 89–93 (1994).
203. Larsen, A. K., Escargueil, A. E. & Skladanowski, A. Resistance mechanisms associated with altered intracellular distribution of anticancer agents. *Pharmacol. Ther.* **85**, 217–29 (2000).
204. Brown, R. & Links, M. Clinical relevance of the molecular mechanisms of resistance to anti-cancer drugs. *Expert Rev. Mol. Med.* **1**, 1–21 (2004).
205. Vauthier, C., Dubernet, C., Chauvierre, C., Brigger, I. & Couvreur, P. Drug delivery to resistant tumors: the potential of poly(alkyl cyanoacrylate) nanoparticles. *J. Control. Release* **93**, 151–60 (2003).
206. Tsuruo, T. Molecular cancer therapeutics: recent progress and targets in drug resistance. *Intern. Med.* **42**, 237–43 (2003).
207. Krishna, R. & Mayer, L. D. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.* **11**, 265–83 (2000).

208. De Verdière, A. C. *et al.* Reversion of multidrug resistance with polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: towards a mechanism of action. *Br. J. Cancer* **76**, 198–205 (1997).
209. Blagosklonny, M. V. Targeting cancer cells by exploiting their resistance. *Trends Mol. Med.* **9**, 307–12 (2003).
210. Kluza, E. *et al.* Synergistic targeting of alphavbeta3 integrin and galectin-1 with heteromultivalent paramagnetic liposomes for combined MR imaging and treatment of angiogenesis. *Nano Lett.* **10**, 52–8 (2010).
211. Li, X. *et al.* Enhancement of cell recognition in vitro by dual-ligand cancer targeting gold nanoparticles. *Biomaterials* **32**, 2540–5 (2011).
212. Patil, Y. B., Toti, U. S., Khadair, A., Ma, L. & Panyam, J. Single-step surface functionalization of polymeric nanoparticles for targeted drug delivery. *Biomaterials* **30**, 859–66 (2009).
213. Ashley, C. E. *et al.* The targeted delivery of multicomponent cargos to cancer cells by nanoporous particle-supported lipid bilayers. *Nat. Mater.* **10**, 389–97 (2011).
214. Sugahara, K. N. *et al.* Tissue-penetrating delivery of compounds and nanoparticles into tumors. *Cancer Cell* **16**, 510–20 (2009).
215. Sugahara, K. N. *et al.* Coadministration of a tumor-penetrating peptide enhances the efficacy of cancer drugs. *Science* **328**, 1031–5 (2010).
216. Wang, J., Tian, S., Petros, R. A., Napier, M. E. & Desimone, J. M. The complex role of multivalency in nanoparticles targeting the transferrin receptor for cancer therapies. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 11306–13 (2010).
217. Kwon, G. S. Polymeric micelles for delivery of poorly water-soluble compounds. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **20**, 357–403 (2003).
218. Park, J. W. Liposome-based drug delivery in breast cancer treatment. *Breast Cancer Res.* **4**, 95–9 (2002).
219. EMA. Relatório Público Europeu de Avaliação: Myocet. (2012). at <http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000297/WC500031806.pdf>
220. Batist, G. *et al.* Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* **19**, 1444–54 (2001).
221. EMA. Relatório Público Europeu de Avaliação: Myocet - Scientific discussion. 1–21 (2005). at <http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000297/human_med_000916.jsp&mid=WC0b01ac058001d124>
222. Gabizon, A., Shmeeda, H. & Barenholz, Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies. *Clin. Pharmacokinet.* **42**, 419–36 (2003).
223. Barenholz, Y. Doxil®--the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J. Control. Release* **160**, 117–34 (2012).

224. Nishiyama, N. & Kataoka, K. Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol. Ther.* **112**, 630–48 (2006).
225. Vail, D. M. *et al.* Pegylated liposomal doxorubicin: Proof of principle using preclinical animal models and pharmacokinetic studies. *Semin. Oncol.* **31**, 16–35 (2004).
226. Northfelt, D. W. *et al.* Doxorubicin encapsulated in liposomes containing surface-bound polyethylene glycol: pharmacokinetics, tumor localization, and safety in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J. Clin. Pharmacol.* **36**, 55–63 (1996).
227. Symon, Z. *et al.* Selective delivery of doxorubicin to patients with breast carcinoma metastases by stealth liposomes. *Cancer* **86**, 72–8 (1999).
228. Tejada-Berges, T., Granai, C. O., Gordinier, M. & Gajewski, W. Caelyx/Doxil for the treatment of metastatic ovarian and breast cancer. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2**, 143–50 (2002).
229. Rivera, E. *et al.* Phase I study of stealth liposomal doxorubicin in combination with gemcitabine in the treatment of patients with metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* **19**, 1716–22 (2001).
230. Sparano, J. A. *et al.* Phase I trial of pegylated liposomal doxorubicin and docetaxel in advanced breast cancer. *J. Clin. Oncol.* **19**, 3117–25 (2001).
231. Berry, G. *et al.* The use of cardiac biopsy to demonstrate reduced cardiotoxicity in AIDS Kaposi's sarcoma patients treated with pegylated liposomal doxorubicin. *Ann. Oncol.* **9**, 711–6 (1998).
232. Yardley, D. A. nab-Paclitaxel mechanisms of action and delivery. *J. Control. Release* **170**, 365–72 (2013).
233. Donati, A. & Castro, L. G. M. Cutaneous adverse reactions to chemotherapy with taxanes: The dermatologist's point of view. *An. Bras. Dermatol.* **86**, 755–758
234. EMA. Relatório Público Europeu de Avaliação: Abraxane - Scientific discussion. 1–45 (2008). at http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000778/human_med_000620.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
235. Abraxane - Oncologic Drugs Advisory Committee Meeting. 1–56 (2006). at <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/06/briefing/2006-4235b2-01-01abraxisbioscience-background.pdf>
236. Abraxis Reports Phase III Success with Abraxane in First-Line NSCLC. (2010). at <http://www.genengnews.com/gen-news-highlights/abraxaxis-reports-phase-iii-success-with-abraxane-in-first-line-nsclc/81243495/>
237. Approved Drugs - Paclitaxel. (2013). at <http://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm367613.htm>
238. Kothari, N., Saif, M. W. & Kim, R. First-Line Treatment for Advanced Pancreatic Cancer. *JOP. J. Pancreas* **14**, 129–132 (2013).
239. Daniel, D. *et al.* Randomized phase III study of weekly nab-paclitaxel plus gemcitabine versus gemcitabine alone in patients with metastatic adenocarcinoma of the pancreas (MPACT). | 2013 Gastrointestinal Cancers Symposium | Abstracts | Meeting Library. *J. Clin. Oncol.* **30**, (2012).

240. Conroy, T. *et al.* FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* **364**, 1817–25 (2011).
241. May, J. P. & Li, S.-D. Hyperthermia-induced drug targeting. *Expert Opin. Drug Deliv.* **10**, 511–27 (2013).
242. Celsion Receives Positive FDA Guidance for its New Drug Application for ThermoDox® to Treat Primary Liver Cancer. (2013). at <<http://www.prnewswire.com/news-releases/celsion-receives-positive-fda-guidance-for-its-new-drug-application-for-thermodox-to-treat-primary-liver-cancer-104265488.html>>
243. Thermodox. at <http://celsion.com/docs/technology_thermodox>
244. De Jonge, M. J. A. *et al.* Early cessation of the clinical development of LiPlaCis, a liposomal cisplatin formulation. *Eur. J. Cancer* **46**, 3016–21 (2010).
245. LiverLearning® - Official eLearning Portal of AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) - A randomized phase II trial of Doxorubicin-Transdrug™ (Livatag®) demonstrates significant overall survival increase in inoperable hepatocellular c. at <<http://liverlearning.aasld.org/aasld/2011/thelivermeeting/16259/careercenter.aasld.org/>>
246. BioAlliance Pharma Submits a Phase III Clinical Trial Application for Livatag® (doxorubicin Transdrug™) to the Frenc Read more: BioAlliance Pharma Submits a Phase III Clinical Trial Application for Livatag® (doxorubicin Transdrug™) to the Frenc. at <<http://www.fiercebiotech.com/press-releases/bioalliance-pharma-submits-phase-iii-clinical-trial-application-livatag-dox>>
247. Bross, P. F. *et al.* Approval Summary: Gemtuzumab Ozogamicin in Relapsed Acute Myeloid Leukemia. *Clin. Cancer Res.* **7**, 1490–1496 (2001).
248. FDA. Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin): Market Withdrawal. (2010). at <<http://www.fda.gov/safety/medwatch/safetyinformation/safetyalertsforhumanmedicalproducts/ucm216458.htm>>
249. Gopal, A. K. *et al.* Safety and efficacy of brentuximab vedotin for Hodgkin lymphoma recurring after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* **120**, 560–8 (2012).
250. Sasse, S. *et al.* Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with transplant-naïve relapsed/refractory Hodgkin lymphoma. *Leuk. Lymphoma* **54**, 2144–8 (2013).
251. Francisco, J. A. *et al.* cAC10-vcMMAE, an anti-CD30-monomethyl auristatin E conjugate with potent and selective antitumor activity. *Blood* **102**, 1458–65 (2003).
252. Sutherland, M. S. K. *et al.* Lysosomal trafficking and cysteine protease metabolism confer target-specific cytotoxicity by peptide-linked anti-CD30-auristatin conjugates. *J. Biol. Chem.* **281**, 10540–7 (2006).
253. EMA. Relatório Público de Avaliação: Adcetris. (2012). at <http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002455/WC500135004.pdf>
254. Barginear, M. F., John, V. & Budman, D. R. Trastuzumab-DM1: a clinical update of the novel antibody-drug conjugate for HER2-overexpressing breast cancer. *Mol. Med.* **18**, 1473–9 (2012).

255. Wang, L., Amphlett, G., Blättler, W. A., Lambert, J. M. & Zhang, W. Structural characterization of the maytansinoid-monoclonal antibody immunoconjugate, huN901-DM1, by mass spectrometry. *Protein Sci.* **14**, 2436–46 (2005).
256. Yu, T.-W. *et al.* The biosynthetic gene cluster of the maytansinoid antitumor agent ansamitocin from *Actinosynnema pretiosum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 7968–73 (2002).
257. Beeram, M. & *et al.* A phase I study of trastuzumab-DM1 (T-DM1), a first-in-class HER2 antibody-drug conjugate (ADC), in patients (pts) with advanced HER2+ breast cancer (BC). *J. Clin. Oncol.* **26**, (2008).
258. Blackwell, K. L. & *et al.* Primary results from EMILIA, a phase III study of trastuzumab emtansine (T-DM1) versus capecitabine and lapatinib in HER2-positive locally advanced or metastatic breast cancer. *ASCO* (2012). at <http://www.newevidence.com/oncology/entries/Primary_results_from_EMILIA_a_phase_III_study/>
259. Silva, A. C. *et al.* Application of hyperthermia induced by superparamagnetic iron oxide nanoparticles in glioma treatment. *Int. J. Nanomedicine* **6**, 591–603 (2011).
260. Jordan, A. *et al.* The effect of thermotherapy using magnetic nanoparticles on rat malignant glioma. *J. Neurooncol.* **78**, 7–14 (2006).
261. Van Landeghem, F. K. H. *et al.* Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles. *Biomaterials* **30**, 52–7 (2009).
262. puntès, víctor & saldaña, josep. *Nanotechnology: balancing the promises*. (2011). at <<http://www.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=oYWGgLNjsUC&pgis=1>>
263. Maier-Hauff, K. *et al.* Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* **103**, 317–24 (2011).
264. Boisseau, P. & Loubaton, B. Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Phys.* **12**, 620–636 (2011).
265. ABDI. Nanotecnologias: subsídios para a problemática dos riscos e regulação. 13–30 (2011).
266. Oberdörster, G., Oberdörster, E. & Oberdörster, J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.* **113**, 823–39 (2005).
267. NanoSafe. at <<http://www.nanosafe.org/scripts/home/publigen/content/templates/show.asp?P=55&L=EN&ITEMID=2>>
268. ICH. (2009). at < <http://www.ich.org/home.html>>
269. Gaspar, R. *Therapeutic products: regulating drugs and medical devices*. *Int. Handb. Regul. Nanotechnologies* 291–320 (Edward Elgar Publishing, 2010).
270. Eaton, M. Nanomedicine: industry-wise research. *Nat. Mater.* **6**, 251–3 (2007).
271. Nijhara, R. & Balakrishnan, K. Bringing nanomedicines to market: regulatory challenges, opportunities, and uncertainties. *Nanomedicine* **2**, 127–36 (2006).

272. Gaspar, R. Regulatory issues surrounding nanomedicines: setting the scene for the next generation of nanopharmaceuticals. *Nanomedicine (Lond)*. **2**, 143–7 (2007).
273. Bottom-up and Top-down methods. at <<http://crystalballforecasting.com/the-bottom-up-top-down-budget/>>
274. Material Encapsulante. at <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAY0YAI/nanotecnologia-nanobiotecnologia?part=2>>
275. Lipossoma e Micela. at <pt.wikipedia.org >
276. Dendrímero. at <<http://bme240.eng.uci.edu/students/06s/katherjl/>>
277. Fulureno. at <<http://www.ced.ufsc.br/emt/trabalhos/paginanano/1985.htm> >
278. Nanotubos carbono. at <<http://ramonflores.br.tripod.com/ler-portugues/mozilla/nanotubos.html>>

GLOSSÁRIO

Anaplasia: Perda de diferenciação estrutural observada principalmente na maioria das neoplasias malignas.

Anfifílico: Anfipático; moléculas, como detergentes ou humectantes, que contém grupos com propriedades caracteristicamente distintas, p.ex., propriedades hidrofílicas assim como hidrofóbicas.

Aptâmero: Pequeno fragmento de DNA ou RNA, de estrutura tridimensional precisa, com capacidade para se ligar selectivamente a moléculas-alvo.

Biodisponibilidade: Disponibilidade fisiológica de uma determinada quantidade de um medicamento, de acordo com a sua potência química; proporção da dose administrada que é absorvida para a corrente sanguínea.

Biomarcador: Marcador biológico; em geral uma substância utilizada como um indicador de um estado biológico. É uma característica que é objectivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogénicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica.

Células HaCaT: Uma célula HaCaT é um tipo de célula que pertence a uma linha imortal de queratinócitos humanos utilizados na investigação laboratorial. Dada a sua alta capacidade de diferenciação e proliferação *in vitro*, a sua utilização na investigação permite a caracterização de queratinócitos humanos, ciclos de vida e variações entre linhagens, através de um modelo reprodutível.

Células HUVEC: (*Human umbilical vein endothelial cells*), células derivadas do endotélio vascular do cordão umbilical. São utilizadas como modelo de laboratório para o estudo da função e patologia das células endoteliais.

Células KB: linhagem de células tumorais utilizada como modelo de laboratório.

Células Parenquimatosas: Células pertencente ao tecido (parênquima) com função principal de determinado órgão.

Células-Tronco: Células estaminais; qualquer célula precursora; células cujas células-filhas podem diferenciar-se em outros tipos celulares.

Depuração: Clearance; Remoção de determinada substância/fármaco do sangue, p.ex., por excreção renal, expressa em termos do fluxo de volume de sangue arterial ou plasma que conteria a quantidade de substância/fármaco removida por unidade de tempo; medida em ml/min.

Dose Máxima Tolerada: Dose que produz toxicidade de grau 3 (grave) ou grau 4 (com risco de vida) em 30% ou menos dos doentes testados.

Efectividade: Medida de acurácia ou sucesso de uma técnica de diagnóstico ou terapêutica quando realizada num ambiente clínico médio; o quanto um tratamento atinge os seus objectivos pretendidos.

Efeito ‘burst’: Libertação total, descontrolada, de um fármaco encapsulado num sistema de veiculação.

Eficácia: O quanto uma intervenção, procedimento, esquema ou serviço específico produz um resultado benéfico em condições ideais.

Eritrodisestesia Palmo-Plantar: síndrome do pé e mão, caracterizado por uma inflamação, com dor, ulceração e descamação, dos pés e mãos, normalmente decorrente da administração de quimioterapia.

Estroma: Tecido conectivo, não funcional constituído de tecido conjuntivo, de sustentação de uma célula, tecido ou órgão.

Etiologia: Ciência e estudo das causas das doenças e o seu modo de acção; patogénese.

Farmacocinética: Movimentos dos fármacos nos sistemas biológicos, afectados pela captação, ligação, eliminação e biotransformação, particularmente pelas velocidades desses movimentos.

Hidrofílico: Polar; que se refere à propriedade de atrair moléculas de água ou de associar-se a elas; tendência a dissolver-se na água.

Hidrofóbico: Não-polar; que carece de afinidade por moléculas de água; que tende a não se dissolver na água.

Homeostase: Estado de equilíbrio no corpo no que concerne a diversas funções e à composição química dos líquidos e tecidos.

Imunogenecidade: antigenicidade, estado ou propriedade de ser antigénico.

In vitro: em ambiente artificial, referindo-se a um processo ou reacção que ocorre nesse ambiente, como p.ex. num tubo de ensaio ou meio de cultura.

In vivo: no organismo vivo, referindo-se a um processo ou reacção que ocorre em seres vivos.

Lipofílico: que se refere à propriedade de ser capaz de se dissolver em ou absorver lípidos.

Nanomedicamento: nanossistema com determinada substância, ou associações de substâncias, que visa curar ou prevenir doenças em seres humanos, proporcionar alívio dos seus sintomas, exercendo uma acção farmacológica, imunológica ou metabólica.

Nanoproduto: tecnologia, de escala nanométrica, desenvolvida para aplicação clínica. Inclui nanomedicamentos, agentes de imagens e/ou dispositivos médicos.

Neoplasma: Tumor; tecido anormal que cresce por proliferação celular mais rapidamente do que o normal e continua crescendo mesmo após a interrupção dos estímulos que iniciaram o neocrescimento. Caracterizam-se por falta parcial ou total de organização estrutural e coordenação funcional com o tecido normal e, em geral, formam uma massa distinta de tecido, que pode ser benigna ou maligna.

Neutropenia: Presença de um número anormalmente pequeno de neutrófilos no sangue circulante.

Opsonização: Processo pelo qual as bactérias e outras células são alteradas de tal modo que sejam fagocitadas com maior rapidez e eficiência pelos fagócitos.

Pericito: Tipo de célula, delgada, semelhante às células mesenquimais, encontradas em íntima associação com a parede externa das vénulas pós-capilares; é relativamente indiferenciado e pode tornar-se um fibroblasto, macrófago ou célula muscular lisa.

Radioterapia Estereotáxica: A Radioterapia Estereotáxica é uma técnica de radioterapia em que é administrada uma fracção de alta dose de radiação a um volume tumoral muito bem definido radiograficamente e com uma localização muito precisa.

Produtos ‘follow-on’: produtos que surgem no seguimento de outros previamente testados e aprovados. Visam aproveitar a tecnologia existente e continuar o seu desenvolvimento.

Resposta Epigénica: Resposta que se traduz no controle da expressão da actividade dos genes, sem alteração da estrutura genética.

Surfactante: Agente tensioactivo, incluindo substâncias comumente designadas como agentes humectantes, depressores da tensão superficial, detergentes, agentes dispersantes, emulsificantes, etc.

Tempo de Meia-Vida: Parâmetro farmacocinético; tempo necessário para que metade de determinada substância/fármaco seja completamente removida do organismo, por processos químicos e/ou físicos.

Teranóstico: teste diagnóstico que permite aos clínicos tomar a decisão terapêutica mais bem adaptada a cada doente, favorecendo uma medicina mais personalizada. O teranóstico clássico refere-se a uma plataforma de tratamento no qual a terapia é guiada por um teste de diagnóstico específico, o qual irá estratificar o doente por elegibilidade para um tratamento.

Tolerância: Capacidade de resistir ou de responder menos a um determinado estímulo, especialmente durante um período de exposição contínua; Capacidade de resistir à acção de um veneno ou à administração de um fármaco continuamente ou em grandes doses, sem efeitos prejudiciais.