

NANOTECNOLOGIA APLICADA AO TRATAMENTO DA ACNE



Ana Patrícia Almeida Gomes

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa, Novembro de 2013

Dissertação apresentada para a obtenção de Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas no curso de Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

NANOTECNOLOGIA APLICADA AO TRATAMENTO DA ACNE



Ana Patrícia Almeida Gomes

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa, Novembro de 2013

Dissertação apresentada para a obtenção de Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas no curso de Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

ANA PATRÍCIA ALMEIDA GOMES

**NANOTECNOLOGIA APLICADA AO TRATAMENTO DA
ACNE**

Orientador: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2013

ANA PATRÍCIA ALMEIDA GOMES

NANOTECNOLOGIA APLICADA AO TRATAMENTO DA ACNE

Dissertação apresentada para a obtenção de
Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas no
curso de Mestrado Integrado de Ciências
Farmacêuticas conferido pela Universidade
Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador: Professora Doutora Catarina Pinto
Reis

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2013

*«Triste de quem vive em casa,
Contente com o seu lar,
Sem que um sonho, no erguer de asa,
Faça até mais rubra a brasa
Da lareira a abandonar!*

*Triste de quem é feliz!
Vive porque a vida dura.
Nada na alma lhe diz
Mais que a lição da raiz
Ter por vida sepultura.*

*Eras sobre eras se somem
No tempo que em eras vem.
Ser descontente é ser homem.
Que as forças cegas se domem
Pela visão que a alma tem!»*

Quinto império, A Mensagem, Fernando Pessoa

Agradecimentos

Esta dissertação foi desenvolvida tendo por base um projecto de investigação na área da Nanotecnologia aplicada ao tratamento da Acne.

Agradeço à minha orientadora, a Professora Doutora Catarina Pinto Reis, por quem eu tenho uma eterna gratidão por me ter dado a oportunidade de entrar no mundo da ciência, o que me permitiu desenvolver um enorme interesse pela área. Agradeço toda a partilha de conhecimento, motivação e ajuda incondicional.

Às professoras, Professora Doutora Patrícia Rijo e Professora Doutora Sara Candeias por todo o apoio prestado no desenvolvimento deste projecto de investigação. A todos os outros professores que ao longo do meu percurso académico contribuíram com toda a disponibilidade.

Aos meus colegas e amigos de laboratório por toda a boa disposição e ajuda prestada.

Aos meus amigos, principalmente a Rita Jerónimo e a Ana Paulos, por terem partilhado comigo todas as experiências ao longo destes cinco anos, por toda a amizade, apoio e motivação.

À minha família, avós paternos, tios e prima por estarem sempre presentes e sempre disponíveis. Ao meu irmão, por toda a ajuda que me deu ao longo destes cinco anos e por todas as brincadeiras. À minha avó, por toda a ajuda, motivação, carinho e dedicação. Ao Hugo, por todas as vezes que amenizou as minhas frustrações e pelo apoio e amor incondicional.

Acima de tudo, eternamente agradecida aos meus pais, por terem investido na minha formação, por todo o amor e carinho e pelo apoio. Obrigada por acreditarem em mim.

A todos os que directa ou indirectamente ajudaram ao longo deste meu percurso académico.

Obrigada.

Publicações

O desenvolvimento deste projecto na área da nanotecnologia aplicada ao tratamento da acne deu origem à publicação:

- 3 artigos:
 - Reis C, Gomes A, Rijo P, Candeias S, Pinto P, Baptista M, Martinho M, Ascensão L. Development and evaluation of a novel topical treatment for acne with azelaic acid loaded-nanoparticles. *Microscopy and Microanalysis*, 2013; (19) 5: 1141-1150; Factor de Impacto: 3,007 (2011);
 - Gomes A, Ascensão L, Rijo P, Baptista M, Candeias S, Martinho N, Fernandes A, Roberto A and Reis A. Evaluation of a New Topical Treatment for Acne with Azelaic Acid-Loaded Nanoparticles. *Microscopy and Microanalysis*, 2013;19 (S4):59-60
 - Reis C, Pinto P, Gomes A, Candeias S. Nanotechnology applied to drug delivery – formulation, development and characterization studies. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 2012; (9) 1:103-109.
- 5 posters:
 - Gomes A, Ascensão L e Reis C. “Surface analysis of nanoparticulate systems of PLGA with Azelaic Acid for acne’s treatment”. II Simpósio Nacional de Nanociência e Nanotecnologia Biomédica a 11/11/2013 na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias;
 - Gomes A, Ascensão L, Candeias S, Pinto P, e Reis C. “Forecast the behavior of a new topical treatment for acne using nanotechnology”. IV Congresso Nacional de Ciências Dermatocósméticas, III Congresso da SPCC a 15/03/2013 na Universidade Lusófona;
 - Gomes A, Ascensão L, Rijo P, Baptista M, Candeias S, Fernandes A, Roberto A e Reis C. “Design of an innovative treatment for acne vulgaris using nanotechnology”. Simpósio Luso-Brasileiro & Congresso Nacional dos Farmacêuticos, de 01/11/2012 a 04/11/2012;
 - Gomes A, Ascensão L, Rijo P, Baptista M, Candeias S, Fernandes A, Roberto A e Reis C. “Evaluation of a New Topical Treatment for Acne with Azelaic Acid-Loaded Nanoparticles” no XLVI annual Congress of the Portuguese Society for Microscopy: “Microscopy: A tool for the Advancement of Science”, de 24/09/2012 a 25/09/2012;

- Gomes A, Candeias S, Rijo P, Pinto P, Martinho N, Fernandes A, Roberto A e Reis C. “Design of PLGA nanoparticles containing Azelaic Acid for Acne Treatment” no Colloids and Nanomaterials 2012, de 15/07/2012 a 17/07/2012 em Amesterdão pela Elsevier.
- 2 comunicações orais:
 - “Novel tea forms: natural extract encapsulated into polymeric beads for Alzheimer’s disease treatment” no Joint IMEKO international TC8, TC23 and TC24 Symposium 2013 no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, a 23/09/2013;
 - “New Treatment Strategies with Plant Extract Teas for Alzheimer’s Disease” no Concurso da Angelini 2011/2012 (Classificados entre o top 25): C. Reis, A. Gomes, R. Jerónimo, P. Rijo.

Resumo

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que consiste na optimização das propriedades da matéria permitindo o desenvolvimento de sistemas com um tamanho na escala dos nanómetros.

A aplicação da nanotecnologia na medicina e cosmética surge como um campo de pesquisa que está a gerar um crescente interesse. A nanotecnologia aplicada ao tratamento de doenças comuns da pele tem sofrido alguns avanços, principalmente na área do tratamento tópico da acne, que tem beneficiado com o progresso desta tecnologia.

A acne surge face a múltiplos factores patogénicos, afectando entre 75% a 95% dos adolescentes provocando-lhes transtornos físicos e psíquicos. No entanto, apesar de ser uma patologia característica da adolescência, a acne é prevalente também numa pequena população de mulheres com idade superior a 40 anos.

Nesta dissertação foi feita uma abordagem da patogénese da acne, que foi útil na compressão dos objectivos do tratamento tópico, sistémico e físico instituído ao doente. Foram ainda explorados os conceitos básicos de nanotecnologia, que se enquadraram numa compreensão de como esta pode contribuir para a medicina e cosmética aplicada ao tratamento da acne. Foram também investigadas as diferentes publicações na área e avaliada a sua aplicação ao tratamento tópico da acne.

Palavras chave: Acne; Patogénese da acne; Tratamento da acne; Nanotecnologia.

Abstract

Nanotechnology is a multidisciplinary science that optimizes the properties of the matter and involves the development of systems in a scale of nanometers.

The application of nanotechnology in medicine and cosmetics emerges as a field of research that is generating an increasing interest. Nanotechnology, applied to the treatment of common skin diseases has made progress, mainly in the topical treatment of acne that has benefited from the advancement of this technology.

Acne results from multiple pathogenic factors and affects 75 % to 95 % of adolescents and causes them physical and psychological disorders. However, despite being a characteristic disease of adolescence, acne is also prevalent in a small population of women aged over 40 years.

In this dissertation, an approach to the pathogenesis of acne was made, which was helpful in the compression of the objectives of topical, systemic and physical treatment of acne. The basics of nanotechnology were further explored to understand its contribution to medicine and cosmetics applied to the treatment of acne. Different research papers in the area were analyzed and their application to topical treatment of acne was evaluated.

Keywords: Acne; Pathogenesis of acne; Acne treatment; Nanotechnology.

Abreviaturas, siglas e símbolos

α -MSH: Hormona estimulante do melanócito;
Ac: Anticorpo;
AMPs: Peptídeos antimicrobianos;
AuNP: Nanopartículas de ouro;
AzA: Ácido azelaico;
BPO: Peróxido de benzoílo;
CD: *Cluster* de diferenciação;;
CD4: Linfócitos T auxiliares;
CMI: Concentração mínima inibitória;
CNT: Nanotubos de carbono;
CO₂: Dióxido de carbono;
CYP 450: Citocromo P 450;
DEET: N,N-dietil-metatoluamida;
DHEAS: Dihidroepiandrosterona;
DHT: Dehidrotestosterona;
DNA: Ácido desoxirribonucleico;
EMA: Agência europeia do medicamento
FDA: Food drug administration;
GRAS: Generally recognized as safe;
HBD: Defensina humana β ;
hLH: Hormona luteinizante;
ICAM-1: Molécula de adesão intercelular;
IGF-1: Factor de crescimento da insulina;
IL: Interleucina;
INF- γ : Interferon- γ ;
LPS: Lipopolissacarídeos;

LXR: Receptores X do fígado;
MCR1: Receptor da melanocortina;
MMP: Metaloproteases;
NF-K β : Factor nuclear;
NLC: Veículos lipídicos nanoestruturados;
NPs: Nanopartículas;
P. acnes: Propionibacterium acnes;
PLA: Ácido poli-láctico;
PLGA: Ácido poli-láctico-glicólico;
PPAR: Receptores activados por proliferadores de peroxissomas;
QD: Pontos quânticos ou Quantum dots;
RAR: Ácido retinóico;
RXR: Receptores X dos retinóides;
SC: Estrato córneo;
SHBG: Globulina fixadora das hormonas sexuais;
SLN: Nanopartículas sólidas lipídicas;
SOD: Superóxido dismutase;
TGF- β : Factor β de transformação do crescimento;
TLR: Receptor toll-like;
TNF- α : Factor de necrose tumoral;
UE: União Europeia;
UV: Ultra-violeta;
VCAM-1: Molécula de adesão vascular.

Índice

Agradecimentos	ii
Publicações	iii
Resumo	v
Abstract	vi
Abreviaturas, siglas e símbolos.....	vii
Índice de figuras	1
Índice de tabelas.....	1
Introdução	2
Capítulo 1. Pele	4
1.1. Fisiologia geral da pele	4
1.2. Folículos pilossebáceos	5
1.3. Doenças de pele.....	6
Capítulo 2. Acne	7
2.1. Definição	7
2.2. Patogénese da Acne	8
2.3. Manifestações Clínicas	14
2.4. Diagnóstico das formas de Acne.....	15
Capítulo 3. Tratamento para a Acne	18
3.1. Tratamento tópico.....	18
3.2. Tratamento sistémico.....	22
3.3. Tratamento físico	24
3.4. Coadjuvantes no tratamento.....	25
3.5. Terapêutica combinada	25
Capítulo 4. Nanotecnologia aplicada ao tratamento de doenças de pele	26
4.1. Nanotecnologia	26
4.1.1. História	26
4.1.2. Tipos de NPs.....	27
4.1.3. Métodos de preparação de NPs	31
4.1.4. Riscos da nanotecnologia	33
4.1.5. Regulamentação.....	34
4.2. A nanotecnologia e a medicina	35
4.3. A nanotecnologia e a cosmética	35

4.3. Nanotecnologia aplicada ao tratamento tópico.....	37
Capítulo 5. A nanotecnologia aplicada ao tratamento da acne.....	39
5.1. Objectivo	41
5.2. Métodos.....	41
5.3. Resultados	42
Discussão e conclusão	46
Referências bibliográficas	48
Glossário	57
Apêndices	59
Notas do Júri	61

Índice de figuras

Figura 1. Sistema Tegumentar.....	4
Figura 2. As cinco palavras associadas às doenças de pele e dermatologia e que influenciam a qualidade de vida dos doentes.....	6
Figura 4. Ilustração do desenvolvimento do microcomedão por proliferação da <i>P. acnes</i> e acumulação de sebo produzido pelas glândulas sebáceas.....	14
Figura 5. Imagem microscópica do <i>Pityrosporum ovale</i> (= <i>Malassezia furfur</i>).....	21
Figura 6. Comparação do tamanho entre os diferentes tipos de estruturas.....	27
Figura 7. Representação esquemática da classificação das nanocápsulas e nanoesferas com substâncias medicamentosas/cosmetologicamente activas encapsuladas	29
Figura 8. Aspecto macroscópico e microscópico das NPs de PLGA com AzA. A: Aspecto macroscópico das NPs de PLGA carregadas com AzA; B: Micrografia por microscopia electrónica de varrimento (SEM) das NPs de PLGA carregadas com AzA	45

Índice de tabelas

Tabela 1. Descrição do diagnóstico diferencial da acne	15
Tabela 2. Espectro de eficácia dos agentes tópicos no tratamento da acne.....	19
Tabela 3. Efeitos secundários do tratamento tópico da acne.....	39

Introdução

A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que envolve o desenvolvimento e preparação de sistemas com um tamanho na escala dos nanómetros [1;2]. É um ramo que compreende a utilização de partículas pequenas com um tamanho entre 1-1000 nm [2] e que explora novas propriedades da matéria a uma nanoescala [3]. Com a alteração do seu tamanho, os nanomateriais alteram propriedades como a estabilidade, reactividade e habilidade de interagir com outras moléculas e sistemas [3]. Assim, este tipo de tecnologia permite investigar novas oportunidades que se podem aplicar positivamente em diferentes campos da ciência.

A aplicação da nanotecnologia na medicina e na cosmética surge como um novo campo de pesquisa interdisciplinar entre diversas áreas da ciência [4]. Na última década, as aplicações nanotecnológicas na medicina têm verificado um grande crescimento [5]. Uma das áreas onde se tem observado uma enorme investigação incluiu as doenças de pele como a psoríase, acne, entre outras. Uma das patologias que mais tem beneficiado com o avanço desta tecnologia aplicada à medicina e cosmética é a acne.

Acne vulgaris ou acne é uma patologia com causas multifactoriais [6]. A acne é comum a uma população de mais de 17 milhões de pessoas, sendo que afecta entre 75% a 95% dos adolescentes [6]. O desenvolvimento da acne em jovens leva, muitas vezes, ao sofrimento dos adolescentes que na adolescência se tornam mais conscientes sobre a sua aparência física [7]. Assim, a acne pode provocar sérias perturbações psicológicas nos adolescentes [6] constituindo, por isso, uma área sujeita a investigação e desenvolvimento. Além disso, esta não se trata de uma patologia que apenas afecta os adolescentes. Cerca de 12% das mulheres são afectadas até meados dos 40 anos de idade, sendo que apenas 3% dos homens são afectados até esta idade [6]. Esta situação cria muitas vezes incompreensão por parte da sociedade visto que, até ao momento presente, julgava-se tratar-se de uma patologia que apenas afectava os adolescentes [8].

A eficácia de fármacos tópicos anti-acne está documentada [9]. No entanto, reacções adversas locais, como a irritação cutânea, eritema, secura e descamação continuam a ser os maiores problemas associados a um incumprimento da terapêutica por parte do doente [9]. Novos sistemas de veiculação de fármacos baseados em nanotecnologias foram

sugeridos para reduzir os efeitos adversos dos fármacos comumente utilizados no tratamento da acne [9].

Com o desenvolvimento da nanomedicina como terapêutica e da nanocosmética como adjuvante da terapêutica medicamentosa, novas formulações surgiram no sentido de combater alguns obstáculos que se relacionavam com a terapêutica instituída no tratamento da acne. Estes obstáculos caracterizam-se pelas reacções adversas, falta de eficácia e a falta de *compliance* por parte dos doentes.

Assim, com o desenvolvimento desta dissertação, pretende-se responder as questões tais como: «Que conhecimentos temos acerca da patogénese da acne?»; «O que podemos fazer para superar os obstáculos que se encontram na cura desta patologia?»; «Como usufruir das vantagens da nanotecnologia na cosmética e medicina?»; «Como aplicar estas vantagens no tratamento da acne?»; e «O que já foi feito na área de investigação nanotecnológica aplicada ao tratamento da acne?». Estas e outras questões serão abordadas durante os próximos capítulos.

Capítulo 1. Pele

1.1. Fisiologia geral da pele

O sistema tegumentar (Figura 1) é composto pela pele e hipoderme [10]. A **pele** é caracterizada pela epiderme e derme [10;11]. A sua regeneração total ocorre a cada 28 dias [1]. A pele trata-se do maior órgão do corpo humano (10% da massa corporal) e como via de administração de fármacos e cosméticos oferece inúmeras vantagens [1;11]. As vantagens são, entre outras, evitar o efeito de primeira passagem e as perturbações gastrointestinais muitas vezes associados à administração oral de fármacos farmacologicamente potentes [11].

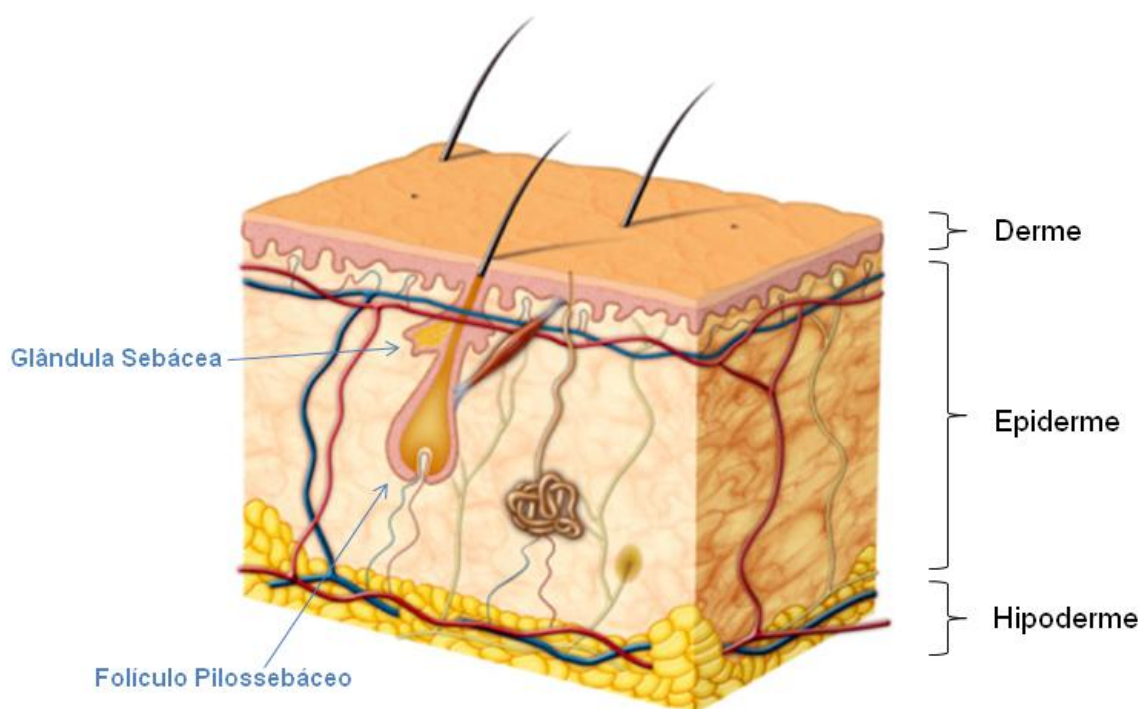


Figura 1. Sistema Tegumentar, adaptado de [12].

A **epiderme** é composta pelas seguintes camadas: córnea; translúcida, granulosa, espinhosa e basal [10]. Estas camadas são caracterizadas pelas diferentes etapas de diferenciação mitótica e queratanização e contribuem para a regeneração do estrato córneo (SC) [1]. Na camada basal, as células proliferam [11]. Quando estas migram para a superfície tendem a diferenciar-se [10;11]. A última diferenciação ocorre no SC transformando-se em células mortas repletas de queratina (células queratinizadas ou

corneócitos) que se encontram unidas por desmossomas [10;11]. Ao redor destas células encontram-se os lípidos que foram libertados dos corpos lamelares [10]. São estes os responsáveis pelas características de permeabilidade da pele, retenção de água e protecção contra agressões externas [10;11].

A **derme** é composta por tecido conjuntivo [1;10]. Este tecido é maioritariamente constituído por colagénio e fibras de elastina na proporção de 75:4 (%) [1;10]. O tipo principal de células presentes nesta camada é o fibroblasto [1]. No entanto, também se encontram presentes mastócitos e melanócitos [1]. A derme é dividida em duas camadas: a camada reticular (mais profunda) e a camada papilar [10]. A camada reticular é composta por fibras dispostas irregularmente mas orientadas predominantemente numa determinada direcção [10]. A camada papilar é composta por papilas que se alongam até à epiderme [10]. Neste compartimento encontram-se unidades pilossebáceas (= folículo pilossebáceo) e outros apêndices, como sejam as glândulas sudoríparas [13].

A **hipoderme** é a camada mais externa da pele e é composta por adipócitos, fibroblastos e macrófagos [13].

1.2. Folículos pilossebáceos

Os folículos pilossebáceos constituem o maior apêndice ao nível da estrutura da pele e são um órgão imunocompetente [14;15]. São compostos pelo folículo piloso e por glândulas sebáceas [7]. O **folículo piloso** é influenciado por hormonas e tem associado uma elevada carga genética [15]. A raiz do pelo do folículo piloso encontra-se na zona mais profunda da derme, sendo que o topo do pêlo direcciona-se para a abertura folicular na epiderme [15]. As **glândulas sebáceas** são glândulas holócrinas que se encontram distribuídas pela pele, excepto em zonas como as palmas da mão, solas e dorso dos pés [14]. Encontram-se numa concentração superior na cara e no couro cabeludo [14]. A sua função é produzir e secretar sebo, que lubrifica a pele protegendo-a da fricção e tornando-a resistente à humidade [14]. O sebo é constituído por triglicéridos, ácidos gordos, produtos de degradação, ésteres de cera, esqualeno, colesterol e os seus ésteres [14]. As glândulas são entre outros, responsáveis pelo transporte dos antioxidantes, o que constitui uma função protectora da luz solar [14]. As glândulas apresentam ainda as seguintes funções: acção antibacteriana, acção pró- e anti-inflamatória; regula a actividade dos xenobióticos; e participam no processo de cicatrização [14].

1.3. Doenças de pele

Os problemas dermatológicos constituem entre 15% a 20% das visitas ao médico de família [16]. As doença de pele referem-se a desordens exclusivas ou predominantes das camadas superficiais da pele [17]. As doenças comuns de pele referem-se a doenças que ocorrem frequentemente numa população geral, com prevalência superior a 1% [17]. Doenças como a acne, dermatite atópica, eczema, infecções fúngicas, bacterianas e virais e psoríase, estão entre as doenças da pele mais comuns e as mais estudadas [16].

As doenças de pele não são envolvem apenas com questões cosméticas pois podem ter um efeito profundo na qualidade de vida do doente [18]. Existem geralmente cinco palavras relacionadas com o aparecimento de uma doença de pele e com a dermatologia no geral e estas encontram-se expressas na Figura 2. Desde o desconforto até às consequências mais graves, o esquema seguinte reforça ainda mais a importância do objecto de estudo desta dissertação.



Figura 2. As cinco palavras associadas às doenças de pele e dermatologia e que influenciam a qualidade de vida dos doentes [18].

Capítulo 2. Acne

2.1. Definição

A **acne** (Figura 3) é uma patologia crónica comum [7;19] que se desenvolve nas unidades pilossebáceas [19;20]. Geralmente, esta patologia surge em zonas com uma maior concentração de folículos pilossebáceos [7].



Figura 3. Aspecto clínico dos comedões brancos e negros.

É uma patologia que ainda se encontra em estudo pois a sua causa e os aspectos desencadeantes ainda não foram claramente identificados e sequenciados [21]. São apontadas muitas causas e a etiologia da doença varia também de pessoa para pessoa [6;19]. No entanto, na literatura estão descritas quatro causas distintas que contribuem para o desenvolvimento da acne [19]. São elas: o aumento na secreção do sebo [14]; a proliferação da bactéria *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) [20]; a alteração da queratinização folicular, que implica a obstrução do folículo e formação de comedões [6;22]; e a reacção inflamatória/imunitária que leva à libertação de mediadores inflamatórios ou à rotura da parede da glândula, cuja reacção é responsável pelas lesões inflamatórias [22].

A acne tem uma elevada incidência na população portuguesa [22]. Num estudo de prevalência no Norte de Portugal observou-se acne em 42,1% de jovens antes dos 15 anos,

em 55,8% dos 15-29 anos, 9,2% dos 30-40 anos e em 2,1% em pessoas com mais de 40 anos [22].

2.2. Patogénese da Acne

O processo de patogénese da acne é muito complexo e envolve diferentes substâncias químicas e hormonais e a sua interação com receptores dos folículos pilossebáceos [19]. Na caracterização de patogénese da acne são identificados dois processos: a acnegénese e a comedogénese [6]. A primeira descreve o processo inflamatório e sucede à segunda que é o processo não inflamatório [6]. A manifestação inicial característica da acne é a formação do microcomedão [7]. O microcomedão consiste numa lesão não inflamatória que resulta da obstrução e dilatação do **folículo pilossebáceo** [7]. A acção da transglutaminase e o excesso e a viscosidade do sebo contribuem para a obstrução do folículo [6;20]. Associado a estas condições decorre a proliferação da bactéria *P. acnes* [20]. O sistema imune reconhece o excesso da bactéria e promove inflamação formando a 'borbulha' [6]. A *P. acnes* gera factores quimiotácticos que levam à migração de neutrófilos para o folículo intacto [20]. Posteriormente são libertadas enzimas neutrofílicas que levam à ruptura do comedão [20]. Estes fenómenos criam um ciclo de quimiotaxia e uma inflamação neutrofílica intensa [20]. Neste subcapítulo serão abordados diferentes compostos e estruturas que levam ao aparecimento e desenvolvimento da acne.

O processo patogénico da formação da acne envolve, entre outros factores, a hipersecreção de sebo por parte das **glândulas sebáceas** que é regulada por androgéneos [19]. Estas tornam-se mais activas na puberdade face ao aumento dos níveis de androgéneos, entre os quais a testosterona [6]. Os alvos dos androgéneos são os queratinócitos e os sebócitos [21]. Os sebócitos são responsáveis pela produção de novos androgéneos e pela transformação de androgéneos mais fracos em derivados mais fortes, [19]. Nos sebócitos, a testosterona é transformada em dehidrotestosterona (DHT) (forma activa) pela 5 α -redutase [19]. Em doentes com acne, a actividade desta enzima encontra-se aumentada, e esta que regula a excreção de lípidos [6;19]. O desequilíbrio entre a produção de sebo e a sua capacidade de excreção leva à acumulação de sebo no folículo o que provoca inflamação [6].

O **sebo** interfere também no processo de queratinização folicular [14;19;21]. A função biológica dos sebócitos é controlada por muitos factores como os ligandos dos receptores expressos nos sebócitos como os androgéneos e os estrogéneos, ligandos dos receptores activados por proliferadores de peroxissomas (PPAR) e neuropéptidos, ligandos receptores X do fígado (LXR), histaminas, retinóides e vitamina D [14;19;21]. Os complexos ligando-receptor levam à activação de vias de proliferação celular, de diferenciação, de lipogénese, de metabolismo hormonal e de libertação de citoquinas e quimioquinas [14;19;21].

A concentração de **ácidos gordos livres** produzidos pelos sebócitos, numa situação de hiperseborreia é também modificada [14;19;21]. Apresenta uma menor concentração de ácido linoleico, porque este está mais diluído face à excessiva produção de sebo [14;19;21]. Assim, promove alterações na diferenciação dos queratinócitos, o que promove a formação do microcomedão [14;19;21].

Ainda nos sebócitos situam-se os **PPAR** [19]. Estes classificam-se em α , β e γ (o mais representativo) [19]. Estes receptores respondem à acção dos ácidos gordos livres, ácido linoleico e androgéneos [19]. Após a sua activação, ligam-se aos receptores retinóides X (RXR) formando heterodímeros que induzem modificações na proliferação e diferenciação dos sebócitos; a síntese de ácidos gordos livres; e a produção da interleucina (IL)-1 e factor de necrose tumoral- α (TNF- α) pelas glândulas sebáceas [19]. Estes produtos vão participar na patogénese da acne no que diz respeito ao processo inflamatório e maturação da glândula sebácea [19].

Ao nível dos **neuromediadores**, as glândulas sebáceas possuem receptores para a substância P [19]. Em ensaios *in vitro*, esta substância estimula a secreção dos sebócitos [19]. É produzida por terminações nervosas que se encontram ao redor das glândulas sebáceas [19]. Estas terminações são mais ricas em substância P em indivíduos com acne que em indivíduos saudáveis [19]. A substância P estimula ainda a produção de uma endopeptidase neutra nos sebócitos, e de E-selectina nas proximidades da glândula sebácea [19].

As **hormonas** afectam a função das glândulas sebáceas [6]. Nos homens, a secreção de lípidos é controlada pela testosterona [6]. Os doentes com acne produzem maiores

quantidades de testosterona [14;19;21]. Encontra-se descrito que os homens castrados antes de atingirem a puberdade nunca chegam a desenvolver acne [14;19;21]. Por sua vez, nas mulheres o rápido aumento da hormona luteinizante (hLH) após a ovulação promove o aumento da actividade das glândulas sebáceas [6]. Encontra-se ainda descrito, que as mulheres que apresentam uma maior concentração de dihidroepiandrosterona (DHEAS) na circulação são as que desenvolvem uma acne mais severa [14;19;21].

A **5 α -redutase** é uma enzima importante na compreensão da patogénese da acne. A sua actividade varia com o local de desenvolvimento da acne pois é mais activa na zona da cara e couro cabeludo, ou seja, onde se desenvolve preferencialmente a acne [19]. A 5 α -redutase pode ser classificada em dois tipos: tipo I e tipo II [19]. O tipo I é característico de locais onde se desenvolve a acne [19]. O tipo II encontra-se em locais onde não se desenvolve a patologia [19].

A inflamação provocada por **citoquinas** tem uma acção significativa ao nível da patogénese da acne [14]. Quatro tipos de citocinas têm um papel importante no processo inflamatório [14;19;21]. São estas: a IL-1 α , (IL-4),(IL-Y) e o factor β de transformação de crescimento (TGF- β) [14;19;21]. A primeira é a que apresenta um papel mais significativo [14;19;21]. Quando secretada pelos queratinócitos que foram activados por esta, e face um sinal de irritação local, promove a formação do comedão e estimula a imunidade não específica [14;19;21]. A TGF promove a ruptura do comedão [14;19;21]. A *P. acnes* também contribui para esta reacção com a secreção de factores semelhantes à IL-1 α , (IL-8) e TNF- α [21]. O interferão-Y (IFN-Y) e o TNF- α permitem a difusão da reacção inflamatória [14;19;21]. Numa segunda fase, estas citocinas inibem a produção de sebo promovendo a regressão da lesão acneica [14;19;21].

As **moléculas adesivas** como as integrinas promovem a agregação dos queratinócitos e regulam a sua proliferação e migração [19]. Durante o desenvolvimento da acne ocorre uma modificação na expressão das integrinas α 2, α 3 e α 5 nos queratinócitos dos folículos [19]. Estas moléculas adesivas quimiotácticas auxiliam a migração dos linfócitos para o folículo [21]. Exemplos destas moléculas são a E-selectina, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) [21].

Durante o desenvolvimento do processo patogénico da acne é necessário considerar a imunidade específica e a não específica. A **imunidade específica** compreende a imunidade celular e a humoral [19]. Na imunidade celular, o infiltrado celular perilesional é composto por linfócitos T auxiliares (CD4), nas primeiras 4 horas de inflamação de uma lesão da acne [19]. Em estudos anteriores foi demonstrado que a *P. acnes* promove a proliferação das CD4 através de dois mecanismos que incluem a estimulação de antígenos específica e produção de mitógenos não específicos [19]. Na imunidade humoral, é considerado muitas vezes o papel dos anticorpos (Ac) circulantes no processo de desenvolvimento da inflamação [19]. A **imunidade não específica** não envolve a acção dos linfócitos T ou B [19]. A defesa por imunidade não específica envolve os neutrófilos polinucleares, citoquinas, receptores toll-like (TLR), defensinas, metaloproteases (MMP) e radicais livres [19]. Muitas destas substâncias têm um potencial quimiotáctico que atrai os neutrófilos polinucleares para o comedão [19]. No caso da *P. Acnes*, esta produz muitas destas substâncias com um tamanho molecular suficiente para atravessar a parede do folículo [19]. Substâncias como os ácidos gordos livres que são produzidos nos sebócitos também têm um potencial quimiotáctico relevante [19].

Outro parâmetro a ter em conta é o **superantígeno da *P. acnes*** [19;21]. Indivíduos com acne apresentam uma maior densidade de *P. acnes* quando comparado com indivíduos sem acne [19;21]. A *P. acnes*, que é um anaeróbio Gram positivo comensal e reside nos folículos pilossebáceos [14], estimula o fenómeno de inflamação relacionado com a acne através da produção de citoquinas como a IL-1 β , IL-8, interleucina-12 (IL-12) e TNF- α [14;19;21]. Esta produção é mediada pelos receptores TLR [6;14]. Na acne, a *P. acnes* liga-se ao receptor TLR-4 o que causa uma rápida e extensa reacção inflamatória [19;21]. Esta prolifera nos comedões e liberta lipases que actuam nos triglicéridos (TG) do sebo transformando-os em glicerol e ácidos gordos livres [19;21]. Estes ácidos gordos livres mais os fragmentos da bactéria (que também podem actuar como um superantígeno) difundem-se através da parede do folículo, o que promove o afluxo de neutrófilos polinucleares por quimiotaxia [19;21]. Estes vão produzir enzimas como as MMP no tecido perifolicular, o que causa a ruptura da parede do folículo pilossebáceo [19;21]. Assim, ocorre a difusão da inflamação para camadas mais profundas, que vai ser exacerbada por corpos estranhos como os macrófagos e células gigantes [19;21]. Esta inflamação é principalmente desencadeada por prostaglandinas, leucócitos, macrófagos e pelo sistema do complemento [19,21].

Relativamente ao superantigénio, este caracteriza-se pela activação directa das células que leva à rápida activação de células efectoras [19;21]. O superantigénio da *P. acnes* causa uma amplificação da reacção inflamatória, porque activa os queratinócitos e promove a libertação *in situ* de citocinas inflamatórias [19;21]. Outra acção da *P. acnes* é ao nível dos queratinócitos e sebócitos [14]. Ambas as células podem ser activadas pela *P. acnes* via das moléculas TLR, *cluster* de diferenciação 14 (CD) e (CD1) [14]. Os queratinócitos e sebócitos podem actuar como células imunes com a capacidade de reconhecer patógenos ou uma anormal distribuição de lípidos [14].

Os **TLR** desempenham um papel importante na imunidade imediata [19]. Estes ligam-se a outros receptores como o CD14 ou o lipopolissacarídeo (LPS) que se encontram envolvidos no choque tóxico [19]. Até agora foram associados à acne dois TLR: (TLR-2) e (TLR-4) [19]. O TLR-2 é principalmente estimulado por leveduras e bactérias Gram positivas [19]. Estes podem ser encontrados em membranas de monócitos, neutrófilos polinucleares e em queratinócitos [19]. O TLR-4 é estimulado por bactérias Gram negativas e pode ser encontrado em membranas de monócitos e queratinócitos [19]. A estimulação destes receptores promove a secreção de muitas citocinas, tal como referido anteriormente [19]. Este tipo de receptores actua via complexos nucleares da proteína activadora e factor nuclear (NF-kb) [19].

As **defensinas** são péptidos antibióticos que tornam permeável a membrana alvo [19]. Na epiderme, existem dois tipos de defensinas significativas, a defensina humana β (HBD)-1 a HBD-2 [19;21]. São produzidas pelos queratinócitos e armazenadas nos granulos de neutrófilos [19;21]. Estas defensinas são libertadas como pró-péptidos [21]. Posteriormente, as defensinas são clivadas libertando o grupo activo catiónico que se liga à superfície das proteínas bacterianas com carga negativa [21]. Assim, ocorre a dispersão do seu citoplasma, inibição da síntese de ácidos nucleicos e disrupção celular [21]. Sugere-se que a sua produção é estimulada pelas IL-1 α e IL-8 α [4]. Pertence, tal como as catelicinas, ao grupo dos peptídeos antimicrobianos (AMPs) cuja secreção é promovida pela *P. acnes* [21].

As **MMP** são collagenases produzidas pelos queratinócitos e pelos neutrófilos polinucleares [19]. Contribuem para a ruptura do folículo e difusão da inflamação para camadas mais profundas [19]. Apresentam um papel importante na formação de cicatrizes [19].

Os **radicais livres** são produzidos em grande quantidade pelos neutrófilos polinucleares em doentes com acne [19]. Na acne ocorre um aumento na actividade de enzimas anti-radicais, como a glutatión peroxidase e a dismutase superóxido [19]. O ácido linoleico têm acção contra os radicais livres. No entanto, como foi referido, a sua concentração em indivíduos com acne encontra-se reduzida [19].

Outro parâmetro a ter em conta é o **factor genético**. Frequentemente, a acne aparece como uma herança familiar [19]. Dentro da mesma família são encontradas formas severas de acne [19]. A modificação estrutural de origem genética dos receptores para androgéneos constitui uma possível explicação para as diferentes respostas aos androgéneos entre indivíduos [19]. Nos doentes com acne verificou-se a predominância de um alelo do gene do citocromo p 450 (CYP450) [19]. Esta mutação pode ser a responsável pela degradação acelerada dos retinóides naturais, o que pode levar à desordem na diferenciação de queratinócitos e hiperqueratinização do canal dos folículos pilossebáceos, que leva à sua obstrução [19]. Indivíduos que tenham repetições CAG mais longas apresentam uma menor incidência de doenças relacionadas com os níveis de androgéneos como os ovários poliquísticos e acne [21].

Os **receptores-1 da melanocortina** (MCR1) existem nas glândulas sebáceas [19;21]. A sua activação é feita pelo neuromediador hormona estimulante do melanócito (α -MSH) [19;21]. Assim, promove a diminuição da produção da IL-8 [19;21].

No que diz respeito à influência da **dieta alimentar** no aparecimento da acne, apenas foi descoberto que a hiperinsulinémia aumenta o factor de crescimento da insulina (IGF-1) circulante, o que pode afectar directamente a sebogénese [19,21]. Nos doentes com acne é notório um aumento dos níveis de IGF-1 no sebo [14].

Tendo em conta os fenómenos referidos e que influenciam o aparecimento da acne e o seu desenvolvimento é possível justificar a formação do **microcomedão** (Figura 4). O fenómeno que leva à sua formação é a obstrução do folículo pilossebáceo como consequência de anomalias na proliferação, adesão e diferenciação dos queratinócitos [19;21]. Os queratinócitos permanecem agregados e obstruem o canal do folículo [19;21]. Esta anomalia é clinicamente invisível [19;21].

Com a continuação da produção excessiva de sebo pelas glândulas sebáceas e a não eliminação do sebo excedente, ocorre a dilatação dos folículos pilossebáceos [19;21]. Esta dilatação caracteriza-se pelo aparecimento do **comedão**, que se torna clinicamente visível [19;21].

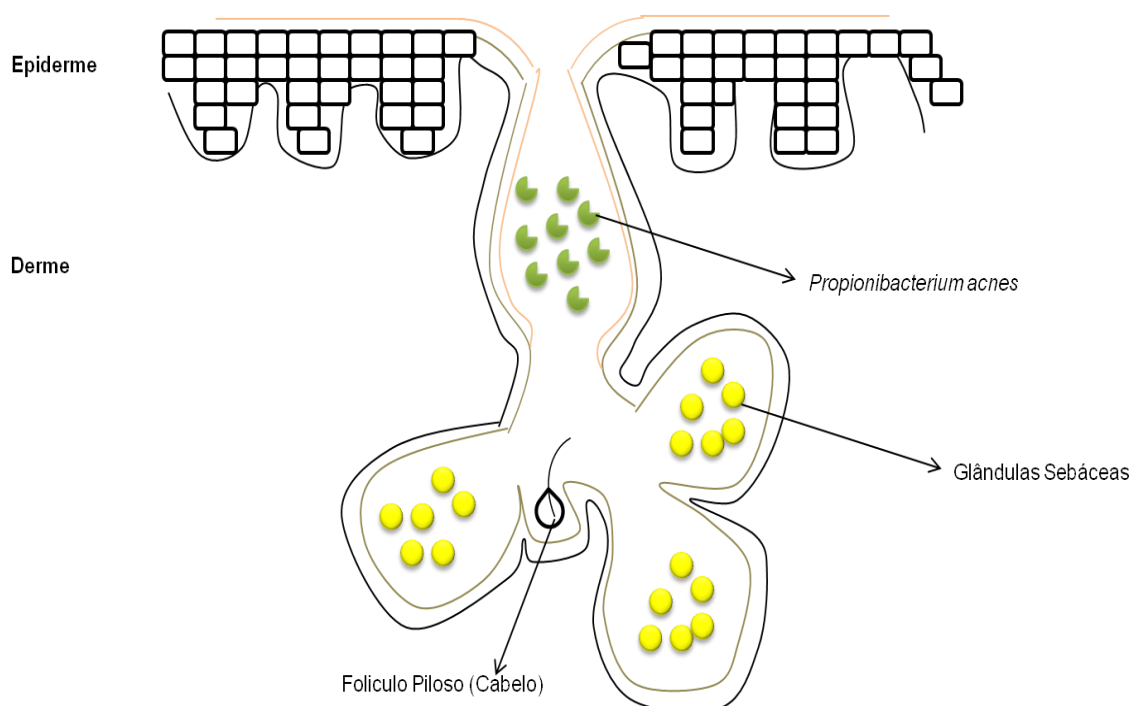


Figura 4. Ilustração do desenvolvimento do microcomedão por proliferação da *P. acnes* e acumulação de sebo produzido pelas glândulas sebáceas, adaptado de [20].

O não tratamento do comedão leva ao desenvolvimento da **pápula inflamada** que ocorre face à intensificação da libertação das citocinas inflamatórias que promove o aumento do infiltrado celular perifolicular [19;21]. O **pápulo-pustular** surge face à continuação da dilatação do folículo pela acumulação de detritos celulares [19;21].

2.3. Manifestações Clínicas

A primeira manifestação da acne ocorre com o aparecimento de comedões [19;21]. O comedão demora a evoluir do seu anterior microcomedão cerca de dois meses [23]. Os comedões têm geralmente uma distribuição típica na cara, peito e parte superior das costas [7]. Comedões fechados ou comedões brancos ('cabeças brancas') são a primeira manifestação da acne [7]. Os comedões abertos ou comedões negros ('pontos negros') ocorrem face à oxidação de ácidos gordos e o aumento da deposição de melanina [24]. A

inflamação causada pelo crescimento excessivo da *P. acnes* leva ao aparecimento de pápulas e pústulas ('borbulha') [7]. Nas formas mais severas da acne, a ruptura dos folículos pilossebáceos leva à inflamação granulomatosa tipo corpo estranho, com o desenvolvimento de quistos inflamatórios, nódulos e cicatrizes [7]. Na tabela 1 podemos identificar as diferentes manifestações da acne.

Tabela 1. **Descrição do diagnóstico diferencial da acne.** adaptado de [6].

Tipo de manifestação clínica	Caracterização
Microcomedão	Folículo piloso aumentado/alargado com excesso de sebo e <i>P. acnes</i>
Comedão	Comedão negro Comedão branco
Pápulas	Lesões inflamatórias e pequenas com altos rosas, não pustulares e suaves
Pústulas	Lesões inflamatórias e pequenas, pustulares e geralmente vermelhas
Nódulos	Lesões grandes, esféricas, dolorosas, localizadas na derme
Quistos	Mais profundos e que causam cicatrizes

A cicatrização das lesões provocadas pelo desenvolvimento da acne pode levar à desfiguração permanente [7]. A cicatriz é uma depressão irregular coberta por pele atrófica resultante da destruição do folículo pilossebáceo por reacção inflamatória [22].

2.4. Diagnóstico das formas de acne

No que diz respeito à classificação da acne, definiu-se um tipo de classificação baseado na manifestação clínica predominante e na sua gravidade [25]. Ainda que a acne seja polimorfa por definição, associando os distintos tipos de lesões, é com base no predomínio de uma das lesões referidas que permite caracterizar três tipos básicos de acne [22].

Estabeleceram-se três tipos de acne [25]:

- ♦ **comedónica:** ligeira/moderada ou extensa/macrocomedónica;
- ♦ **pápulo-pustulosa:** ligeira, moderada ou grave;
- ♦ **nódulo-quística:** ligeira, moderada ou grave.

Para cada tipo de acne foi estabelecido um diferente protocolo de tratamento [25], no sentido de otimizar todas as terapêuticas instituídas e aumentar a eficácia terapêutica. O número de lesões, a extensão e gravidade do tipo de acne permitem classificar a acne em ligeira, moderada ou grave, servindo-nos como base para o estabelecimento do seu tratamento [22].

A **acne comedónica** pode ser confundida com as seguintes situações [22]:

- ♦ Milia, que se caracteriza pelo aparecimento de pequenas pápulas esbranquiçadas na cara, assintomáticas;
- ♦ Ceratose ou hiperkeratose pilar ou folicular, que se caracteriza por micropápulas foliculares monomorfos nas partes laterais do rosto ou na parte externa dos braços;
- ♦ Verrugas planas, que se caracterizam por pequenas pápulas verruciformes aplanadas de tonalidade amarelo-acastanhado dispersas na face;
- ♦ Molusco contagioso, que são pequenas pápulas dispersas, com centro umbilicado;
- ♦ Siringomas, que são pequenas pápulas lisas da cor da pele ou amareladas, que se localizam nas pálpebras inferiores.

A **acne pápulo-pustulosa** pode necessitar de ser diferenciada das seguintes situações [22]:

- ♦ Foliculite por Gram negativas, que é constituída por pequenas pápulo-pústulas monomorfos, na área da barba, assintomáticas;
- ♦ Foliculite estafilocócica, que apresenta pápulo-pústulas foliculares, na área da barba, com uma elevada reacção inflamatória, dolorosas;
- ♦ Foliculite por fungos, que apresenta pápulo-pústulas foliculares, com grande dimensão, predominando no mento e lábio superior, assintomáticas;
- ♦ Pseudofoliculite da barba, que ocorre frequentemente na raça negra, e que se caracteriza por pápula, pústulas e cicatrizes, com localização preferencial na região cervical;
- ♦ Acne iatrogénica (medicamentosa), que é desencadeada por alguns medicamentos (corticóides tópicos ou orais, vitamina B12, halogénios, isoniazida e outros).

Manifesta-se pelo aparecimento relativamente súbito, de pápulo-pústulas pequenas, monomorfas, na face e tronco;

- ◆ Dermatite perioral, que apresenta pequenas pápulas eritematosas, por vezes com micropústula, de incidência preferencial na região perioral;
- ◆ Rosácea/rosácea esteróide, com pequenas pápulo-pústulas inflamatórias, que se distribuem pelo nariz, regiões malaras e mento, preferencialmente, na mulher adulta, pré-menopáusia, não se observando comedões.

A **acne nódulo-quística** pode ser confundida com [22]:

- ◆ A pioderma facial (rosácea fulminante), que é constituída por pápulo-pústulas, nódulos e placas inflamatórias edematosas no mento, regiões genianas e fronte, por vezes acompanhada de febre e mal-estar geral;
- ◆ Infecções várias como o furúnculo, abscesso estafilocócico, quisto infectado;
- ◆ Outras afecções inflamatórias, tais como: picada de insecto, síndrome *Sweet* ou infiltrado linfocítico de *Jessner-Kanoff*.

Capítulo 3. Tratamento para a Acne

O tratamento da acne pretende controlar todos os diferentes factores que contribuem para o desenvolvimento da doença [25]. Os objectivos do tratamento passam pelo controlo da hiperqueratose, diminuir a produção de sebo, reduzir a população bacteriana e a inflamação [25]. O controlo destes parâmetros permitem controlar todo o tipo de acne, evitar recaídas e prevenir as sequelas das doenças [25], como por exemplo, as cicatrizes. A cicatrização na acne pode levar à desfiguração permanente pelo que a prevenção de cicatrizes é também um dos principais objectivos no tratamento da acne [7].

A resolução da acne demora tempo [25]. Não se pode esperar que antes de 6 a 8 semanas sejam visíveis grandes resultados [25]. São ainda necessários, muitas vezes, ajustamentos de indivíduo para indivíduo [25]. Dado a quantidade de factores envolvidos na patogénese da acne, o tratamento não pode ser estereotipado, deve ser individualizado [25]. O sucesso de uma terapêutica num indivíduo é, algumas vezes, o fracasso noutra [25]. Assim, é necessária a intervenção de um especialista na associação de tratamentos tópicos e sistémicos com base de um algoritmo de tratamento da acne (Apêndice 1.) [25]. É fundamental, numa primeira consulta, a explicação do que em que a doença consiste, quais as suas causas, quais as atitudes a ter no quotidiano e quais as interdições [25], como por exemplo, a utilização de produtos cosméticos que sejam comedogénicos.

3.1. Tratamento tópico

O tratamento tópico é a primeira escolha para as formas não inflamatórias da acne e para a acne inflamatória ligeira [25]. Os tratamentos tópicos estão recomendados nas formas leves a moderadas de acne ou como adjuvantes de tratamentos sistémicos, nas formas mais graves [25].

Os fármacos com aplicação tópica mais prescritos são os retinóides, os antibióticos e o peróxido de benzoílo (BPO) [25]. Os medicamentos com ácido azelaico (AzA), glicólico ou salicílico têm uma eficácia limitada mas podem ser utilizados nas fases de manutenção, como adjuvantes dos anti-acneicos de primeira linha [25]. Nenhum dos diferentes anti-acneicos disponíveis cobre eficazmente todos os aspectos da fisiopatologia da acne [25] (Tabela 2). Por isso, são muitas vezes utilizados em associação [25].

Tabela 2. **Espectro de eficácia dos agentes tópicos no tratamento da acne**, adaptado de [9].

	Redução de Comedões	Antimicrobiano	Anti-inflamatório
Tretinoína	Forte	Nenhum efeito	Nenhum efeito
Isotretinoína	Forte	Nenhum efeito	Fraco
Adapaleno	Forte	Nenhum efeito	Moderado
AzA	Moderado	Moderado	Moderado
Clindamicina	Fraco	Forte	Forte
BPO	Moderado	Muito forte	Moderado

Os **retinóides** conseguem inibir a formação de microcomedões e reduzem as lesões não inflamatórias e inflamatórias [26]. O seu principal mecanismo de acção consiste na normalização da descamação alterada do epitélio infundibular, inibindo assim o processo de comedogénese [25]. Ao inibirem a formação de microcomedões, reduzem o número de comedões e lesões inflamatórias [25]. Os retinóides tópicos têm também propriedades anti-inflamatórias [25]. No entanto, no início da terapêutica, e em peles mais sensíveis, esta acção possa ser mascarada pelo seu potencial irritativo [25]. Também tem o potencial de aumentar a penetração de outros medicamentos [25;26]. Em uso continuado, os retinóides mantêm a remissão da acne pela prevenção de novas lesões [25]. Os produtos disponíveis em Portugal são [25;27]:

- ◆ Tretinoína em creme (0,05%) e em solução (0,1%);
- ◆ Isotretinoína em gel (0,05%);
- ◆ Adapaleno em creme e gel (0,1%).

A isotretinoína e a tretinoína têm uma actividade comedolítica similar [25]. Apresentam, muitas vezes, efeitos adversos como irritação, fotossensibilidade e pele seca [25]. O adapaleno, um retinóide de 3ª geração, apresenta uma actividade similar à isotretinoína e tretinoína com um melhor perfil de tolerabilidade [25]. No entanto, o seu início de acção é mais lento [25].

Os retinóides tópicos estão indicados em todas as apresentações clínicas, com a excepção das formas que justifiquem a prescrição de isotretinoína oral [25]. São também a base do tratamento de manutenção [25].

O **AzA** é um ácido dicarboxílico com uma cadeia de 9 carbonos que deriva do *Pityrosporum ovale* (= *Malassezia furfur*) (Figura 5) mas também é encontrado em cereais e produtos animais [28;29]. É utilizado no tratamento da acne e desordens de pigmentação como o melasma e hiperpigmentação pós-inflamatória [28]. É utilizado em doenças com hiperpigmentação [28;30] porque inibe a tiroquinase, a enzima que limita a síntese de melanina [28]. É uma terapêutica eficaz para a acne suave a moderada pápulo-pustular e é tão eficaz como isotretinoína a 0,05% na acne comedonal [30]. É eficaz quer para acne inflamatório quer para não inflamatório [31]. Também possui um efeito comedolítico, antimicrobiano e anti-inflamatório [28]. O seu efeito antimicrobiano deve-se a uma perturbação do pH intracelular e inibição da síntese proteica [29].

AzA é considerado pela FDA como fármaco de categoria B na gravidez [29], o que significa que estudos em animais não demonstraram risco para o feto e não há estudos controlados em grávidas, **ou** estudos em animais demonstraram um efeito adverso mas estudos controlados em grávidas não demonstraram esse risco [32]. Uma das duas situações referidas tem que ser verificada para que o produto seja considerado seguro.

Os efeitos adversos mais associados são o prurido, sensação de queimadura, eritema e descamação [29]. Este fármaco não causa fotossensibilidade e as suas doses subletais não levam ao aparecimento de resistências bacterianas [30]. É melhor tolerado que o BPO e tretinoína [30]. Não tem efeitos despigmentantes nos doentes com acne e não existem incompatibilidades conhecidas entre o AzA e outros agentes tópicos [30]. O começo da acção é mais lento que o que vemos com o BPO [30].



Figura 5. Imagem microscópica do *Pityrosporum ovale* (= *Malassezia furfur*) [33].

Os **antibióticos** actuam em dois passos da fisiopatologia da acne: na colonização pela *P. acnes* e na inflamação ou resposta imunitária [25]. Para além do efeito antimicrobiano directo, diminuindo a população bacteriana, também apresentam propriedades anti-inflamatórias que incluem a diminuição da quimiotaxia dos neutrófilos, a diminuição da produção de citocinas e de ácidos gordos livres no infundíbulo piloso e o aumento da produção de prostaglandinas [25]. A principal indicação dos antibióticos tópicos é a acne inflamatória ligeira sendo bem tolerados, apesar de um lento início de acção [25]. Após 6-8 semanas de aplicação regular, os antibióticos devem ser suspensos se não tiverem resultados [25].

O **BPO** trata-se de um antimicrobiano utilizado na acne inflamatória ligeira a moderada, em vez dos antibióticos tópicos [25]. A grande maioria do fármaco que penetra na pele é convertida em ácido benzóico [34] sendo a sua eficácia similar à dos antibióticos tópicos [25]. Contrariamente aos antibióticos, o BPO não está associado ao desenvolvimento de resistências bacterianas [25]. O BPO pode ser associado com antibióticos tópicos pela sinergia na redução da *P. acnes* e pela prevenção do desenvolvimento de resistências microbianas [25]. De igual modo é interessante a associação com retinóides tópicos em acnes ligeiras a moderadas, o que permite a cobertura de todos os aspectos da etiopatogenia [25]. Como efeitos adversos pode causar dermatites de contacto [25]. Está disponível em Portugal em líquido de limpeza e gel em concentrações de 5 e 10% [25;27].

3.2. Tratamento sistémico

No tratamento da acne, a terapêutica sistémica compreende antibióticos orais, tratamento hormonal, isotretinoína oral, ou combinação destes.

Os **antibióticos orais** estão indicados nas formas moderadas a graves da acne inflamatória [25]. Têm um início de acção mais rápido que os antibióticos tópicos e são igualmente bem tolerados [25].

As tetraciclinas são os antibióticos de primeira linha, pelas suas vantagens no que diz respeito à eficácia, segurança e resistências microbianas [25]. Os macrólidos como a eritromicina, azitromicina e claritromicina apresentam problemas de tolerância e têm uma eficácia limitada face ao surgimento de resistências da *P. acnes* [25]. Assim, estes fármacos devem apenas ser utilizados em situações de intolerância ou contra-indicação para as tetraciclinas [25]. As quinolonas, cotrimoxazol e trimetoprim são fármacos de terceira linha [25].

As tetraciclinas de primeira geração são a oxitetraciclina e o cloridrato de tetraciclina [25]. As de segunda geração são a doxiciclina e a minociclina [25]. As duas gerações apresentam uma farmacocinética distinta sendo que as de primeira geração têm administrações bidiárias e não podem ser dadas com alimentos, e as de segunda são dadas uma vez ao dia com refeições [25].

Um dos problemas associados ao tratamento com antibióticos na acne relaciona-se com uma questão da saúde pública: o desenvolvimento de resistências bacterianas associadas à prescrição de antibióticos [25]. Este problema é agravado pela exposição prolongada (tópica/sistémica) destes antibióticos em doses baixas, abaixo da concentração inibitória mínima (CMI) [25]. A continuação do aparecimento de resistências de *P. acnes* relaciona-se com uma menor eficácia e/ou insucesso terapêutico [25].

O **tratamento hormonal** reduz a actividade androgénica na glândula sebácea e do infundíbulo folicular [25]. As indicações para tratamento hormonal na acne são as mulheres com agravamento pré-menstrual; mulheres com acne na idade adulta, envolvendo preferencialmente a metade inferior da face e pescoço; mulheres em qualquer idade com

acne associada a seborreia, hirsutismo e irregularidades do ciclo menstrual, com ou sem hiperandrogenismo; e mulheres sexualmente activas com acne inflamatória [25].

O efeito antiandrogénico no tratamento da acne pode verificar-se de diversas formas [25]:

- ♦ Aumento das proteínas transportadoras de hormonas sexuais (Globulina Fixadora das Hormonas Sexuais (SHBG)) com redução da fracção livre dos androgéneos por contraceptivos orais que combinam estrogénio com um progestativo [25]. Assim, esta associação inibe a produção ovária de androgéneos [25]. Este efeito é potenciado na presença de um estrogénio (geralmente etinilestradiol) com um progestativo de 2ª geração (levonorgestrel, noretindroma, diacetato de dethinotiol) ou 3ª geração (nomegestrol, trimegestone, dienogest (derivado da nortestosterona com actividade anti-androgénica)) [25];
- ♦ Os fármacos antiandrogénicos bloqueiam os receptores dos androgéneos ou inibem a sua conversão em DHT [25]. São o acetato de ciproterona, o acetato de cloromadinona, o dienogest, o trimegestone, a espironolactona, a drospirenona (análogo da espironolactona com propriedades antimineralocorticóides e anti-androgénicas), e a flutamida [25]. Os primeiros utilizam-se combinados com estrogénios como contraceptivo oral, para evitar os efeitos secundários dos antiandrogénicos isolados como as alterações do ciclo menstrual, a tensão mamária, as náuseas e os vómitos [25].

A **isotretinoína** actua em todos os mecanismos fisiopatológicos da acne pois reduz a diferenciação sebácea, diminuindo o tamanho da glândula sebácea e a sua capacidade de produzir sebo; normaliza a queratinização folicular reduzindo a formação de novos comedões; diminui a colonização pela *P. acnes*, ao modificar o ambiente do folículo piloso; e combate a inflamação [25]. A sua principal indicação é a acne nódulo-quística ou a acne moderada a grave que não responde ou recidiva logo após tratamento tópico e/ou com antibióticos sistémicos ou acne com tendência cicatricial [25]. A terapêutica com isotretinoína é altamente eficaz, embora possa haver uma fase inicial de agravamento das lesões, sobretudo nas formas com marcado componente retencional [25]. Isto acontece porque nas primeiras semanas de tratamento grandes quantidades de superantígenos da *P. acnes* são libertados [19;21]. Efeitos adversos frequentes associados à isotretinoína são quelite, secura ocular com intolerância a lentes de contacto, pele seca, fragilidade das mucosas e fotossensibilidade [25]. Poderá, ainda, ocorrer hiperlipidémia pelo que é aconselhável a determinação de triglicéridos, colesterol total e HDL séricos em jejum, bem

como estudos da função hepática e hemograma com plaquetas, antes do início e às 4 a 6 semanas de tratamento [25]. O principal efeito adverso da isotretinoína resulta do seu elevado potencial teratogénico durante o tratamento e nas seis semanas após a sua conclusão [25]. Deste modo, nas mulheres, este tratamento deve ser associado a uma contraceção eficaz devendo ser dada informação por escrito à paciente e/ou seu representante legal [25]. A isotretinoína encontra-se muitas vezes relacionada com a incidência de casos de depressão e pensamentos suicidas por parte dos doentes que cumprem este tipo de terapêutica sistémica [35]. No entanto, refere-se que ainda não existe relação casual comprovada para este fenómeno [35]. O facto da própria doença, acne, desencadear fenómenos depressivos camufla muitas vezes a interpretação da acção da isotretinoína [35].

3.3. Tratamento físico

O tratamento da acne, recorrendo a técnicas físicas, inclui o tratamento cirúrgico. O **tratamento cirúrgico** da acne engloba as vertentes de tratamento da acne activa e do tratamento ou correcção de cicatrizes [25]. Entre as técnicas mais simples de tratamento cirúrgico é utilizada a subcissão em que se introduz uma agulha sob a cicatriz com o intuito de a 'soltar' do seu leito, elevando-a [25]. Pode-se fazer na mesma altura um preenchimento desse espaço [25].

Outra possibilidade é a exérese com punção de biópsia seguida de sutura ou enxerto de pele e dermoabrasão rotatória [25]. Pode também realizar-se recapeamento com laser de dióxido de carbono (CO₂) ou érbio [25]. Estes são tratamentos agressivos e com um tempo de recuperação prolongado [25]. A possibilidade de efeitos secundários, tais como eritema e hiperpigmentação, é elevada [25]. Recentemente, o laser de CO₂ fraccionado permite uma eficácia significativa e apresenta uma recuperação mais rápida com baixa incidência de efeitos secundários [25].

Os *peelings* químicos são úteis no tratamento da acne activa e nos tratamentos de manutenção [25]. Usam-se com maior frequência os *peelings* superficiais que não implicam uma recuperação clínica extensa ou internamento do doente [25]. O toque com ácido tricloroacético a 100% no fundo das cicatrizes é um excelente tratamento, embora necessite

de repetições de tratamento e exige uma técnica perfeita por parte do profissional executante [25].

3.4. Coadjuvantes no tratamento

Como coadjuvantes no tratamento da acne existem os produtos de dermocosmética. Estes produtos devem maioritariamente servir para controlo dos efeitos secundários dos tratamentos tópicos e/ou sistémicos [25]. Uma condição que deve ser respeitada pelos cosméticos é que estes não devem possuir um potencial comedogénico [25]. São eles [25]:

- ◆ Produtos de lavagem, atenuizantes da irritação provocada pela terapêutica tópica e sistémica, sendo neste caso particularmente indicados os cremes ou emulsões sem óleo;
- ◆ Hidratantes labiais, para evitar situações de quelite provocada pela utilização de retinóides;
- ◆ Emulsões ou cremes com moderado efeito queratolítico, para alternar com produtos mais activos ou numa fase de manutenção;
- ◆ Maquilhagem para disfarçar possíveis lesões;
- ◆ Protectores solares para evitar a formação de marcas inestéticas e reduzir reacções associadas à fotossensibilidade associada a alguma terapêutica anti-acneica.

3.5. Terapêutica combinada

A terapêutica combinada de antibióticos sistémicos com retinóides tópicos ou BPO é frequentemente utilizada pois demonstrou que previne e minimiza o aparecimento de resistências bacterianas [25].

Com a isotretinoína podem ser associados tratamentos tópicos [25]. No entanto, são de evitar fármacos com potencial irritativo como o BPO e os retinóides tópicos, cujos efeitos adversos podem ser significativamente aumentados [25]. Não se devem associar antibióticos do grupo das tetraciclinas à isotretinoína pela possível potenciação do efeito hipertensor intracraniano [25]. No entanto, antibióticos de outros grupos podem ser utilizados [25]. A associação a contraceptivos é aconselhada pelo efeito contraceptivo e também pelo possível efeito anti-androgénico [25].

Capítulo 4. Nanotecnologia aplicada ao tratamento de doenças de pele

Para a nanotecnologia se tornar útil como alternativa no tratamento de doenças de pele, esta deve ter a capacidade de conceder a dados materiais a capacidade de penetrar na barreira da pele, libertar controladamente a sua carga e sair do organismo sem provocar efeitos adversos [36]. A investigação feita nesta área tem incidido principalmente em três áreas: imagiologia aplicada ao cancro de pele e terapêutica direcionada; imunomodulação e administração de vacinas e, finalmente, antimicrobianos e cicatrização de feridas [36].

4.1. Nanotecnologia

A nanotecnologia caracteriza-se pela manipulação da matéria a uma escala atómica para criar estruturas que podem levar à formação de novos produtos ou optimização de outros já existentes [37]. Estes produtos podem ser utilizados ao nível da engenharia, medicina, entre outros [37]. A nanotecnologia aplicada à saúde combina as áreas de engenharia e medicina [3] e permite aplicá-la em diferentes áreas da medicina. A nanotecnologia potencia o uso das melhores propriedades da matéria através da sua manipulação numa escala abaixo dos 1000 nm [3].

A nanotecnologia como técnica de encapsulação de fármacos surgiu há pouco tempo [38]. No entanto, os seus rápidos e significativos avanços permitiram a descoberta e/ou o desenvolvimento de novas oportunidades de diagnóstico e terapia de diversas doenças [38]. Quando comparado com as formas farmacêuticas convencionais, estes sistemas oferecem inúmeras vantagens incluindo a melhoria de eficácia da terapia, diminuição ou limitação de fenómenos menos tóxicos associados ao fármaco encapsulado, a libertação controlada e direccionada do fármaco encapsulado e o aumento da *compliance* do doente [38].

4.1.1. História

A nanotecnologia remota a meados do século XX [3]. O termo '*nano*' deriva da palavra grega cujo significado é anão [40]. A primeira observação e medição de tamanho de nanopartículas (NPs) ocorreu em 1914 por Richard Adolf Zsigmondy [39]. Ele foi o primeiro a usar o termo nanómetro para caracterizar uma partícula com o tamanho de 1/1.000.000 de um milímetro [39]. A nanotecnologia não é um novo campo porque os cientistas têm vindo a estudar o fenómeno nanociência ao longo de várias décadas em diferentes campos da

ciência e medicina [39]. Por exemplo, a descoberta de Watson e Crick na estrutura de ácido desoxirribonucleico (DNA) em 1953 pode ser visto como contributo para a nanociência [39]. No entanto, a primeira ideia de nanotecnologia a ser introduzida foi em 1959 quando Richard Feynman, um físico de Caltech, fez uma comunicação chamada «*There's Plenty of Room at the Bottom*» [39]. Apesar de ele não ter utilizado o termo nanotecnologia, ele sugeriu que era possível manipular átomos e molecular para criar sistemas numa nanoescala [39]. O termo nanotecnologia foi primeiramente referido numa publicação em 1974 por Norio Taniguchi, um estudante do *Tokyo Science University*, que referiu:

«*Nano-technology mainly consists of the processing of, separation, consolidation, and deformation of materials by one atom or one molecule*» [39].

4.1.2. Tipos de NPs

As NPs são partículas coloidais [8] definidas como sistemas sólidos à base de polímeros (sintéticos, semi-sintéticos ou naturais), ou de outros materiais, de natureza biodegradável ou não [8;38] e que servem de veículo para fármacos ou outras substâncias [38]. Apresentam um tamanho na escala dos nanómetros (Figura 6) [41]. As NPs permitem que os fármacos atinjam tecidos alvo [8]. Conseguem ainda, proteger os fármacos da degradação química e/ou enzimática, ao mesmo tempo que diminuem os seus efeitos adversos [8].

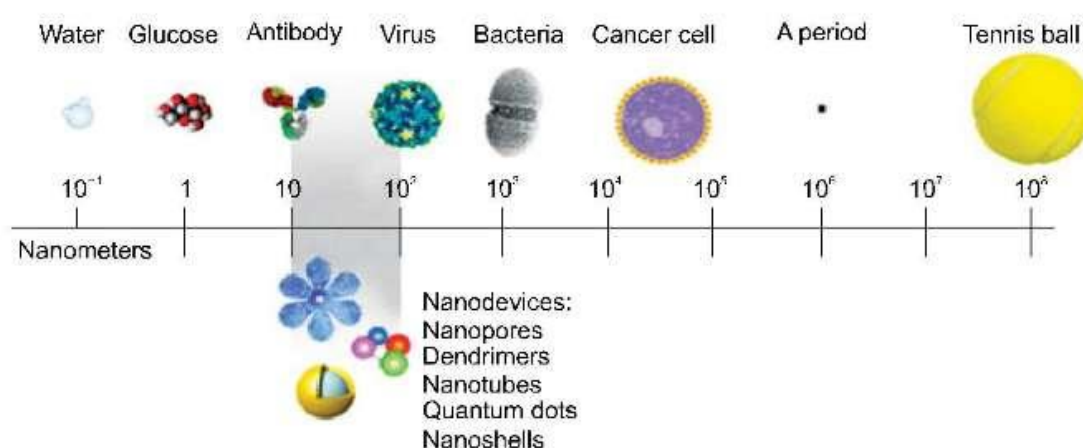


Figura 6. Comparação do tamanho entre os diferentes tipos de estruturas [41].

Existem diferentes propriedades a ter em conta nas NPs e que influenciam a sua estrutura, acção, eficiência de encapsulação, entre outros. Existem condições necessárias para caracterizar a nanotecnologia como o seu tamanho ser na ordem dos nanómetros; apresentarem propriedades que apenas são justificadas ou acontecem devido à escala nanoscópica; e o seu comportamento ter que ser considerado e ser previsível através de modelos matemáticos adaptados/apropriados [5]. As NPs podem ser preparadas adaptando a sua forma, tamanho, carga da superfície e estabilidade [42], de modo a se poderem adaptar a cada estado *in vivo*. Dependendo do tipo de órgão, o tamanho das NPs e outros aspectos têm que ser levados em conta [43]. Os fármacos utilizados podem ser absorvidos à superfície das NPs, encapsulados ou dissolvidos na sua matriz [44]. As características da superfície das NPs influenciam a sua interação com o meio [8]. As principais características são carga, hidrofília, conformação à superfície e composição química [8].

Algumas das vantagens das NPs passam pela solubilização de fármacos hidrofóbicos; diminuição da dose total de fármacos utilizados; prevenção ou mesmo eliminação de efeitos secundários e dispensa de remoção cirúrgica após a sua utilização [45].

No que diz respeito à sua estrutura, as NPs englobam dois tipos mais específicos: nanoesfera e nanocápsula (Figura 7) [38]. A **nanocápsula** é um sistema vesicular onde o fármaco ou substância a encapsular está confinado no núcleo líquido ou sólido (núcleo aquoso/oleoso) delimitado por uma membrana polimérica, o invólucro [38;46]. O fármaco pode localizar-se no núcleo sob a forma dissolvida, suspensa ou adsorvida à superfície das NPs [38]. A **nanoesfera** é um sistema com estrutura tipo matriz [38]. Os fármacos podem ser adsorvidos à superfície da nanoesfera ou encapsulados no seu interior de forma homogénea ou heterogénea [38].

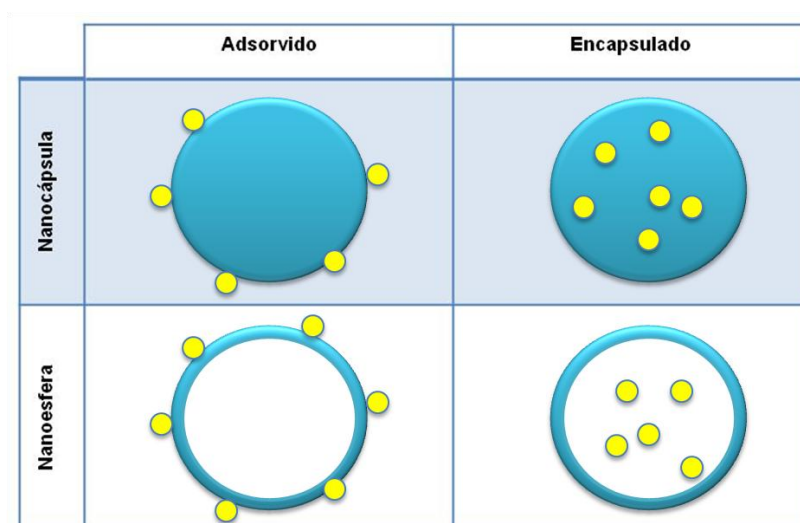


Figura 7. Representação esquemática da classificação das nanocápsulas e nanoesferas com substâncias medicamentosas/cosmetologicamente activas encapsuladas. adaptado de [47]

A investigação na área da nanotecnologia levou ao aparecimento de diferentes tipos de NPs que dependem das características da acção pretendida. São elas: as NPs poliméricas, NPs sólidas lipídicas (SLN), veículos lipídicos nanoestruturados (NLC), lipossomas, NPs metálicas, grafenos, fulerenos, nanocompósitos, nanoconchas, NPs semicondutores, nanoemulsões, dendrímeros, cubossomas, nanotubos de carbono (CNT), pontos quânticos (*quantum dots*, QD) [48]

As NPs poliméricas são formadas de polímeros, geralmente biodegradáveis, como o polímero de ácido láctico (PLA), o polímero de ácido glicólico e o seu co-polímero ácido poli-láctico-glicólico (PLGA) [49]. As NPs poliméricas podem ser ainda de diferentes tipos de rearranjos conformacionais que incluem dendrímeros, entre outros [49].

As **SLN** são compostas por sólidos lípidos fisiológicos preparadas geralmente por um processo de homogeneização de alta pressão [50]. São gotas de óleo sólidas à temperatura ambiente e que são estabilizadas por surfactantes [46].

Os **NLC** são estruturas compostas por uma mistura de lípidos sólidos com um fluido à temperatura ambiente [51]. A fase lipídica líquida pode ser incorporada na matriz sólida ou encontrar-se à superfície de partículas sólidas [52].

Os **lipossomas** são compostos por uma bicamada fechada de fosfolípidos [50]. São vesículas concêntricas [50]. Apresenta um núcleo aquoso rodeado por uma bicamada lipídica composta por fosfolípidos naturais ou sintéticos que são produtos *generally recognized as safe* (GRAS) pela FDA [46;53].

Nas **NPs metálicas**, temos o exemplo das AuNP que são muito utilizadas para imagiologia celular [50]. São fáceis de preparar, têm uma distribuição de tamanho pequena e apresentam um bom contraste para técnicas de microscopia electrónica [50]. São também muito utilizadas para estudar a penetração na derme [50]. Apresentam, ainda, propriedades antibacterianas [46]. Existem ainda as NPs de prata. Estas são muitas vezes utilizadas no tratamento de feridas e cicatrizes como agentes antimicrobianos [54]

Os **grafenos** são folhas de carbono com uma área superficial muito grande e com uma grossura de apenas um átomo [2]. São muito utilizados como sensores ligados a moléculas fluorescentes [2].

Os **CNT e fulerenos** são materiais de carbono caracterizados como sistemas de libertação de fármacos devido à sua natureza inerte [50]. São compostos por moléculas de carbono arranjados cilindricamente [2]. Apresentam dimensões muito pequenas da ordem de 1 nm de diâmetro [46].

Os **nanocompósitos** são massas em matriz em que se combinam partículas fluorescentes e magnéticas num único sistema [2].

As **nanoconchas** são NPs com uma cápsula metálica com núcleos dieléctricos [55].

Os **nanocristais semicondutores** também conhecidos como **QD** são muito utilizados para imagiologia não invasiva [50]. São sondas luminescentes [56]. Estes oferecem vantagens como uma maior detecção e controlo experimental comparado com muitos outros nanomateriais particulados [50]. Os QD podem ter diferentes tamanhos mas geralmente são inferiores a 10 nm [50;56].

As **nanoemulsões** são dispersões de gotas de um líquido noutro [46]. A sua estrutura pode ser manipulada dependendo do método de produção [46]. Os componentes utilizados na sua preparação são produtos *GRAS* [46].

Os **dendrimeros** são unidades unimoleculares, monodispersos, com uma nanoestrutura micelar, bem definida e simétrica e um tamanho de aproximadamente 20 nm [46]. São grupos multifuncionais de alta densidade [46]. São ramificações repetitivas de monomoléculas poliméricas com muitos braços que se expandem desde o centro e que resultam numa *nearly-perfect 3D geometric pattern* [56].

Os **cubossomas** são uma associação de partículas cristalinas líquidas com surfactantes misturados com água [46]. Apresentam uma baixa viscosidade [46]. Podem existir em qualquer nível de diluição [46]. Têm uma alta termoestabilidade e podem transportar moléculas lipídicas e hidrofílicas [46].

4.1.3. Métodos de preparação de NPs

A escolha do método de preparação de NPs e do polímero ideal depende das propriedades físico-químicas do fármaco, das características de libertação que se pretendem, do objectivo terapêutico, da via de administração, da biodegradabilidade e biocompatibilidade da partícula, do veículo de encapsulação e da regulamentação [57]. A selecção destas condições é determinada pela possibilidade de alcançar uma alta eficiência de encapsulação, rendimento do produto e a facilidade para *scale-up* [8].

Os métodos de preparação das NPs englobam dois tipos: o método de «**bottom-up**» no qual as NPs são formuladas tendo em conta a sua dimensão molecular; e o método de «**top-down**» onde ocorre a redução de partículas maiores para mais pequenas através da utilização de métodos físicos-químicos. [58]

O facto das NPs poliméricas serem o modelo de NPs muito estudado na área farmacêutica permitiu o desenvolvimento mais exaustivo de diferentes métodos de preparação. Os métodos de preparação de NPs poliméricas podem ser classificados em dois grupos conforme as NPs poliméricas são formadas ao mesmo tempo que o polímero o que requer reacções de polimerização; ou são directamente obtidas de um polímero pré-formado [8;59].

O método de **polimerização de um monómero** [59] compreende os métodos de polimerização em emulsão, polimerização interfacial e policondensação interfacial [8;59]. A polimerização em emulsão é indicada para a formação de nanoesferas e é um dos métodos mais rápidos de preparação [8;59]. O método é classificado em duas categorias baseado na utilização de fases contínuas orgânicas ou aquosas [59]. O monómero se líquido é disperso com agitação numa fase contínua na qual é imiscível [8]. Podem ser feitas em sistemas sem emulsionante ou em emulsões óleo-em-água ou água-em-óleo [8]. Um exemplo do tipo de NPs formadas são as nanoesferas de poli(alquilcianoacrilato) [8]. A polimerização interfacial compreende fases diferentes de preparação em que o monómero é adicionado numa fase oleosa de uma microemulsão já preparada [8]. É muito útil na encapsulação de moléculas muito solúveis em água como os péptidos e ácidos nucleicos [8]. É ideal na formação de nanocápsulas [8]. A policondensação é também utilizada na formação de NPs poliméricas utilizando um monómero lipofílico na presença ou não de um surfactante [8].

O método de **obtenção de um polímero pré-formado** pode ser a partir de polímeros sintéticos pré-formados em que se utilizam os métodos de emulsificação/evaporação do solvente, nanoprecipitação do solvente ou deposição interfacial, emulsificação/difusão do solvente e *salting-out* [59]. O método de emulsificação/evaporação do solvente compreende dois passos [59]. Primeiro, tem que emulsificar o polímero numa fase aquosa [59]. Segundo, o solvente é evaporado o que induz a formação de nanoesferas por precipitação do polímero [59]. A nanoprecipitação envolve a precipitação de um polímero pré-formado numa solução orgânica e a difusão do solvente orgânico no meio aquoso na presença ou não de um surfactante [59]. Assim, leva à precipitação do polímero em nanoesferas [59]. A emulsificação/difusão do solvente compreende a dissolução de um polímero num meio parcialmente miscível em água e saturado em água [59]. Para promover a formação de NPs através da precipitação do polímero é necessário permitir a difusão do solvente da fase dispersa através da diluição com um excesso de água quando o solvente orgânico é parcialmente solúvel com a água [59]. O método do *salting-out* compreende a separação deste solvente parcialmente miscível em água da solução aquosa através de um efeito *salting-out* [59]. Este método pode ser considerado uma modificação do anterior [59].

4.1.4. Riscos da nanotecnologia

Até ao momento, com base na evolução do estudo ou desenvolvimento da nanotecnologia, questões acerca dos potenciais riscos da sua utilização foram surgindo por todo o mundo por parte dos mais cépticos. É, portanto, muito importante referir os riscos teóricos da utilização deste tipo de tecnologia tal como as preocupações que se foram generalizando [3].

A grande maioria dos riscos relatados ou teorizados dizem respeito à toxicidade relacionada com a diminuição do tamanho da partícula, ocorrendo um aumento da superfície exposta [3]. Outra questão é a sua acumulação nos tecidos orgânicos [3]. No entanto, existem formas de reduzir esta suposta toxicidade associada. A libertação controlada no local de acção e o tempo reduzido de exposição nos tecidos não-alvo aumenta a eficácia do tratamento, mas também pode reduzir a toxicidade e efeitos secundários [60]. Desta forma, a *compliance* dos doentes também aumenta [60]. A toxicidade das NPs depende de factores como o seu tamanho reduzido, a sua composição química, estrutura, solubilidade, forma e agregação [46].

Considerando a toxicidade das NPs é igualmente importante referir outro aspecto a considerar: a ausência de regulamentação específica aplicada aos medicamentos com base em NPs [37]. Na área dos cosméticos, a mesma situação se verifica. Geralmente, União Europeia (UE) assume que alguns riscos são inevitáveis e que os métodos de toxicologia convencionais não são adequados à detecção da sua segurança [58].

Os riscos de toxicidade que surgem associados às NPs concentram-se em aspectos como um maior risco de agregação durante o armazenamento e o transporte, e um maior risco de dispersão face ao seu reduzido tamanho [61]. Têm também o potencial de serem reconhecidos pelo sistema imune e serem excluídos da circulação pelo reticuloendotelial antes mesmo de actuarem no local de acção [61]. No entanto, e para este último, existem várias formas de aumentar o tempo de residência das NPs como seja aplicação de técnicas de revestimento [61].

4.1.5. Regulamentação

No que diz respeito à **regulamentação de medicamentos** com base em nanomateriais por parte da EU, surgiu uma plataforma em 2005, a *The European Technology Platform on Nanomedicine* que tem como prioridades, entre outras, a disseminação do conhecimento, da regulamentação, da padronização, da ética, da segurança, das questões ambientais e de toxicidade [62]. Em 2011, foi determinado pela Comissão Europeia que o termo «nanomaterial» significa:

«A natural, incidental or manufactured material containing particles, in an unbound state or as an aggregate or as an agglomerate and where, for 50% or more of the particles in the number size distribution, one or more external dimensions is in the size range 1 nm - 100 nm.» [63]

Foi ainda determinado um código de conducta para uma investigação responsável em nanociências e nanotecnologias [64]. Em 2012, a comissão adoptou o *Communication on the Second Regulatory Review on Nanomaterials* que descreve os planos da comissão para melhorar a lei europeia e a sua aplicação para assegurar o uso seguro dos nanomateriais [63]. Foi, ainda, acompanhado do *Staff Working Paper on nanomaterial types and uses* que incluiu aspectos de segurança [63].

No que diz respeito à **regulamentação de cosméticos** com nanomateriais, existem directivas nacionais estabelecidas pelo INFARMED [65]. Apenas nanomateriais como corantes, filtros para radiações ultra-violeta (UV), conservantes, entre outros, não são regulados por este regime específico [65]. As especificações solicitadas para este tipo de cosméticos são, principalmente, em termos de datas limites de notificação [65].

Já surgiram, por parte do INFARMED, directivas que permitem regular a indústria dos cosméticos (pessoa responsável) no que diz respeito às normas de avaliação de segurança de nanomateriais utilizados [65]. Estas implicam o cumprimento do disposto no artigo 16º do Regulamento (EC) No 1223/2009 [65]. Foram, ainda, publicadas pela Comissão Europeia a 6 de Julho de 2012, no *Guidance on the Safety Assessment of Nanomaterials in Cosmetics*, normas que ajudam no cumprimento estas orientações [65]. Sucintamente, a pessoa responsável terá de notificar à Comissão Europeia seis meses antes da colocação no mercado do produto cosmético contendo nanomateriais, através do Portal de Notificação Europeu (CNPN) [65].

4.2. A nanotecnologia e a medicina

A **nanomedicina**, a aplicação da nanotecnologia à medicina, cria expectativas altas a milhões de doentes para melhores, mais eficientes e mais acessíveis cuidados de saúde [62]. Surge um novo campo de alternativas na área da nanomedicina que pode actuar quer ao nível do diagnóstico, como do tratamento ou prevenção [44;66], e que está em crescimento [44]. A investigação em nanomedicina tem permitido conhecer melhor o modo de funcionamento do corpo humano a um nível nanométrico e molecular [62]. Diferentes áreas da medicina estão já a usufruir de algumas vantagens que a nanomedicina, em particular, os sistemas de veiculação de fármacos, pode oferecer [62]. Já existem alguns sistemas no mercado com base em nanotecnologias e outros já se encontram em ensaios clínicos [62]. Outro campo interessante na nanomedicina é a parte do diagnóstico [62]. O objectivo é poder identificar a doença num estágio precoce com meios mais eficazes [62]. Finalmente, outro campo é a medicina regenerativa que traz muitas esperanças a doentes com falha orgânica ou com ferimentos severos [62].

As NPs poliméricas têm sido muito utilizadas [1]. Luengo *et al.* encapsularam o ácido flufenâmico em NPs de PLGA com um tamanho de 328,2 nm [1]. A aplicação destas NPs num sistema de células de *Franz* com pele excisada demonstrou um aumento no seu transporte e concentração do fármaco quando comparado com o fármaco não encapsulado e após 24 horas [1]. Lademann *et al.* entre 2006 e 2007 verificaram que as NPs de PLGA, com 5-fluorescamina e um tamanho de 320 nm, em pele de suíno *in vitro* e pele humana *in vivo*, penetraram mais profundamente nos folículos pilosos mas apenas até à segunda camada do SC [1]. Após 10 dias, estas NPs continuaram a ser detectáveis nos folículos e permaneceram 24 horas no SC [1].

4.3. A nanotecnologia e a cosmética

A **nanocosmética** compreende a aplicação da nanotecnologia à cosmética com a utilização de substâncias cosmetologicamente activas. Os produtos cosméticos formulados utilizando a nanotecnologia são utilizados, por exemplo, para conferir uma melhor protecção aos UV, uma penetração mais profunda na pele e qualidade aumentada dos produtos cosméticos [46]. Assim, estas NPs possuem novas propriedades quando comparadas com partículas de larga escala [46]. A sua diminuição de estrutura permite um aumento na estabilidade e prazo

de validade do produto [5]. Um elevado número de empresas biotecnológicas já se encontram a desenvolver nanossistemas para aplicação na pele para promover uma libertação controlada e uma estabilização das substâncias cosmetologicamente activas [67]. Alguns dos efeitos provocados mais interessantes são um aumento na concentração e profundidade de penetração da substância na pele, o que promove um aumento na sua eficácia; na sua estabilidade ao ar e à luz (por exemplo, retinóides e vitamina E) e o controlo do tempo de libertação o que pode permitir um aumento da efectividade [67].

Outra questão interessante relacionada com a encapsulação de substâncias consiste no melhoramento de algumas propriedades, por exemplo nos perfumes, onde seria desejável uma libertação lenta da fragrância durante todo o dia [68]. É de referir que um número elevado de inovações baseadas em nanotecnologias concentra-se numa aplicação cosmética ou num carácter de aplicação na face [69]. Um grande número de patentes tem surgido para produtos como champôs, condicionadores, perfumes, batons, desodorizantes, agentes anti-envelhecimento e *after-shaves* [69].

Durante a formulação de cosméticos, o método mais utilizado é o método de «*top-down*» [58]. Assim se formam, por exemplo, os lipossomas [58] que são o maior grupo de NPs aplicados em nanocosmética [49]. As NPs de óxidos metálicos são muito utilizadas em protectores solares devido à sua estabilidade de longo prazo [1]. As NPs de dióxido de titânio e óxido de zinco têm sido as mais investigadas [1]. Estes compostos têm a capacidade de absorver a energia e dispersam ou reflectem a radiação incidente [1]. Uma das suas vantagens na sua aplicação relaciona-se com a produção de formulações transparentes e com uma eficácia superior [67].

Uma das aplicações da nanocosmética compreende, por exemplo, a encapsulação do ácido hialurónico que apresenta um tamanho de mais de 50.000 nm, o que o torna difícil de penetrar a pele [68]. Neste caso, as NPs de ácido hialurónico permitiram a sua penetração facilitada na pele [68].

As vantagens de ter uma veiculação de NPs com substâncias activas para aplicação na dermocosmética concentra-se na reduzida toxicidade nos tecidos saudáveis, um aumento na estabilidade do fármaco, uma maior absorção celular e tecidual, libertação controlada e, conseqüentemente, biodisponibilidade aumentada [61].

As doenças como a dermatite atópica, acne, dermatite de contacto, psoríase, entre outros, tornam a pele mais permeável [70]. Muitos dos desenvolvimentos na nanotecnologia têm sido feitos como tentativa de tratamento para este tipo de peles [70]. Muitas das NPs são formuladas para penetrar até regiões mais profundas da pele e aumentar a concentração de substâncias cosmetologicamente activas libertadas [70].

4.3. Nanotecnologia aplicada ao tratamento tópico

Uma das aplicações que se investiga na nanotecnologia é a sua aplicação na terapêutica tópica. Pretende-se com esta aplicação superar algumas dificuldades ou problemas que surgem com determinadas substâncias aplicadas topicamente, quer num âmbito da medicina, quer num âmbito da cosmética. Uma acção à superfície da pele muitas vezes pretende ser atingida pela utilização de formulações de cosméticos, repelentes de insectos, anti-fúngicos e desinfectantes [1].

A administração de compostos através da pele pode atingir três regiões diferentes: epiderme, derme ou pode alcançar uma absorção transdérmica [1]. No entanto, para compreender a forma como se pode aplicar a nanotecnologia ao tratamento tópico é necessário primeiro entender quais os processos que influenciam a penetração da nanopartícula através da pele.

De acordo com a absorção de materiais podem ser consideradas dois tipos de vias: pelos apêndices epidérmicos ou através do SC e as camadas inferiores [49]. Apesar dos apêndices epidérmicos serem uma pequena porção da superfície da pele, estes são considerados verdadeiros tecidos-alvo para uma libertação directa devido à profundidade que eles conseguem atingir [49]. Os folículos pilosos são, por isso, um alvo-chave no que diz respeito aos sistemas de NPs [49]. A administração de uma substância através de um apêndice epidérmico, não é por si só um processo de absorção [49]. Os compostos que estão dentro deste continuam fora do corpo, *per si* [49]. No entanto, a acumulação dentro desta estrutura pode levar a uma absorção mais eficiente e rápida face à constituição morfológica dos apêndices [49].

A absorção através do SC pode ser feita por duas vias diferentes: pelos corneócitos ou através dos espaços intercelulares através da matriz lipídica [49]. Existem duas vias diferentes que permitem ao fármaco/composto passar através do SC [1]. São elas: a via intercelular lipídica que passa entre os corneócitos; e a via transcelular que atravessa os corneócitos e os lípidos [1]. A primeira via envolve a permeação do fármaco na matriz

lipídica intercelular [1]. O facto da grande maioria dos fármacos administrados na pele serem hidrofóbicos, justifica o facto de esta ser a via maioritária de absorção de fármacos [1]. A primeira via parece ser a mais apropriada para penetração pois assemelha-se a uma estrutura porosa dando mais difusibilidade; no entanto, trata-se de uma via mais longa [49].

O SC pode ser considerado como um compartimento lipídico, sendo que as camadas mais inferiores apresentam um ambiente mais aquoso [49]. Assim, as moléculas lipofílicas podem ser distribuídas mais facilmente no SC e a penetração é facilitada [49]. A difusão no tecido vivo é favorável às moléculas polares e apenas substâncias com um $\log P$ 1-3 são bem absorvidas na pele [49].

No que diz respeito à aplicação tópica de NPs, os veículos de libertação mais promissores são as NPs poliméricas [49], especialmente, os biomateriais que oferecem características como biocompatibilidade e biodegradabilidade [49]. As SLN, por exemplo, permitem um aumento da permeabilidade do fármaco quando aplicados na pele [49]. No entanto, este aumento da absorção do fármaco não resulta da partícula penetrar na pele mas sim do efeito oclusivo como resultado da cobertura que faz da superfície [49].

Relativamente aos lipossomas, à medida que o seu tamanho é superior a 50 nm, a passagem por difusão passiva deixa de ocorrer e é necessária uma força impulsionadora para 'arrastar' os lipossomas através da pele [49]. O conteúdo de água no SC também é responsável pelo movimento dos lipossomas através dos poros do espaço intracelular [49].

Exemplos investigados desta aplicação tópica incluem os retinóides. Os retinóides apresentam elevados efeitos secundários como a irritação [68] para além da sua instabilidade [68]. A sua nanoencapsulação poderá torná-los mais estáveis, tal como permitirá controlar a sua libertação [68]. Ao nível dos repelentes de insectos, como por exemplo, o N,N-dietil-metatoluamida (DEET), a encapsulação em NPs permitiu um aumento da sua eficácia [68].

As SLN ou NLC têm igualmente demonstrado ser eficientes como absorventes UV em protectores solares ou como veículos de cremes hidratantes [69]. Estas NPs têm sido úteis na incorporação de muitos ingredientes cosméticos como o ácido alfa-lipóico, a coenzima Q-10, a isotretinoína, a nicotinamina, os retinóides e o tocoferol [69].

Capítulo 5. A nanotecnologia aplicada ao tratamento da acne

A farmacoterapia da acne inclui uma variedade de fármacos que podem afectar diferentes etapas e aspectos da patologia [9]. A eficácia dos fármacos anti-acne está bem estudada. No entanto, os efeitos adversos locais como eritema, irritação, secura e descamação continuam a ser realidades muito frequentes (Tabela 3) [9]. A encapsulação de fármacos anti-acne em NPs representa uma alternativa inovadora de minimizar os efeitos secundários, enquanto se preserva ou poderá aumentar a sua eficácia [9]. Tal facto é alcançado através da libertação controlada ou de maior penetração do fármaco na pele e nos folículos pilossebáceos [9]. Os estudos demonstraram que os sistemas de veiculação de fármacos são alternativas interessantes ao tratamento tópico da acne pois, em última instância aumentam a *compliance* do doente [9]. Os nanomateriais e a nanotecnologia têm, assim, o potencial de alterar radicalmente os benefícios dos cosméticos e dos fármacos [58].

Tabela 3. **Efeitos secundários do tratamento tópico da acne**, adaptado de [9].

	Eritema	Descamação	Sensação de queimadura	Resistências
Tretinoína	Muito frequente	Muito frequente	Frequente	Não
Isotretinoína	Frequente	Frequente	Ocasional	Não
Adapaleno	Ocasional	Ocasional	Ocasional	Não
AzA	Ocasional	Ocasional	Frequente	Não
BPO	Frequente	Frequente	Ocasional	Não
Antibióticos	Muito ocasional	Muito ocasional	Muito ocasional	Muito frequente

Enquanto formulações convencionais contêm concentrações mais baixas de agentes anti-acne e tal facto pode levar a resultados menos significativos [9]. O desenvolvimento de novos sistemas de veiculação permite rentabilizar a quantidade de fármacos ou substâncias activas utilizadas [9]. Além disso, a libertação controlada destas substâncias na epiderme, promove a sua veiculação directa para os folículos criando maiores concentrações locais [9].

Os retinóides são exemplos de aplicações positivas da nanotecnologia na sua formulação [69]. São aplicados no tratamento de muitas condicionantes dermatológicas como a acne e

o fotoenvelhecimento [69]. Os derivados da vitamina A modulam o crescimento e a diferenciação das células pela activação da via de transcrição do gene do receptor do ácido retinóico (RAR) e o RXR [69]. A tretinoína em sistemas SLN apresentou uma melhor oclusividade, tolerância na pele e menos irritação [69].

Os lipossomas assumem-se serem a primeira geração de nova veiculação de fármacos e têm sido extensivamente estudados [71]. Inicialmente, a sua aplicabilidade foi estudada pela via parentérica [71]. No entanto, a sua aplicabilidade tópica também foi rapidamente identificada e, nos anos 80, começou a ser bastante estudada como veiculação tópica de fármacos [71]. O primeiro produto de aplicação tópica lipossomal comercializado foi em 1988 com o fármaco econazol [71]. A sua aplicabilidade ao nível da acne foi descoberta quando Lieb *et al.* demonstraram que os lipossomas podem ser direccionados às estruturas sebáceas [71].

Skalko *et al.* prepararam lipossomas com cloreto de clindamicina para o tratamento da acne [71]. No geral, verificaram-se melhores resultados comparativamente à forma comercial de clindamicina [71].

Posteriormente, surgiram estudos em lipossomas com tretinoína [71]. Masini *et al.* determinaram que a concentração de tretinoína na epiderme e derme era significativamente maior para a suspensão com lipossomas comparativamente com o gel de tretinoína [71].

Montenegro *et al.* estudaram a composição e potencial zeta dos lipossomas face à sua penetração através do SC e epiderme [71]. Eles observaram que lipossomas carregados positivamente conduziram a um aumento da permeação da tretinoína comparativamente aos lipossomas neutros e negativamente carregados [71].

Schäfer-Korting *et al.* investigaram a eficácia e tolerabilidade local de uma formulação lipossomal de tretinoína face a uma formulação comercial em gel. Verificaram que a forma lipossomal tinha a mesma eficácia na redução de comedões face ao gel comercial que estava numa maior concentração (0,01% e 0,025%, respectivamente) [71]. Também se verificou que ao nível da tolerabilidade, a forma lipossomal apresentava um maior índice de tolerabilidade [71].

Patet *et al.* encapsularam BPO em lipossomas e incorporaram-nos posteriormente num gel [71]. Em testes de difusão *in vitro*, os mesmos autores verificaram que ocorreu uma redução significativa do fluxo para os lipossomas de BPO quando comparados com os géis normais de BPO [71]. Os fármacos, eritromicina e BPO, verificaram que apresentam sinergismo e podem ser benéficos no tratamento da acne em associação [71]. A utilização de lipossomas permite a sua associação favorável.

No sentido de entender o estado da arte da investigação que está a ser feita na área da nanotecnologia aplicada ao tratamento da acne, será apresentada nos subcapítulos seguintes uma pesquisa feita nas publicações existentes sobre o tema e que relatam os desenvolvimentos mais recentes nesta área.

5.1. Objectivo

O objectivo foi pesquisar na base de dados *online* «Pubmed» novas terapêuticas medicamentosas que estejam a ser investigadas ou que já se encontrem comercializadas aplicadas ao tratamento da acne.

5.2. Métodos

Após pesquisa no «Pubmed» sobre novas terapias medicamentosas aplicadas à acne foram identificadas novas descobertas. A pesquisa foi feita com base nos seguintes pressupostos:

- ◆ Palavras-chave: «acne»+«nanotechnology», sem intervalo de tempo especificado (pesquisa a 16 de Outubro de 2013): 9 resultados dos quais elegíveis 5, com categoria seleccionada de pesquisa - «Pubmed»;
- ◆ Palavras-chave: «acne»+«nanoparticles», sem intervalo de tempo especificado (pesquisa a 16 de Outubro de 2013): 34 resultados dos quais elegíveis 13, com categoria seleccionada de pesquisa - «Pubmed»;
- ◆ Palavras-chave: «acne»+«nanotechnology», sem intervalo de tempo especificado (pesquisa a 7 de Novembro de 2013): 39 resultados dos quais elegíveis 0, com categoria seleccionada de pesquisa - «PMC»;
- ◆ Palavras-chave: «acne»+«nanoparticles», sem intervalo de tempo especificado (pesquisa a 7 de Novembro de 2013): 79 resultados dos quais elegíveis 10, com categoria seleccionada de pesquisa - «PMC».

.Os critérios de exclusão compreenderam os seguintes parâmetros:

- ◆ artigos que mencionavam a mesma descoberta;
- ◆ artigos não originais (incluindo artigos de revisão);
- ◆ artigos que não referiam uma aplicação tópica;

- ♦ artigos que não se enquadravam nas especificações referidas no objectivo desta pesquisa.

5.3. Resultados

Munster *et al.* (2005) apresentaram um novo pró-fármaco anti-androgénios *RU 58841-myristate* para terapêutica tópica [72]. Este pró-fármaco foi encapsulado em SLN [72]. Este complexo de SLN foi detectado intacto após 24 horas nos folículos pilosos de suínos [72].

Stecová *et al.* (2007) encapsularam acetato de ciproterona em SLN, NLC, nanoemulsões e microesferas com o intuito de aumentar a permeação do fármaco na pele [73]. Verificou-se que com as SLN, a penetração na pele era 4 vezes superior à nanoemulsão e ao creme comercial [73]. Com NLC e microesferas, a penetração foi entre 2 a 3 vezes mais que os referidos [73].

Castro *et al.* (2009) investigaram a influência da formação do emparelhamento iónico entre *all-trans* tretinoína e o estearilamina (amina lipofílica) na estabilidade das SLN [74]. A eficiência de encapsulação ao longo de 360 dias foi superior nas NPs que apresentaram este emparelhamento iónico [74]. Demonstraram, ainda, em testes de irritação cutânea, que se verificava uma menor irritação nestas comparativamente a um creme comercial de tretinoína [74]. Shah *et al.* (2009) prepararam também SLN de tretinoína com sucesso [75]. No entanto, não foram realizados estudos de eficácia [75].

Yang *et al.* (2009) encapsularam ácido láurico em lipossomas para corrigir a fraca solubilidade em água deste composto [76]. Foi verificado que a actividade do composto se mantinha com a forma lipossomal [76]. Assim, verificou-se que o lipossoma passava através da membrana bacteriana libertando o composto com maior eficácia [76].

Kaur *et al.* (2010) tentaram resolver o problema da irritação tópica provocada pela isotretinoína com a sua complexação com ciclodextrinas [77]. Verificaram, posteriormente, que a utilização deste sistema reduzia a irritação da pele mantendo a sua actividade ao mesmo tempo que reduzia a foto-degradação e prolongava a acção do fármaco [77].

Pompattananangkul *et al.* (2010) adsorveram à camada externa dos lipossomas, AuNP modificados no grupo carboxilo [78]. Estes dois tipos de NPs têm uma relação simbiótica porque previnem a fusão dos lipossomas entre si em ambientes neutros a par da estabilização conferida às AuNP em ambientes acídicos [78]. Foram criados para corrigir lesões que incluem a acne [78].

Pannu *et al.* (2011) produziram formulações com NB-003 e gel com NB-003 (nanoemulsões óleo-em-água) para aplicar em patologias com infecções bacterianas como a acne [79]. Este fármaco é bactericida contra a bactéria *P. acnes* e espécies resistentes a múltiplos fármacos [79]. A formulação demonstrou ser mais eficaz que fármacos comercialmente utilizados para o tratamento da acne como a eritromicina, clindamicina e tetraciclina [79]. Um facto interessante é que os autores ao juntarem BPO e ácido salicílico ao NB-003, verificaram que esta solução tinha a mesma eficácia que o NB-003 sozinho [79].

Inui *et al.* (2011) estudaram a eficácia de um gel de fulereno no tratamento da acne [80]. Verificaram que o número de lesões inflamatórias e pústulas diminuiu significativamente [80]. A produção de sebo foi inibida com uma concentração de fulereno na ordem dos 75 μM [80]. Sugeriram, ainda, que o mecanismo de acção do fulereno passa por uma diminuição na infiltração dos neutrófilos mas também por uma diminuição na produção de sebo [80].

Kumar *et al.* (2011) prepararam uma nanoemulsão com ácido oleico como fase oleosa e encapsulou nadifloxacina [81]. Este estudo não demonstrou resultados superiores em termos de eficácia face à *P. acnes* quando comparada com clindamicina não encapsulada [81].

Ouriq *et al.* (2011) prepararam nanocápsulas poliméricas com tretinoína encapsulada o que permitiu aumentar a fotoestabilidade do fármaco [82]. No entanto, verificou-se uma diminuição da permeabilidade na pele e o *lag time* foi superior à não encapsulada, o que significa que o fármaco ficou mais tempo na superfície da pele [82].

Castro *et al.* (2011) desenvolveram com sucesso um estudo que tinha como objectivo a diminuição da irritação causada pela tretinoína através da utilização de SLN, mantendo os efeitos comedolíticos com uma concentração de 0,01% e 0,05% [83].

Domínguez-Delgado *et al.* (2011) prepararam NPs de Eudragit® E100 com triclosan [84]. O tamanho das NPs foi inferior a 300 nm [84]. Os autores deste estudo sugerem que as propriedades destas NPs permitiram uma penetração preferencial através dos folículos pilosos e que, nessa área, formar-se-ia um depósito onde posteriormente o fármaco seria libertado e exerceria a sua função no tratamento da acne [84].

Patel *et al.* (2011) tentaram corrigir a foto-instabilidade da isotretinoína através da sua encapsulação numa microemulsão que gerou partículas com um tamanho de aproximadamente 45 nm [84]. Os resultados foram igualmente positivos [85].

Mais recentemente, Prasad *et al.* (2012) prepararam uma nanoemulsão com adapaleno a 0,1% e com clindamicina a 1% para o tratamento da acne [86]. Verificou-se uma diminuição

das lesões inflamatórias e não inflamatórias na presença da nanoemulsão bem como uma menor incidência de efeitos adversos [86].

Inui *et al.* (2012) estudaram os efeitos inibitórios *in vitro* de fulerenos polihidroxilados na produção de sebo em sebócitos de hamster e na actividade da lipase da *P. acnes* [87]. Foi observada uma redução na produção de sebo em células irradiadas com raios UVB, o que indica que o fulereno é um supressor dos sebócitos mas apenas sobre condições de *stress* oxidativo [87]. Esta formulação também demonstrou efeito inibitório em relação à lipase da *P. acnes* [87].

Ridolfi *et al.* (2012) prepararam SLN de quitosano com tretinoína encapsulada para compensar os seus problemas de instabilidade química e efeitos secundários [88]. Os ensaios de citotoxicidade desenvolvidos demonstraram que a formulação não é citotóxica com queratinócitos e demonstrou alta actividade antimicrobiana com a *P. acnes* [88].

Wichit *et al.* (2012) formularam micelas de PEG conjugado com fosfatidietanolamina para estabilizar *all-trans* tretinoína [89]. O tamanho das micelas situou-se entre os 6-20 nm [89]. A *all-trans* tretinoína apresentou degradação mais lenta em contacto com a atmosfera [89]. No entanto, este produto não tem um período de validade extenso, o que constitui um problema [89].

Borges *et al.* (2013) formularam uma nanoemulsão com dapsona para o tratamento tópico da acne, no sentido de corrigir algumas das suas propriedades físico-químicas, como a fraca solubilidade em água [90]. O desenvolvimento desta formulação permitiu também um aumento na permeação da pele [90].

Borges *et al.* (2013) desenvolveram uma nanoemulsão com dapsona com isopropilmiristato ou metilpirrolidona como fase oleosa para aplicação em dermatologia e para alívio dos sintomas em doenças como acne mas também sarcoma de Kaposi, entre outros [91].

Neste ano, Friedman *et al.* (2013) testaram *in vitro* a actividade antimicrobiana e anti-inflamatória de NPs de quitosano-alginato em relação a *P. acnes* [92]. Provou-se que esta acção se devia a uma disrupção da sua membrana celular [92]. O BPO foi posteriormente encapsulado neste sistema e este estudo demonstrou um aumento na eficácia contra a *P. acnes* quando comparado com o fármaco sozinho [92]. Em termos de toxicidade, esta formulação demonstrou ainda ter menos toxicidade nas células eucarióticas quando comparado com o fármaco sozinho [92].

Lin *et al.* (2013) desenvolveram nanoveículos lipídicos (nanoemulsões óleo-em-água e veículos lipídicos nanoestruturados) com tretinoína e tetraciclina para o tratamento da *acne vulgaris* [93]. Este foi o primeiro registo de um nanoveículo com dois compostos

encapsulados para uma mesma indicação com testes de permeabilidade na pele e de actividade antibacteriana [93].

Raza *et al.* (2013) desenvolveram nanoveículos (SLN e NLC) de isotretinoína que demonstraram ter igualmente uma maior actividade antimicrobiana para além do aumento de permeação do fármaco [94]. Estes resultados foram explicados com base numa maior adesão dos veículos à membrana bacteriana mas também à libertação directa do fármaco no local de acção [94].

Finalmente, o nosso grupo, Reis *et al.* (2013) encapsularam AZA em NPs de PLGA (Figura 8) para aumentar a *compliance* dos doentes ao tratamento da acne face à diminuição dos efeitos secundários e um aumento de eficácia [95]. O tamanho médio das NPs foi na ordem dos 400 nm [95]. Segundo a literatura, este tamanho de partícula é o ideal para aumentar a retenção da formulação nos folículos pilosebáceos, isto é, no local onde ocorre a proliferação da *P. acnes* [95]. Nos ensaios *in vitro*, verificou-se que a libertação do fármaco ocorria de acordo com um perfil pulsátil e controlado ao longo do tempo [95]. Verificou-se, ainda, que a libertação total do fármaco ocorreu após aproximadamente 3 dias [95].

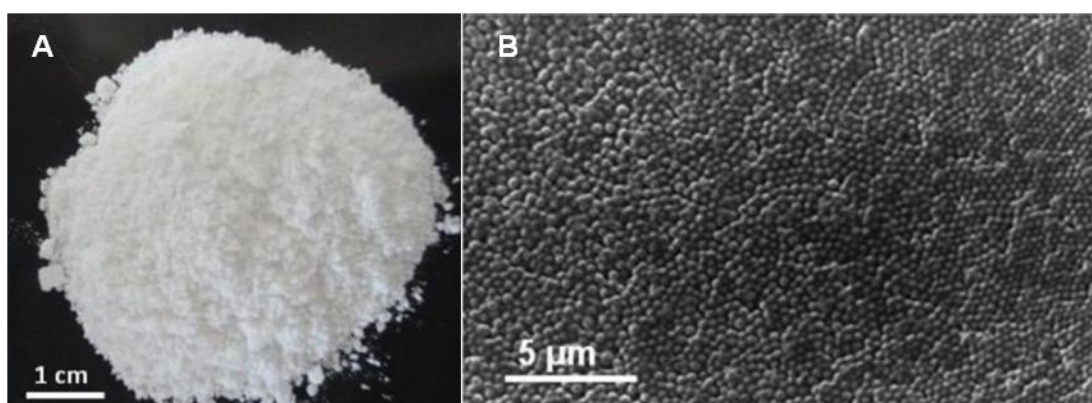


Figura 8. Aspecto macroscópico e microscópico das NPs de PLGA com AzA. A: Aspecto macroscópico das NPs de PLGA carregadas com AzA; B: Micrografia por microscopia electrónica de varrimento (SEM) das NPs de PLGA carregadas com AzA, adaptado de [95].

Para aumentar a eficácia do fármaco, foi também utilizado um gel de carbopol com um pH baixo ($\text{pH} < 5$) de forma a criar as condições ideais de máxima eficácia para o fármaco, visto que este se torna mais eficaz em pH baixo [95]. Em ensaios com bactérias *P. acnes*, foi verificada uma manutenção da actividade face ao fármaco não encapsulado [95]. Isto confirma que o polímero PLGA não tem influência na actividade do fármaco afectando apenas a sua distribuição e direccionamento preferencial ao local de acção [95]. Foi ainda

classificado o produto final obtido, após a sua incorporação no gel, como produto anti-acne, sendo que as suas aplicações e vantagens foram identificadas (Apêndice 2.)

Discussão e conclusão

A nanotecnologia é uma área promissora que tem demonstrado nos últimos anos resultados surpreendentes e inovadores [38]. Segundo a *Food Drug administration (FDA)* observa-se anualmente um aumento de cerca de 70% dos novos produtos que se baseiam em nanotecnologias [38].

A nanotecnologia já se encontra introduzida na nossa sociedade em protectores solares, produtos de limpeza, roupas e cosméticos [67;68]. Muitos fabricantes destes produtos referem as vantagens que a aplicação deste tipo de nanotecnologia nos seus produtos [67]. No entanto, para que a nanotecnologia tenha sucesso é necessário que as questões relacionadas com a toxicidade sejam resolvidas [3] e os novos métodos de pesquisa de propriedades e características das NPs sejam devidamente desenvolvidos com uma regulamentação específica.

Não obstante da importância destas tecnologias, os riscos para a saúde humana ainda não estão suficientemente esclarecidos, como acontece com os restantes medicamentos [38]. Apesar de todos os sistemas referidos anteriormente serem considerados seguros, não deixam de ser corpos estranhos ao organismo humano, como acontece com os restantes medicamentos [38]. Neste momento, a investigação, desenvolvimento, e produção de nanomateriais estão a ultrapassar a velocidade com que a informação toxicológica está a ser adquirida [39]. Isto poderá constituir um problema num futuro próximo. No entanto, tendo por base o capítulo da regulamentação é importante ter em conta que existe uma preocupação crescente por parte da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e FDA no sentido de criar condições e regulamentos que permitam uma investigação e entrada no mercado de nanomateriais segura e consistente.

Nesta dissertação, foi feita uma abordagem geral sobre a nanotecnologia e a sua aplicação no tratamento da acne. Tentaram-se responder a algumas questões pertinentes que nos permitiram compreender que ainda falta correlacionar significativamente todos os aspectos que implicam a patogénese e o desenvolvimento da acne. Após conhecer a terapêutica nacional aplicada para o tratamento desta patologia, tal como os seus co-adjuvantes,

ficaram claros quais os aspectos que se pretendem corrigir ao nível da eficácia e frequência de efeitos secundários. É clara a escassez de alternativas terapêuticas que atinja todos os pontos da patogénese da acne. Assim, novas alternativas são necessárias, sendo que aqui se enquadra a nanomedicina e nanocosmética.

Através da pesquisa efectuada, verificou-se que existe ainda pouca investigação na área do tratamento da acne com base nestas tecnologias. As substâncias que se verificaram mais susceptíveis de estudo foram a tretinoína, hormonas e o AzA. Foi verificado que já existem bons resultados no que diz respeito à diminuição da ocorrência de efeitos secundários mas também no que se relaciona com um aumento de eficácia. É importante referir a investigação feita na aplicação dos fulerenos sozinhos como terapêutica anti-acne e os seus avanços. Pela quantidade de pesquisas realizadas e pelos efeitos positivos produzidos é de supor que mais investigação irá decorrer nesta área. Os resultados verificados na investigação feita em NPs de AzA também demonstram ser uma alternativa eficaz no tratamento da acne. Os resultados em bactérias foram promissores, tal como o perfil de libertação alcançado que sugere que este medicamento poderá utilizado através de uma única aplicação diária ou de três em três dias.

Com base no conhecimento adquirido, é de prever uma mudança no sentido da investigação, no que diz respeito ao tratamento da acne, prevendo-se que esta irá incidir no desenvolvimento de alternativas que impliquem um aumento de eficácia e uma diminuição nos efeitos secundários dos produtos já aplicados, mas com base na nanotecnologia. Assim, conseguimos aumentar a *compliance* do doente, aumentar a sua auto-estima e coesão social a par de um contributo cada vez mais significativo da melhoria da qualidade de vida dos doentes que sofrem de *acne vulgaris* e reduzir a probabilidade de ocorrência de efeitos mais graves.

Perspectivas futuras

Como perspectivas futuras é necessário ter em conta que a nanotecnologia está em forte crescimento e que requer mais investigação, quer ao nível das suas potencialidades terapêuticas, como ao nível de um melhor estudo da sua toxicidade e efeitos no organismo humano. É também necessário estudar melhor as interações das NPs com a pele saudável e doente. O transporte das NPs ao nível da pele e a importância do seu tamanho na sua

distribuição dentro das unidades pilosebáceas também necessitam de ser melhor compreendidos.

Conforme novos produtos nesta área vão sendo investigados é necessário criar métodos padronizados de caracterização das NPs por todo o mundo. É necessário uma interligação e partilha de conhecimentos entre a UE e o resto do mundo no que diz respeito aos aspectos de segurança da nanotecnologia, principalmente, no campo da medicina. Ao nível da medicina e cosmética é necessário, ainda, avaliar a distribuição das NPs pelo organismo face a uma aplicação tópica, com o objectivo principal de obtermos produtos mais seguros e eficazes.

Referências bibliográficas

- [1] Lane, M. E. Nanoparticles and the skin – applications and limitations. *J Microencapsul.* 2011; 28(8): 709–716. PMID: 21767116
- [2] Bhadauria, A. e Patel, R. P. Role of Nanotechnology in Cancer Therapy and Diagnosis. *IJTA.* 2012; 5; 21-28
- [3] Nasir, A. Nanodermatology: a glimpse of caution just beyond the horizon - part II. *Skin Therapy Lett.* 2010;15(9):4-7. PMID: 20945053
- [4] Tanaka, T.; Decuzzi, P.; Cristofanilli, M.; Sakamoto, J. H.; Tasciotti, E.; Robertson, F. M. e Ferrari, M. Nanotechnology for breast cancer therapy. *Biomed Microdevices.* 2009;11(1):49-63. PMID: 18663578
- [5] Gianella, A.; Jarzyna, P. A.; Mani, V.; Ramachandran, S.; Calcagno, C.; Tang, J.; Kann, B.; Dijk, W. J.; Thijssen, V. L.; Griffioen, A. W.; Storm, G.; Fayad, Z. A. e Mulder, W. J. Multifunctional nanoemulsion platform for imaging guided therapy evaluated in experimental cancer. *ACS Nano.* 2011;5(6):4422-4433. PMID: 21557611
- [6] Baumann, L. e Keri, J. Chapter 15: Acne (type 1 sensitive skin). *Em Cosmetic Dermatology: Principles and Practices.* Baumann, L. (ed). The mcgraw-hill companies, inc. 2009;2: 121-127
- [7] Carton, J.; Daly, R. e Ramani, P. Chapter 16: skin disease. *Em Clinical Pathology.* Oxford University press. 2007: 389.
- [8] Fattal, E. e Vouthier, C. Nanoparticles as drug delivery systems. *Em Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.* Marcel Dekker (cords). Swarbrick, J. e Boylan, J. C. (eds.). 2002; 2(2):1864-1882

- [9] Castro, G. A. e Ferreira, L. A. Novel vesicular and particulate drug delivery systems for topical treatment of acne. *Expert Opin Drug Deliv.* 2008;5(6):665-679. PMID: 18532922
- [10] Capítulo 5 sistema tegumentar Parte 2 suporte e movimento. *Em Anatomia & fisiologia.* Tate, S. S. (ed). McGraw-Hill Higher Education. 2003;6:150-170
- [11] Gaur, P. K.; Purohit S.; Kumar Y.; Mishra S. e Bhandari A.. Preparation, characterization and permeation studies of a nanovesicular system containing diclofenac for transdermal delivery. *Pharm Dev Technol.* 2013. PMID: 23281714 (*Epub ahead of print*)
- [12] Imagem retirada do site: <http://hmsportugal.files.wordpress.com/2011/05/100915228.jpg>, consultado a 21-10-2013
- [13] Oláh, A.; Szöllösi, A. G. e Bíró, T. The channel physiology of the skin. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2012;163:65-131. PMID: 23184015
- [14] Makrantonaki, E.; Ganceviciene, R. e Zouboulis, C. An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne. *Dermatoendocrinol.* 2011; 3(1): 41-49. PMID: 21519409
- [15] Chapter 1. Anatomy and Physiology of the Hair and Skin. *Section I Scientific Considerations.* 1-17
- [16] Barankin, B. e DeKoven, J. Psychosocial effect of common skin diseases. *Can Fam Physician.* 2002;48:712-716. PMID: 12046366
- [17] Epidemiology and Management of Common Skin Diseases in Children in Developing Countries. Department of Child and Adolescent Health and Development. *WHO.* 2005
- [18] Common Skin Disorders. Mitchell, T. e Kennedy, C. (eds). Churchill livingstone (ed). *Elsevier.* 2006
- [19] Pawin, H.; Beylot, C.; Chivot, M.; Faure, M.; Poli, F.; Revuz, J. e Dréno, B. Physiopathology of acne vulgaris: recent data, new understanding of the treatments. *Eur J Dermatol.* 2004; 14(1):4-12. PMID: 14965788
- [20] Storm, C. A. e Elder, D. E. Chapter 24: The Skin. *Em Essentials of Rubin's Pathology.* Rubin, E. e Meisner, H. M.. Lippincott Williams&Wilkins. 2009;5:512.,
- [21] Taylor, M.; Gonzalez, M. e Porter, R. Pathways to inflammation: acne pathophysiology. *Eur J Dermatol.* 2011;21(3):323-33. PMID: 21609898
- [22] Figueiredo, A.; Massa, A.; Picoto, A.; Pinto Soares, A.; Sousa Basto, A.; Lopes, C.; Resende, C.; Rebelo, C.; Menezes Brandão, F.; Marques Pinto, G.; Schönenberger de Oliveira, H.; Selores, M.; Gonçalo, M. e Tavares Bello, R. Avaliação e tratamento do doente com acne – Parte I: Epidemiologia, etiopatogenia, clínica, classificação, impacto

- psicossocial, mitos e realidades, diagnóstico diferencial e estudos complementares. *Rev Port Clin Geral*. 2011;27:59-65
- [23] Deplewski, D. e Rosenfield, R. L. Role of hormones in pilosebaceous unit development. *Endocr Rev*. 2000;21(4):363-392. PMID: 10950157
- [24] Brenner, F. M.; Rosas, F. M.; Gadens, G.; Sulzbach, M. L.; Carvalho, V. G. e Tamashiro, V. Acne: um tratamento para cada paciente. *Rev. Ciênc. Méd.* 2006 15(3):257-266.
- [25] Figueiredo, A.; Massa, A.; Picoto, A.; Pinto Soares, A.; Sousa Basto, A.; Lopes, C.; Resende, C.; Rebelo, C.; Menezes Brandão, F.; Marques Pinto, G.; Schönenberger de Oliveira, H.; Selores, M.; Gonçalo, M. e Tavares Bello, R. Avaliação e tratamento do doente com acne – Parte II: Tratamento tópico, sistémico e cirúrgico, tratamento da acne na grávida. *Rev Port Clin Geral*. 2011;27:66-76
- [26] Thielitz, A.; Abdel-Naser, M. B.; Fluhr, J. W.; Zouboulis, C. C. e Gollnick, H. Topical retinoids in acne--an evidence-based overview. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2008;6(12):1023-1031. PMID: 18479477
- [27] Prontuário terapêutico online.
Site: <http://www.infarmed.pt/prontuario/framepesactivos.php?palavra=per%F3xido+de+benzoi+lo&x=-1118&y=-44&rb1=0>, consultado a 2 de Outubro de 2013
- [28] Brunton, L. L.; Lazo, J. S. e Parker, K. L. Chapter 62. Dermatological pharmacology section XIII. *Em Dermatology. Goodman E Gilman's. The Pharmacological Basis of therapeutics*. The Mc Graw-Hill companies. Inc. 2006;11: 1701.
- [29] Goldberg, D. J. e Berlin, A. *Acne and Rosacea. Epidemiology, diagnosis and treatment*. Manson Publishing Ltd. 2012
- [30] Part IIIa common inflammatory skin diseases. Chapter 15. Acne vulgaris. *Em Evidence-based dermatology*. Blackwell publishing. Luigi Naldi (ed). 2008;2:91
- [31] Helms, R. A.; Quan, D. J.; Herfindal, E. T. e Gourley, D. R. Chapter 10. Common skin disorders. *Em Textbook of therapeutics. Drug and disease management*. Lippincott Williams&Wilkins. 2006;8:211
- [32] Gravidez e utilização segura de fármacos. *Em Boletim de Farmacovigilância*. INFARMED. 2001; 5(2): 1-4
- [33] Imagem retirada do site:
http://www.pfdb.net/photo/nishiyama_y/box20010917/wide/002.jpg, consultado a 21-10-2013
- [34] Benzac 5, RCM, INFARMED
- [35] Magin, P.; Pond, D. e Smith, W. Isotretinoin, depression and suicide: a review of the evidence. *Br J Gen Pract*. 2005;55(511):134-8. PMID: 15720936

- [36] DeLouise, L. A. Applications of nanotechnology in dermatology. *J Invest Dermatol*. 2012;132(3 Pt 2):964-975. PMID: 22217738
- [37] Hubbs, A. F.; Mercer, R. R.; Benkovic, S. A.; Harkema, J.; Sriram, K.; Schwegler-Berry, D.; Goravanahally, M. P.; Nurkiewicz, T. R.; Castranova, V. e Sargent, L. M. Nanotoxicology--a pathologist's perspective. *Toxicol Pathol*. 2011;39(2):301-324. PMID: 21422259
- [38] Reis, Ana C. B. P. Micro e Nanopartículas Biomacromoleculares (Polissacarídicas, Proteicas e Peptídicas). *Em Novas Formas Farmacêuticas Para Administração de Fármacos*, ed. Eliana Souto - Universidade Fernando Pessoa. 2011. 199-236
- [39] *Nanotoxicity: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology. Reineke, J. (ed.). 926:1-410
- [40] Lane, M. E. Nanoparticles and the skin--applications and limitations. *J Microencapsul*. 2011;28(8):709-716. PMID: 21767116
- [41] Song, S. Y. Future direction of nanomedicine in gastrointestinal cancer. *Korean J Gastroenterol*. 2007;49(5):271-279. PMID: 17525514
- [42] Lim, E. K.; Jang, E.; Lee, K.; Haam, S. e Huh, Y. M. Delivery of Cancer Therapeutics Using Nanotechnology. *Pharmaceutics*. 2013; 5: 294-317
- [43] Yin, P.; Wang, Y.; Qiu, Y.; Hou, L.; Liu, X.; Qin, J.; Duan, Y.; Liu, P.; Qiu, M. e Li, Q. Bufalin-loaded mPEG-PLGA-PLL-cRGD nanoparticles: preparation, cellular uptake, tissue distribution, and anticancer activity. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:3961-3969. PMID: 22888239
- [44] Ranganathan, R.; Madanmohan, S.; Kesavan, A.; Baskar, G.; Krishnamoorthy, Y.R.; Santosham, R.; Ponraju, D.; Rayala, S. K.; Venkatraman, G. Nanomedicine: towards development of patient-friendly drug-delivery systems for oncological applications. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:1043-1060. PMID: 22403487
- [45] Jeong, Y. I.; Chung, K. D.; Kim, da H.; Kim, Y. H.; Lee, Y. S. e Choi, K. C. All-trans retinoic acid-incorporated nanoparticles of deoxycholic acid-conjugated dextran for treatment of CT26 colorectal carcinoma cells. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:485-93. PMID: 23390366
- [46] Raj, S.; Jose, S.; Sumod, U. S. e Sabitha, M. Nanotechnology in cosmetics: Opportunities and challenges. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012;4(3):186-193. PMID: 22923959
- [47] Imagem adaptada do site:
<http://chem553project.wikispaces.com/Synthesis+of+aqueous+Gold+Nanoparticles>,
consultado a 2-10-2013
- [48] Jain, S.; Hirst, D. G. e O'Sullivan, J. M. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *Br J Radiol*. 2012;85(1010):101-113. PMID: 22010024

- [49] Chan, J. M.; Valencia, P. M.; Zhang, L.; Langer, R. e Farokhzad, O. C. Polymeric nanoparticles for drug delivery. *Methods Mol Biol.* 2010;624:163-75. PMID: 20217595
- [50] Kanlayavattanukul, M. e Lourith, N. Therapeutic agents and herbs in topical application for acne treatment. *Int J Cosmet Sci.* 2011;33(4):289-97. PMID: 21401650
- [51] Martinho, N.; Damgé, C. e Reis, C., Recent Advances in Drug Delivery Systems. *J Biomater Nanobiotechnol.* 2011; 2(5): 510-526.
- [52] Bleve, M.; Pavanetto, F. e Perugini, P. Solid Lipid Nanoparticles : Technological Developments and in Vivo Techniques to Evaluate Their Interaction with the Skin Bleve. 2008
- [53] Generally Recognized as Safe (GRAS).
Site: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/> , consultado a 2-10-2013
- [54] Jain, J.; Arora, S.; Rajwade, J.M.; Omay, P.; Khandelwal, S. e Paknikar, K. M. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. *Mol Pharm.* 2009;6(5):1388-401. PMID: 19473014
- [55] Haq, A. I.; Allen, C.; Grange, P. e Arya, M. Expanding role of nanotechnology in the management of colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009;9(2):157-9. PMID: 19192953
- [56] Bharali, D. J.; Khalil, M.; Gurbuz, M.; Simone, T. M. e Mousa, S. A. Nanoparticles and cancer therapy: a concise review with emphasis on dendrimers. *Int J Nanomedicine.* 2009;4:1-7. PMID: 19421366
- [57] Im-Emsap, W.; Siepmann, J. e Paeratakul, O. Chapter 9. Disperse systems. *Modern Pharmaceutics.* Swarbrick, J. (eds). Marcel Dekker, Inc. 2002; 121(4): 269-271
- [58] Pinto Reis, C.; Neufeld, R. J.; Ribeiro, A. J. e Veiga, F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine.* 2006; 2(1):8-21. PMID: 17292111
- [59] Morganti, P. Use and potential of nanotechnology in cosmetic dermatology. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2010;3:5-13. PMID: 21437055
- [60] Russell, J.J. Topical therapy for acne. *Am Fam Physician.* 2000;61(2):357-66. PMID: 10670502
- [61] Hia, J. e Nasir, A. Photonanodermatology: the interface of photobiology, dermatology and nanotechnology. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2011;27(1):2-9. PMID: 21198876

-
- [62] The challenge. *Nanomedicine: European Technology Platform*. Site: <http://www.etp-nanomedicine.eu/public/about/objectives-mission>, consultado a 12-10-2013
- [63] The european policy. Site: http://ec.europa.eu/nanotechnology/policies_en.html, consultado a 12-10-2013
- [64] Commission recommendation on a code of conduct for responsible nanosciences and nanotechnologies research. Site: http://ec.europa.eu/research/science-society/document_library/pdf_06/nanocode-apr09_en.pdf, consultado a 12-10-2013
- [65] Gomes, M. V. Orientações para a avaliação de segurança de nanomateriais em produtos cosméticos. Circular informativa. *INFARMED*. N.º160/CD/8.1.6 de 20707/2012
- [66] Haq, A. I.; Allen, C.; Grange, P. e Arya, M. Expanding role of nanotechnology in the management of colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009;9(2):157-159. PMID: 19192953
- [67] Thomas, T.; Thomas, K.; Sadrieh, N.; Savage, N.; Adair, P. e Bronaugh, R. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part VII: evaluating consumer exposure to nanoscale materials. *Toxicol Sci*. 2006;91(1):14-19. PMID: 16476686
- [68] Nasir, A. Nanodermatology: a glimpse of caution just beyond the horizon - part I. *Skin Therapy Lett*. 2010;15(8):1-4. PMID: 20844848
- [69] Saraceno, R.; Chiricozzi, A.; Gabellini, M. e Chimenti, S. Emerging applications of nanomedicine in dermatology. *Skin Res Technol*. 2013;19(1):13-19. PMID: 22175818
- [70] Nasir, A. Nanotechnology and dermatology: part II--risks of nanotechnology. *Clin Dermatol*. 2010;28(5):581-8. PMID: 20797523
- [71] Date, A. A.; Naik, B. e Nagarsenker, M. S. Novel drug delivery systems: potential in improving topical delivery of antiacne agents. *Skin Pharmacol Physiol*. 2006;19(1):2-16. PMID: 16247244
- [72] Münster, U.; Nakamura, C.; Haberland, A.; Jores, K.; Mehnert, W.; Rummel, S.; Schaller, M.; Korting, H. C.; Zouboulis, Ch. C.; Blume-Peytavi, U. e Schäfer-Korting, M. RU 58841-myristate--prodrug development for topical treatment of acne and androgenetic alopecia. *Pharmazie*. 2005;60(1):8-12. PMID: 15700772
- [73] Stecová, J.; Mehnert, W.; Blaschke, T.; Kleuser, B.; Sivaramakrishnan, R.; Zouboulis, C. C.; Seltmann, H.; Korting, H. C.; Kramer, K. D. e Schäfer-Korting, M. Cyproterone acetate loading to lipid nanoparticles for topical acne treatment: particle characterisation and skin uptake. *Pharm Res*. 2007;24(5):991-1000. PMID: 17372681
- [74] Castro, G. A.; Coelho, A. L.; Oliveira, C. A.; Mahecha, G. A.; Oréfice, R. L. e Ferreira, L. A. Formation of ion pairing as an alternative to improve encapsulation and stability and to
-

- reduce skin irritation of retinoic acid loaded in solid lipid nanoparticles. *Int J Pharm.* 2009;381(1):77-83. PMID: 19647057
- [75] Shah, K. A.; Joshi, M. D. e Patravale, V. B. Biocompatible microemulsions for fabrication of glyceryl monostearate solid lipid nanoparticles (SLN) of tretinoin. *J Biomed Nanotechnol.* 2009;5(4):396-400. PMID: 20055085
- [76] Yang, D.; Pornpattananankul, D.; Nakatsuji, T.; Chan, M.; Carson, D.; Huang, C. M. e Zhang, L. The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against *Propionibacterium acnes*. *Biomaterials.* 2009;30(30):6035-6040. PMID: 19665786
- [77] Kaur, N.; Puri, R. e Jain, S. K. Drug-cyclodextrin-vesicles dual carrier approach for skin targeting of anti-acne agent. *AAPS PharmSciTech.* 2010;11(2):528-537. PMID: 20333488
- [78] Pornpattananankul, D.; Olson, S.; Aryal, S.; Sartor, M.; Huang, C. M.; Vecchio, K. e Zhang, L. Stimuli-responsive liposome fusion mediated by gold nanoparticles. *ACS Nano.* 2010;4(4):1935-1942. PMID: 20235571
- [79] Pannu, J.; McCarthy, A.; Martin, A.; Hamouda, T.; Ciotti, S.; Ma, L.; Sutcliffe, J. e Baker, J. R. Jr. *In vitro* antibacterial activity of NB-003 against *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(9):4211-4217
- [80] Inui, S.; Aoshima, H.; Nishiyama, A. e Itami, S. Improvement of acne vulgaris by topical fullerene application: unique impact on skin care. *Nanomedicine.* 2011;7(2):238-241. PMID: 20887812
- [81] Kumar, A.; Agarwal, S. P.; Ahuja, A.; Ali, J.; Choudhry, R. e Baboota, S. Preparation, characterization, and in vitro antimicrobial assessment of nanocarrier based formulation of nadifloxacin for acne treatment. *Pharmazie.* 2011 Feb;66(2):111-114. PMID: 21434572
- [82] Ourique, A. F.; Melero, A.; de Bona da Silva, C.; Schaefer, U. F.; Pohlmann, A. R.; Guterres, S. S.; Lehr, C. M.; Kostka, K. H. e Beck, R. C. Improved photostability and reduced skin permeation of tretinoin: development of a semisolid nanomedicine. *Eur J Pharm Biopharm.* 2011;79(1):95-101. PMID: 21402157
- [83] Castro, G. A.; Oliveira, C. A.; Mahecha, G. A. e Ferreira, L. A. Comedolytic effect and reduced skin irritation of a new formulation of all-trans retinoic acid-loaded solid lipid nanoparticles for topical treatment of acne. *Arch Dermatol Res.* 2011;303(7):513-520. PMID: 21298279
- [84] Domínguez-Delgado, C. L.; Rodríguez-Cruz, I. M.; Escobar-Chávez, J. J.; Calderón-Lojero, I. O.; Quintanar-Guerrero, D. e Ganem, A. Preparation and characterization of triclosan nanoparticles intended to be used for the treatment of acne. *Eur J Pharm Biopharm.* 2011;79(1):102-107. PMID: 21295142

- [85] Patel, M. R.; Patel, R. B.; Parikh, J. R. e Patel, B. G. Improving the isotretinoin photostability by incorporating in microemulsion matrix. *ISRN Pharm*. 2011. PMID: 22389863
- [86] Prasad, S.; Mukhopadhyay, A.; Kubavat, A.; Kelkar, A.; Modi, A.; Swarnkar, B.; Bajaj, B.; Vedamurthy, M.; Sheikh, S. e Mittal, R. Efficacy and safety of a nano-emulsion gel formulation of adapalene 0.1% and clindamycin 1% combination in acne vulgaris: a randomized, open label, active-controlled, multicentric, phase IV clinical trial. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2012;78(4):459-467. PMID: 22772617
- [87] Inui, S.; Aoshima, H.; Ito, M.; Kobuko, K. e Itami, S. Inhibition of sebum production and *Propionibacterium acnes* lipase activity by fulleranol, a novel polyhydroxylated fullerene: potential as a therapeutic reagent for acne. *J Cosmet Sci*. 2012;63(4):259-265. PMID: 23193890
- [88] Ridolfi, D. M.; Marcato, P. D.; Justo, G. Z.; Cordi, L.; Machado, D. e Durán, N. Chitosan-solid lipid nanoparticles as carriers for topical delivery of tretinoin. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2012;93:36-40 PMID: 22244299
- [89] Wichit, A.; Tangsumranjit, A.; Pitaksuteepong, T. e Waranuch, N. Polymeric micelles of PEG-PE as carriers of *all-trans* retinoic acid for stability improvement. *AAPS PharmSciTech*. 2012;13(1):336-343. PMID: 22274760
- [90] Borges, V. R.; Simon, A.; Sena, A. R.; Cabral, L. M. e de Sousa, V. P. Nanoemulsion containing dapsona for topical administration: a study of *in vitro* release and epidermal permeation. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:535-544. PMID: 23411489
- [91] Borges, V. R.; Simon, A.; Sena, A. R.; Cabral, L. M. e de Sousa, V. P. Nanoemulsion containing dapsona for topical administration: a study of *in vitro* release and epidermal permeation. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:535-544. PMID: 23411489
- [92] Friedman, A. J.; Phan, J.; Schairer, D. O.; Champer, J.; Qin, M.; Pirouz, A.; Blecher-Paz, K.; Oren, A.; Liu, P. T.; Modlin, R. L. e Kim, J. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of chitosan-alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens. *J Invest Dermatol*. 2013;133(5):1231-1239. PMID: 23190896
- [93] Lin, C. H.; Fang, Y.P.; Al-Suwayeh, S. A.; Yang, S. Y. e Fang, J.Y. Percutaneous absorption and antibacterial activities of lipid nanocarriers loaded with dual drugs for acne treatment. *Biol Pharm Bull*. 2013;36(2):276-86. PMID: 23370356
- [94] Raza, K.; Singh, B.; Singla, S.; Wadhwa, S.; Garg, B.; Chhibber, S. e Katore, O. P. Nanocolloidal carriers of isotretinoin: antimicrobial activity against *Propionibacterium acnes* and dermatokinetic modeling. *Mol Pharm*. 2013 May 6;10(5):1958-1963 PMID: 23544848

[95] Reis, C. P.; Gomes, A.; Rijo, P.; Candeias, S.; Pinto, P.; Baptista, M., Martinho, N. e Ascensão, L. Development and evaluation of a novel topical treatment for acne with azelaic Acid-loaded nanoparticles. *Microsc Microanal.* 2013;19(5):1141-1150. PMID: 23673203

Glossário

Acne: é uma doença inflamatória da pele caracterizada por pontos brancos ou negros (comedões), pápulas (borbulhas inflamadas), pústulas (borbulhas com pus), nódulos e quistos. Manifesta-se sobretudo no rosto, na parte superior do tórax, nos ombros e nas costas;

Androgéneos: esteróides masculinos que favorecem o desenvolvimento dos órgãos genitais externos, a formação do esperma e o aparecimento dos caracteres sexuais secundários no homem;

Centro umbilicado: centro com depressão central no cume;

Comedogénico: que obstrui os poros da pele;

Desmossoma: estrutura de adesão intercelular com forma de placa arredondada, constituída por zonas membranares de células contíguas, em que na face do citoplasma de cada membrana se inserem filamentos intercelulares;

Dermoabrasão rotatória: é um *peeling* executado por médicos em dermatologia ou em cirurgia plástica e que tem como principal objectivo o alisamento da superfície da pele, estrias, acne, em especial, quando esta está marcada por cicatrizes ou por outros defeitos cutâneos;

Compliance: adesão do doente à terapêutica instituída;

Eritema: vermelhidão congestiva da pele por dilatação dos capilares, que desaparece temporariamente com a pressão;

Exerése: remoção cirúrgica de corpo estranho ou de parte do organismo (tumor ou tecido patológico);

Hiperceratose: dermatose caracterizada por hipertrofia da camada córnea da pele;

Infundíbulo: estrutura com formato cónico;

Mento: parte do rosto correspondente à parte anterior da maxila inferior; queixo;

Mitogéneos: que provocam ou que induzem a mitose;

Progestativo: que permite a gravidez, ao provocar uma alteração da mucosa uterina favorável à implantação do ovo;

Psoríase: é uma doença crónica da pele, não contagiosa, que se caracteriza pelo aparecimento de lesões vermelhas, espessas e descamativas, que afectam preferencialmente os cotovelos, joelhos, região lombar e couro cabeludo;

Queilite: inflamação no lábio;

Recapeamento: revestimento;

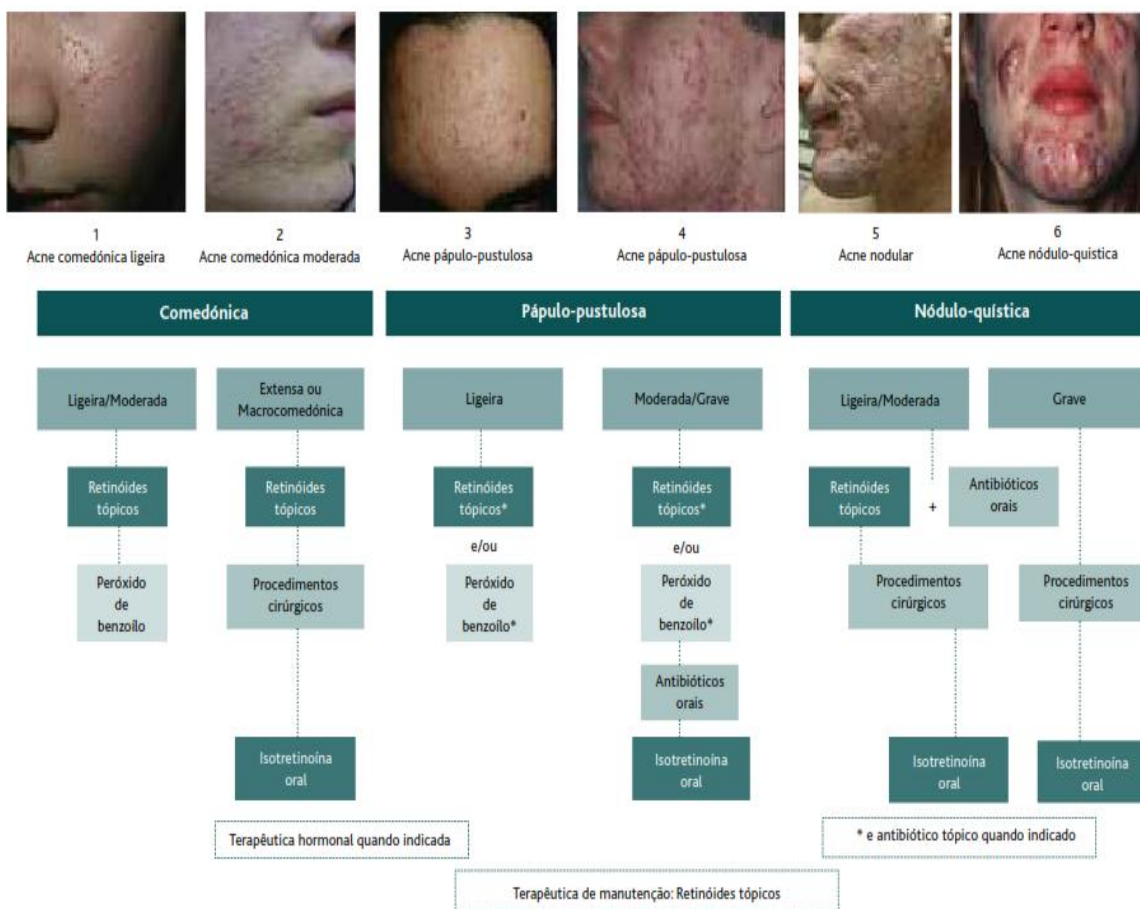
Scale-up: passar para uma escala maior, por exemplo, para uma escala industrial;

Salting-out: trata-se de um método de purificação que utiliza a pouca solubilidade de algumas moléculas numa solução com uma elevada componente iónica;

Xenobióticos: substância estranha ao organismo vivo.

Apêndices

Apêndice 1. Algoritmo do tratamento da acne [25].



Apêndice 2. Ficha do produto – ACNano 3by3



ACNano 3by3

Nova terapêutica para o tratamento da Acne com base na nanotecnologia

Este gel inovador é composto por nanopartículas com ácido azelaico. A sua formulação permite combinar três ações diferentes que permitem combater todos os aspectos da patogénese da acne. Para além do fácil espalhamento este produto combina uma ação anti-inflamatória, antibacteriana e esfoliante. A ação anti-inflamatória combate a inflamação, reduzindo a vermelhidão da pele. A ação antibacteriana impede o crescimento das bactérias que provocam a acne. A ação esfoliante suave permite eliminar as células mortas, facilitando a ação do produto e promovendo uma tez mais mate. Este gel pode ser aplicado de 3 em 3 dias



Pontos de Interesse:

- 3 ações;
- Aplicações de 3 em 3 dias;
- Formulação segura;
- Composto aprovado pela FDA;
- Eficaz;
- Menos efeitos adversos.

Notas do Júri

Ana Patrícia Almeida Gomes

Lisboa, Novembro de 2013

Orientador: Professora Doutora Catarina Pinto Reis

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde**

Email: anaptgomes@gmail.com



A nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que consiste na optimização das propriedades da matéria permitindo o desenvolvimento de sistemas com um tamanho na escala dos nanómetros.

A aplicação da nanotecnologia na medicina e cosmética surge como um campo de pesquisa que está a gerar um crescente interesse. A nanotecnologia aplicada ao tratamento de doenças comuns da pele tem sofrido alguns avanços, principalmente na área do tratamento tópico da acne, que tem beneficiado com o progresso desta tecnologia.

A acne surge face a múltiplos factores patogénicos, afectando entre 75% a 95% dos adolescentes provocando-lhes transtornos físicos e psíquicos. No entanto, apesar de ser uma patologia característica da adolescência, a acne é prevalente também numa pequena população de mulheres com idade superior a 40 anos.

Nesta dissertação foi feita uma abordagem da patogénese da acne, que foi útil na compressão dos objectivos do tratamento tópico, sistémico e físico instituído ao doente. Foram ainda explorados os conceitos básicos de nanotecnologia, que se enquadraram numa compreensão de como esta pode contribuir para a medicina e cosmética aplicada ao tratamento da acne. Foram também investigadas as diferentes publicações na área e avaliada a sua aplicação ao tratamento tópico da acne.