



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**NANOTECNOLOGIA NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO
CANCRO ORAL**

Trabalho submetido por
Raquel Costa Martins
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**NANOTECNOLOGIA NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO
CANCRO ORAL**

Trabalho submetido por
Raquel Costa Martins
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Doutor Jorge Rosa Santos

e coorientado por
Prof. Doutor Gonçalo Martins

Setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Doutor Jorge Rosa Santos, pela sua dedicação, disponibilidade, conhecimentos transmitidos e por ter acreditado que era capaz de levar este tema para a frente.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Gonçalo Martins, por se mostrar disponível para ajudar sempre que precisei.

À minha família, pela educação e formação que sempre me transmitiram e por me terem proporcionado a oportunidade de seguir o meu sonho e concluir este percurso com sucesso.

À minha irmã Rita e colega em todo o meu percurso académico, pelo companheirismo, espírito de interajuda e paciência nos momentos mais difíceis.

Ao Rui, que tantas horas do seu tempo viu roubadas para que eu conseguisse atingir os objectivos a que me propus e pelo apoio e carinho que sempre me transmitiu durante este percurso.

Aos meus amigos, por poder contar sempre com eles, por todo o apoio e amizade!

O meu muito obrigada!

RESUMO

O cancro oral é um tipo de cancro bastante prevalente à escala mundial, cujas estratégias de tratamento tradicionais têm várias desvantagens que poderiam ser superadas num futuro próximo através do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e prognósticas. A nanotecnologia fornece uma alternativa à terapia tradicional que leva a uma maior eficiência e menos toxicidade. A nanomedicina e a exploração das propriedades únicas das nanopartículas, mostra a potencialidade de melhorar a capacidade de detecção e diagnóstico do cancro e, aumentar a especificidade e efectividade no tratamento de células cancerígenas.

Diversos nano-sistemas foram desenvolvidos para o tratamento de cancro oral, incluindo formulações poliméricas, metálicas e lipídicas que incorporam quimioterapêuticos direccionados.

Este trabalho tem como objectivo compreender e dar a conhecer os conceitos de nanotecnologia e nanomedicina e resumir os principais benefícios da utilização desses nano-sistemas, em paralelo com um foco particular nos problemas encontrados na prática médica. O uso de nanopartículas como terapia do cancro oral tem o potencial de se tornar uma opção terapêutica válida para pacientes que sofrem desta malignidade, considerando que alguns ensaios clínicos já foram concluídos e outros estão a ser desenvolvidos actualmente.

Palavras-chave: nanotecnologia; nanomedicina; cancro oral; terapia oncológica

ABSTRACT

Oral cancer is a very prevalent type of cancer worldwide, whose traditional treatment strategies have several disadvantages that could be overcome in the near future through the development of new therapeutic and prognostic strategies. Nanotechnology provides an alternative to traditional therapy that leads to greater efficiency and less toxicity. Nanomedicine and the exploration of the unique properties of nanoparticles, shows the potential to improve cancer detection and diagnostic capacity and increase specificity and effectiveness in the treatment of cancer cells.

Various nano-systems have been developed for the treatment of oral cancer, including polymeric, metal and lipid formulations incorporating targeted chemotherapeutics.

This work aims to understand and present the concepts of nanotechnology and nanomedicine and to summarize the main benefits of the use of these nano-systems in parallel with a particular focus on the problems found in medical practice. The use of nanoparticles as oral cancer therapy has the potential to become a valid therapeutic option for patients suffering from this malignancy, considering that some clinical trials have been completed and others are currently being developed.

Keywords: nanotechnology; nanomedicine; oral cancer; cancer therapy

ÍNDICE GERAL

I.	INTRODUÇÃO	13
II.	DESENVOLVIMENTO	15
	1- Nanotecnologia e nanomedicina	15
	1.1- Definição de nanotecnologia e nanomedicina.....	15
	1.2- Enquadramento Histórico.....	16
	1.3- Nanopartículas na veiculação de fármacos.....	19
	1.3.1- Nanopartículas: tamanho pequeno, grandes vantagens.....	19
	1.3.2- Os vários tipos de nanopartículas.....	21
	1.3.2.1- Nanopartículas poliméricas.....	23
	1.3.2.2- Nanopartículas lipídicas.....	26
	1.3.2.3- Nanopartículas inorgânicas.....	29
	2- Nanomedicina e terapia oncológica	35
	2.1- Fisiopatologia do cancro oral.....	35
	2.2- Terapêutica convencional e as suas limitações.....	37
	2.3- Melhorias na biodisponibilidade.....	38
	2.4- Vectorização de fármacos em oncologia.....	40
	2.5- Teranóstico em oncologia: conceito e aplicações clínicas.....	44
	2.6- Outras terapias em nanomedicina.....	47
	3- Nanomedicina e diagnóstico em oncologia	53
	3.1- Biosensing.....	55
	3.2- PET e SPECT em nanomedicina.....	56
	3.3- Ressonância magnética em nanomedicina.....	58

3.4- Tomografia computadorizada em nanomedicina.....	59
3.5- Ultra-sonografia em nanomedicina.....	60
3.6- Imagem óptica em nanomedicina.....	61
4- Nanotecnologia em oncologia: quais os desafios?.....	61
5- Toxicologia e segurança das nanopartículas.....	65
6- Discussão e perspectivas futuras.....	67
III. CONCLUSÃO.....	74
IV. BIBLIOGRAFIA.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Cronograma do desenvolvimento de nanomateriais. Os lipossomas, os sistemas poliméricos, os dendrímeros e os lipossomas acoplados com PEG foram desenvolvidos como portadores de nanofármacos na primeira fase da descoberta (antes de 1995). Doxil (doxorubicina) foi o primeiro lipossoma aprovado pela FDA para uso no cancro. À medida que a nanomedicina se desenvolveu, o lipossoma Myocet (doxorubicina), a nanopartícula Abraxane (doxorubicina), a micela polimérica PEG-PLA Genexol-PM (paclitaxel), o lipossoma de vincristina Marqibo, o óxido de ferro NanoTherm e o lipossoma de adurtrosulfatol de ado-trastuzumab emtansina (DM1) foram aprovados para uso clínico. As nanopartículas poliméricas de PEG-PLGA (BIND-014) completaram ensaios clínicos de fase II em cancros avançados e umimuno-lipossoma com receptor de factor de crescimento anti epidérmico (EGFR) em ensaios clínicos de fase II para o cancro da mama. As propriedades físicas das nanopartículas de upconversion (UCNPs) utilizadas na terapia fotodinâmica (PDT) também representam uma direcção promissora em pesquisas futuras (Adaptado de Z. Li et al., 2017).....19

Figura 2- Vantagens das Nanoparticulas (Masthan, Aravindha Babu, Shanmugam, & Jha, 2012).....21

Figura 3- Características físico-químicas de diferentes nanomateriais propostos como portadores de fármacos em sistemas de administração de fármacos e terapia direccionada. As propriedades mais importantes dos nanomateriais que determinam o seu potencial teranóstico, o emprego em aplicações médicas e o efeito sobre os parâmetros farmacocinéticos em condições in vivo, incluindo a biodistribuição, toxicidade e internalização em células alvo (Piktel et al., 2016).....22

Figura 4- Classificação das nanopartículas (A. Kumar, Mansour, Friedman, & Blough, 2013).....23

Figura 5- Exemplo esquemático da estrutura de uma nanocapsula e de uma nanoesfera (Deda & Araki, 2015).....24

Figura 6- Estrutura básica de um dendrímero (Adaptado de Portney & Ozkan, 2006).....25

Figura 7- Novos aspectos de encapsulamento e entrega usando polimersomas. Representação esquemática de lipossomas (esquerda) versus polimersomas (direita). Os polimersomas são análogos sintéticos de lipossomas e são constituídos por uma membrana de co-polímeros anfifílicos. Enquanto a maioria das propriedades são semelhantes para ambos, os polímeros apresentam uma alta versatilidade e uma maior estabilidade (Adaptado de Messenger, Gaitzsch, Chierico, & Battaglia, 2014).....26

Figura 8- Localização e tipos de carga num lipossoma. A carga hidrofílica é transportada dentro do núcleo e a carga hidrofóbica dentro da membrana. A membrana pode ser conjugada com moléculas para a

funcionalização e direccionamento para o alvo (Adaptado de Irimie, Sonea, Jurj, & Mehterov, 2017).....	27
Figura 9- Representação de Doxil® (Adaptado de Rocha, 2015).....	28
Figura 10- Estrutura de uma nanoemulsão líquida (à esquerda) e de nanopartículas lipídicas sólidas (à direita) estabilizadas por uma camada de surfactante contendo um composto bioativo lipofílico (Adaptado de Weiss et al., 2008).....	28
Figura 11- Aplicações de nanopartículas de ouro em imunoterapia contra o cancro (Adaptado de Almeida et al., 2014).....	30
Figura 12- Modelo do Fulereo (Adaptado de http://nanoparticle-blog.com/page/3).....	31
Figura 13- Nanotubos de parede única (esquerda) e nanotubo de parede múltipla (direita) (Adaptado de Terranova, Sessa, & Rossi, 2006).....	32
Figura 14- Nanopartículas de sílica em forma de disco (Adaptado de Duncan & Gaspar, 2011).....	33
Figura 15- Representação esquemática de vários pontos quânticos (QDs). A) Diferentes tipos de QDs e as suas emissões correspondentes. B) Anatomia dos QDs. C) Emissões dependentes do tamanho dos QDs (Adaptado de Mashinchian et al., 2014).....	34
Figura 16- Os diferentes estágios da carcinogénese (Adaptado de Kaur, Singh, & Kaur, 2014).....	36
Figura 17- Representação esquemática de vectorização passiva e activa. Na vectorização passiva, o alvo é alcançado por extravasamento de nanopartículas através da maior permeabilidade da vasculatura tumoral e drenagem linfática ineficaz (efeito EPR). As nanopartículas sensíveis ao meio ambiente (à esquerda) são outro exemplo de vectorização passiva que aproveita as características dos microambientes associados a tumores (isto é, ambiente ácido e sobre-expressão de enzimas). A vectorização activa (à direita) pode ser conseguida através da funcionalização de nanopartículas com ligandos direccionados que promovam o reconhecimento e vinculação de células específicas (Adaptado de Park, 2012).....	44
Figura 18- Um esboço do esquema funcional básico de um agente nanoteranóstico. As nanopartículas são entregues a células cancerígenas, onde vão destruir terapêuticamente a célula enquanto emitem sinais que podem ser detectados e monitorados usando um sistema de diagnóstico adequado. (Adaptado de Roy Chowdhury et al., 2016).....	45
Figura 19- Imagem óptica num modelo subcutâneo de tumor da mama. (A) Imagem in vivo. O sinal brilhante do infravermelho próximo associado aos tumores em comparação com o tecido circundante, reflectiu a entrega selectiva ao tumor de siRNA. (B) Imagem ex vivo. Houve fluorescência brilhante do infravermelho próximo, associada aos tumores. Em contraste, a fluorescência do tecido muscular	

adjacente, que estava nos níveis de fundo. (C) Microscopia de fluorescência. A co-localização entre fluorescência no verde e infravermelho próximo refletiu a integridade do nanodrug após a persistência na circulação. Os tecidos foram contrastados com DAPI (núcleos, azul) (Adaptado Kumar, Yigit, Dai, Moore, & Medarova, 2010).....	46
Figura 20- Barreiras que as nanopartículas precisam superar como sistemas de entrega de ácidos nucleicos. As nanopartículas podem ser projectadas para administrar DNAs ou RNAs, no entanto, estas precisam evitar a degradação dos ácidos nucleicos pelas nucleases após administração local ou sistémica (Adaptado de del Pozo-Rodríguez, Solinís, & Rodríguez-Gascón, 2016).....	49
Figuras 21- Esquema que mostra um procedimento clínico típico para aplicação de terapia fotodinâmica. PS (fotossensibilizador) (Adaptado de Deda & Araki, 2015).....	51
Figura 22- (A) Na hipertermia magnética, um campo magnético alternado faz com que as nanopartículas gerem calor, induzindo necrose tumoral. (B) Na ablação fototérmica, a luz absorvida pelas nanopartículas é convertida em energia térmica causando morte celular na vizinhança. (C) Para a terapia fotodinâmica, os agentes fotossensibilizantes ligados a nanopartículas são activados por uma fonte de luz externa para criar espécies reactivas de oxigénio que são citotóxicas para as células (Adaptado de Revia & Zhang, 2016).....	52
Figura 23- Imagem de um lipossoma visualizado por múltiplas técnicas de imagem de medicina radiológica e nuclear (SPECT, PET, CT, MRI). Na superfície do lipossoma, um radioisótopo é anexado para ser visto pelo detector de câmara gama; O PEG também é observado como sendo capaz de evitar a destruição do lipossoma pelo sistema imune e permanecer por um período de tempo mais longo na circulação intravascular; os péptidos projectam um alvo activo. O invólucro lipídico é observado incorporando fármacos terapêuticos lipofílicos. Dentro do lipossoma, as partículas terapêuticas são transportadas em solução aquosa (fármaco, DNA, ferro, iodo e ouro) (Adaptado de A. Kumar et al., 2013).....	54
Figura 24- Resumo dos pontos de verificação “stop and go” para a produção de nanossistemas, optimização e selecção de candidatos para o desenvolvimento pré-clínico. A metodologia geralmente utilizada (teórica, in vitro, in vivo) também está representada no esquema. (Adaptado de Duncan & Gaspar, 2011).....	67

LISTA DE SIGLAS

- APL** - Ácido Polilático
- APLG** - Ácido Poli (lático-co-glicólico)
- CCE** – Carcinoma de Células Escamosas
- CDs** - Células Dendríticas
- COCE** - Carcinoma Oral de Células Escamosas
- DNA** - Ácido Desoxirribonucléico
- EGFR** – Receptor do Factor de Crescimento Epidémico
- EMA** - Agência Europeia de Medicamentos
- ENM** - Engenharia de Nanomateriais
- EPR** - Efeito de Permeabilidade e Retenção Aumentada
- FDA** - Food and Drug Administration
- FEC** - Fundação Europeia da Ciência
- HIV** - Vírus da Imunodeficiência Humana
- HPV** - Vírus do Papiloma Humano
- ICH** - *International Conference on Harmonization*
- MEC** - Matriz Extracelular
- PDT** - Terapia Fotodinâmica
- PEG** – Etilenoglicol
- PET** – Tomografia por Emissão de Positrões
- QDs** – Pontos Quânticos (Quantum Dot)
- SRE** – Sistema Retículo-endotelial
- RMI** - Imagem de Ressonância Magnética
- RNA** - Ácido Ribonucleico
- SFM** – Sistema Fagocitário Mononuclear
- SPECT** – Tomografia Computorizada por Emissão de Fotão Único
- SPIO** - Partículas Superparamagnéticas de Óxido de Ferro
- siRNA** - Ácido Ribonucleico de Interferência (small interfering RNA)
- SPIONs** – Nanopartículas Superparamagnéticas de Óxidos de Ferro
- TC** – Tomografia computadorizada
- TFD** - Terapia Fotodinâmica

TFT - Terapia Fototérmica

UCNPs - Nanopartículas de Upconversion

US - Ultra-Som

USPIO - Partículas Ultrapequeñas de Óxido de Ferro Superparamagnético

I - INTRODUÇÃO

Apesar de décadas de pesquisa e estudos, o cancro continua a ser uma enorme ameaça global. Este é caracterizado por possuir um crescimento celular descontrolado capaz de invadir qualquer parte do corpo, sendo desencadeado por uma infinidade de factores, que podem tanto ser de origem endógena como exógena (Roy Chowdhury et al., 2016).

Actualmente, cerca de 50% de todas as pessoas diagnosticadas com cancro morrem desta causa (Friberg & Nyström, 2015). Na União Europeia foram previstas 13,59 milhões de mortes por cancro em 2016. Em 2015 cerca de 16,6 milhões de mortes na arena global e especula-se que em 2030, o número de pacientes com cancro chegue aos 21 milhões. O conhecimento destes terríveis números exige que se façam mais pesquisas no sentido de explorar estratégias diagnósticas e terapêuticas melhores, mais seguras e mais eficazes (Roy Chowdhury et al., 2016).

O carcinoma oral de células escamosas (COCE) é considerado o sexto cancro mais comum para ambos os sexos em todo o mundo e a taxa de sobrevivência para 5 anos é de 50%. O COCE representou quase 3% de todos os casos de cancro em 2011. É caracterizado por ser uma neoplasia maligna que afecta o epitélio escamoso que reveste a mucosa oral e tende a proliferar muito rapidamente. As principais causas deste tipo de cancro incluem o consumo excessivo de álcool e o uso de tabaco. O vírus do papiloma humano, assim como pacientes imunodeprimidos (por exemplo, no caso do vírus da imunodeficiência humana [HIV] e pacientes com transplante renal) têm um maior factor de risco para desenvolver cancro oral. A taxa de recorrência varia entre os 18% e os 76% em pacientes que foram submetidos a um tratamento padrão. O atraso no diagnóstico e consequentemente no início do tratamento é considerado a principal causa para não existirem melhorias relevantes na taxa de sobrevivência (Calixto, Fonseca-Santos, Chorilli, & Bernegossi, 2014).

É neste sentido que o diagnóstico e a terapia do cancro continuam a ser um dos mais promissores campos de aplicação das nanopartículas como “smart drug carriers”. A quimioterapia convencional fornece o agente citotóxico indiscriminadamente, tanto a tumores, como a órgãos e tecidos normais. Várias estratégias foram adoptadas nos últimos anos com o objectivo de reduzir os efeitos adversos e melhorar os terapêuticos,

administrando fármacos anticancerígenos selectivamente ao local do tumor (Pentenero, 2017).

A nanotecnologia é um campo multidisciplinar, e espera-se que este vasto campo de pesquisa produza novos paradigmas no que diz respeito às ferramentas utilizadas em oncologia clínica. O conceito de diagnóstico e tratamento para o cancro deve ser ampliado e a terapia oncológica de amanhã provavelmente será muito mais personalizada, muito complexa e muito cara. As aplicações médicas no ramo da nanotecnologia têm-se expandido rapidamente ao longo das últimas décadas, e acredita-se que a nanomedicina terá um grande impacto nas terapias futuras (Friberg & Nyström, 2015).

II- DESENVOLVIMENTO

1- Nanotecnologia e nanomedicina

1.1- Definição de nanotecnologia e nanomedicina

As principais definições de nanotecnologia e de nanomedicina continuam a ser motivo de grande controvérsia, não tendo por este motivo uma classificação universalmente aceite. (Tang et al., 2013) Por exemplo, em 2004 a Fundação Europeia da ciência (FEC) fez uma extensa pesquisa no campo da nanomedicina, definindo-a como sendo “a ciência e a tecnologia de diagnosticar, tratar e prevenir doenças e lesões traumáticas, aliviar a dor e preservar e melhorar a saúde humana, usando ferramentas moleculares e conhecimento molecular do corpo humano ” (FEC, 2004). Além disso, definiu-se cinco principais disciplinas da nanomedicina: ferramentas analíticas e nanoimagem; nanomateriais e nanodispositivos; novas terapêuticas e sistemas de administração de fármacos; e questões clínicas, regulatórias e toxicológicas. Enquanto em 2006 o *National Institutes of Health Roadmap for Medical Research in Nanomedicine* definiu a nanomedicina como sendo “um ramo da nanotecnologia, (que) se refere a intervenções médicas altamente específicas na escala molecular, para curar doenças ou reparar tecidos danificados, como osso, músculo ou nervo” (Cooper & Robertson, 2005).

A nanotecnologia tem como objectivo “ o monitoramento abrangente, reparação e melhoria de todos os sistemas biológicos humanos, trabalhando a partir do nível molecular usando dispositivos de engenharia e nanoestruturas para obter benefício médico. Nesse contexto, a nanoescala inclui componentes activos ou objectos que variam em tamanho de 1 nm a 100 nm” (Rivas & Sorg, 2015). Esta definição peca pois estes limiares de tamanho, considerados populares, não podem ser cientificamente justificados no contexto de uma definição ampla que englobe adequadamente todos os nanomateriais.

Os principais elementos da nanotecnologia aplicada à nanomedicina são: o uso de dispositivos analíticos que levem a uma melhor compreensão das bases moleculares da doença, predisposição do doente e resposta à terapia, e que permitam, também, a obtenção de imagens aos níveis celular e molecular; e a concepção de terapias

multifuncionais manométricas e sistemas de veiculação de fármacos que criem terapias mais eficazes (Rivas & Sorg, 2015).

A nanomedicina engloba três áreas principais da nanotecnologia desenvolvidas para aplicação na área da saúde:

1. Diagnóstico, biossensores e ferramentas cirúrgicas que são usadas no exterior do doente.
2. Agentes de imagem inovadores e tecnologias de monitorização que podem ser utilizadas em diagnóstico, nas células do doente.
3. Tecnologias e biomateriais inovadores que podem ser usados na veiculação e libertação de fármacos, na engenharia tecidual e na promoção da reparação dos tecidos. Algumas aplicações requerem apenas manipulações *ex vivo*, mas outras permitem que a administração ao doente possa ser feita utilizando uma das diferentes vias de administração disponíveis (por exemplo tópica, oral, parental, pulmonar, implante cirúrgico, etc) (Duncan & Gaspar, 2011).

A Nanotecnologia é então a ciência que estuda a compreensão e o controlo da matéria a dimensões manométricas, englobando as engenharias e tecnologias, envolvendo áreas como a imagiologia, medição, modelação e manipulação de matéria à nanoescala. A investigação neste campo está dirigida no sentido de perceber e criar materiais, dispositivos e sistemas melhorados que explorem essas propriedades. A Nanotecnologia tornou-se assim um ramo da Ciência que engloba todas as tecnologias e processos que manipulam ou exploram materiais à nanoescala, permitindo significativos avanços em áreas que, não sendo novas, começam a ser reinventadas (Fatal & Eugénio, 2010).

1.2- Enquadramento histórico

Apesar de ser um tema relativamente actual “pensar nano” é algo que acontece há muitos anos.

Em 1908, Paul Ehrlich recebeu o Prémio Nobel da Medicina. Este imaginou uma "bala mágica" contra micróbios e tumores no final do século XIX. Esta bala erradicaria todas as bactérias ou células malignas no corpo humano sem afectar as células normais. Ehrlich desenvolveu a primeira bala: o medicamento Salvarsan contra a sífilis. Esta

conquista estabeleceu as bases para as descobertas subsequentes de numerosos antibióticos contra várias infecções. As descobertas de Ehrlich no campo da imunologia, incluindo a interacção anticorpo-antígeno e função ligando-receptor entre outros que também se mostraram promissores de uma “bala mágica” contra o cancro. No entanto, nesta área, o progresso foi mais lento. As primeiras “balas-alvo” em oncologia foram hormonas, estrogénio contra o cancro de próstata e testosterona contra o cancro de mama (Friberg & Nyström, 2015).

A partir de 1931, foram alcançadas resoluções significativamente melhores, a nível da microscopia, com o microscópio electrónico de transmissão desenvolvido por Max Knoll e Ernst Ruska do que com os microscópios de luz convencionalmente utilizados até à data (MG, V, & F, 2015). Em 1936 Erwin Müller inventou o microscópio de emissão de campo, permitindo imagens de materiais de resolução quase atómica (Iniciativve, 2014). O seu desenvolvimento posterior para o microscópio de campo iónico, permitiu em 1951 que os físicos fossem capazes de ver átomos individuais e a sua disposição numa superfície. O uso de microscópios inovadores em química e biologia levou à descoberta de estruturas e constituintes celulares (MG et al., 2015).

Em 1950 e 1960, a descrição e compreensão do DNA e RNA, levou ao conceito de doenças genéticas e à visão de curas ao nível molecular feitas para os pacientes (MG et al., 2015).

Os lipossomas foram descobertos em meados da década de 1960 e podem ser considerados como a primeira nanomedicina. Não demorou muito até que se descobrisse que os lipossomas eram úteis como um vector ou auxiliar de formulação para fármacos. Essas aplicações foram investigadas e expandidas no final dos anos 70 com o uso de materiais anfífilicos macromoleculares, tais como polímeros que são capazes de formar micelas.

Finalmente, no início dos anos 80, tornou-se possível ter visão directa na nano escala com a microscopia de varredura: Gerd Binnig e Heinrich Rohrer desenvolveram o microscópio de tunelamento por varredura, com o qual um átomo individual foi demonstrado graficamente em 1981. Em 1986 Gerd Binnig, Calvin Quate e Christoph Gerber inventaram o microscópio de força atómica, que tem a capacidade de visualizar, medir e manipular materiais até fracções de tamanho nanométrico (Iniciativve, 2014).

Usando estes métodos de microscopia de varredura, tornou-se possível não só demonstrar precisamente as estruturas à nanoescala, mas também posicioná-las e manipulá-las de forma controlada.

O conhecimento a nível das células e dos seus constituintes e dos processos intra e intercelulares adquiridos durante o século XX, bem como os avanços em bioquímica e biotecnologia tornaram possível a produção de "balas mágicas" cada vez mais sofisticadas (MG et al., 2015).

Só nas duas últimas décadas assistimos ao próximo passo na terapia oncológica direccionada, os anticorpos monoclonais. Estes resultaram num número de inibidores molecularmente direccionados que provam que o princípio de Ehrlich de direccionamento foi correcto e viável. No entanto, estes inibidores têm apenas melhorado o prognóstico para algumas doenças malignas, infelizmente a mortalidade global no que diz respeito ao cancro ainda permanece elevada. Assim, a necessidade de melhores terapias oncológicas ainda é iminente e é neste sentido que a nanotecnologia pode fornecer uma série de novas possibilidades (Friberg & Nyström, 2015)

Actualmente os polímeros biocompatíveis, lipossomas e micelas, acima de tudo, estão a ser estudados para poderem ser transportadores de fármacos, vacinas e genes. As substâncias activas podem ser encapsuladas no interior destes nanomateriais e sua superfície pode ser modificada para que eles consigam ultrapassar barreiras naturais, como membranas celulares, e com a ajuda de biossensores (por exemplo, anticorpos) reconhecem células e tecidos particulares. Estes mecanismos têm interesse sobretudo no tratamento do cancro, uma vez que, pela liberação controlada dos citostáticos exclusivamente no tecido tumoral, os efeitos colaterais podem ser reduzidos e, ao mesmo tempo, doses mais altas de substância activa chegam ao tecido afectado (MG et al., 2015).

Alguns nanofármacos foram desenvolvidos nos últimos 50 anos. Uma formulação lipossomal de doxorrubicina (Doxil) foi aprovada pela US Food and Drug Administration (FDA) em 1995 para o tratamento do sarcoma de Kaposi relacionado à SIDA. Em 2005, uma nanopartícula à base de albumina, paclitaxel acoplado a uma proteína (Abraxane), foi aprovada pela FDA para uso clínico no tratamento de cancro de mama, cancro do pulmão e cancro do pâncreas. Mais recentemente, em 2013, a adotrastuzumab emtansine (DM1) (Kadcyla) foi aprovada para uso em pacientes com

cancro de mama com receptor de factor de crescimento epidérmico humano (Z. Li et al., 2017)

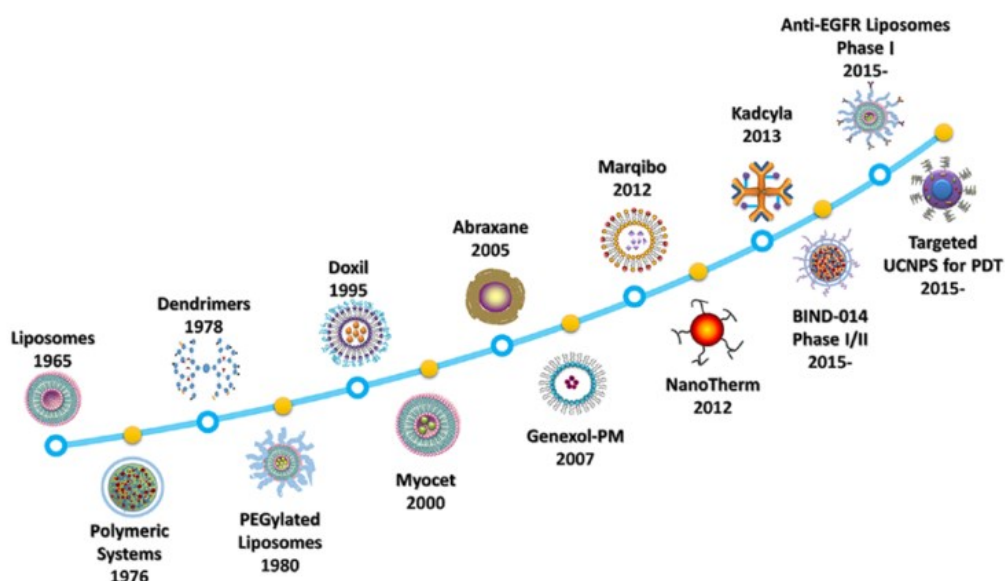


Figura 1- Cronograma do desenvolvimento de nanomateriais. Os lipossomas, os sistemas poliméricos, os dendrímeros e os lipossomas acoplados com PEG foram desenvolvidos como portadores de nanofármacos na primeira fase da descoberta (antes de 1995). Doxil (doxorubicina) foi o primeiro lipossoma aprovado pela FDA para uso no cancro. À medida que a nanomedicina se desenvolveu, o lipossoma Myocet (doxorubicina), a nanopartícula Abraxane (doxorubicina), a micela polimérica PEG-PLA Genexol-PM (paclitaxel), o lipossoma de vincristina Marqibo, o óxido de ferro NanoTherm e o lipossoma de adustrosulfato de ado-trastuzumab emtansina (DM1) foram aprovados para uso clínico. As nanopartículas poliméricas de PEG-PLGA (BIND-014) completaram ensaios clínicos de fase II em cancros avançados e umimuno-lipossoma com receptor de factor de crescimento anti epidérmico (EGFR) em ensaios clínicos de fase II para o cancro da mama. As propriedades físicas das nanopartículas de upconversion (UCNPs) utilizadas na terapia fotodinâmica (PDT) também representam uma direcção promissora em pesquisas futuras (Adaptado de Z. Li et al., 2017).

1.3- Nanopartículas na veiculação de fármacos

1.3.1- Nanopartículas: tamanho pequeno, grandes vantagens

Ao longo das últimas décadas, vários tratamentos antineoplásicos inovadores, que atuam através da indução de apoptose, disfunção no ciclo celular, transcrição de genes e inibição do processo de angiogénese, foram apresentados. No entanto, o tratamento anticancerígeno padrão ainda é baseado em intervenção cirúrgica combinada, radiação e quimioterapia. O uso desses métodos torna-se limitado devido à toxicidade dos medicamentos, à sua pouca selectividade, à possibilidade de recorrência de cancro e à indução de células cancerígenas resistentes aos fármacos. O número

crescente de estudos confirmou que grande parte dessas limitações podem ser superadas usando novas ferramentas baseadas na nanotecnologia (Piktel et al., 2016).

Apesar de algumas limitações, as nanopartículas podem oferecer múltiplas vantagens tais como: novas formulações de medicamentos, novos meios de administração e incorporação de novas terapêuticas (Friberg & Nyström, 2015).

As nanopartículas são materiais nanométricos, com diâmetro de 1-100nm, que têm a capacidade de transportar vários medicamentos e agentes de imagem. Devido à sua elevada relação área de superfície-volume, é possível obter uma alta densidade de ligando para fins de reconhecimento do alvo. Estas partículas podem também ser usadas no sentido de aumentar a concentração do medicamento no local pretendido, transportando o medicamento no seu interior e controlando a sua libertação apenas quando estas se encontram ligadas ao alvo (A. Kumar et al., 2013).

As Nanopartículas abrem então novas possibilidades para controlar a farmacocinética e a biodistribuição de uma forma bastante diferente da que já estava disponível. A libertação controlada de medicamentos agora é possível. Por exemplo, o Doxorubicin® na sua forma nativa tem uma meia vida no plasma de 0,2 h. Na sua formulação lipossomal, a meia-vida aumenta para 55 h, resultando num efeito clínico muito diferente (Friberg & Nyström, 2015). Estas partículas têm propriedades incomuns que podem ser exploradas para melhorar a libertação de medicamentos. Devido ao seu tamanho reduzido, elas são frequentemente incorporadas por células, enquanto as partículas maiores são excluídas ou limpas do corpo (A. Kumar et al., 2013).

No que diz respeito a novos meios de administração, podemos constatar que a maioria dos fármacos citotóxicos usados hoje em dia é insolúvel em água. Isso requer a utilização de solventes especiais (que podem ser tóxicos só por si) e apenas meios de administração intravenosa na maioria dos casos. Utilizando as nanopartículas, vários desses medicamentos podem ser convertidos em formulações orais ou manipulados em nanocristais que podem ser suspensos em água e, assim, tornam possível administrá-los oralmente (Friberg & Nyström, 2015).

As nanopartículas vêm trazer então grandes vantagens e avanços: podem melhorar a estabilidade dos fármacos e controlar a sua distribuição direccionada, permitindo uma concentração constante e uniforme no local do tumor e facilitando a

libertação de drogas no sistema tumoral, reduzindo assim os efeitos colaterais (Calixto et al., 2014).

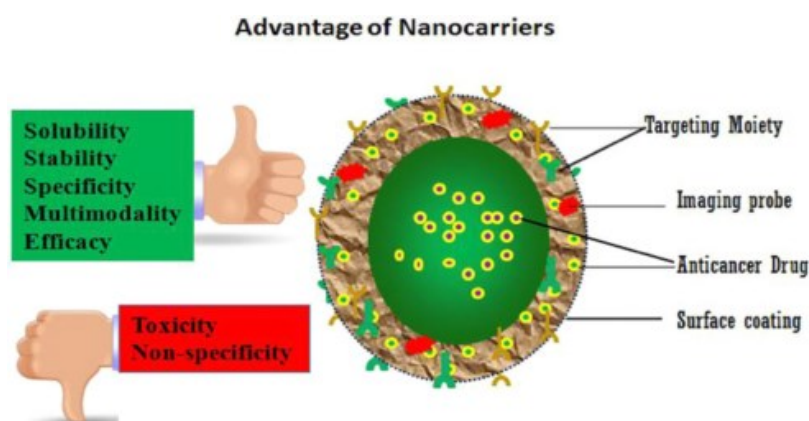


Figura 2- Vantagens das Nanopartículas (Masthan et al., 2012).

1.3.2- Os vários tipos de nanopartículas

As condições fisiopatológicas e as alterações anatómicas de tecidos doentes ou inflamados podem potencialmente desencadear uma grande quantidade de oportunidades para o desenvolvimento de vários produtos nanotecnológicos direccionados (Fakruddin, Hossain, & Afroz, 2012). Um trabalho significativo foi realizado nas últimas décadas no campo da nanotecnologia. Agora é possível fabricar, caracterizar e modificar as propriedades funcionais das nanopartículas para meio de diagnóstico médico e aplicações biomédicas. (Mirza & Siddiqui, 2014). Os medicamentos podem ser dissolvidos, aprisionados, encapsulados ou ligados a uma matriz de nanopartículas, que actua como reservatório de sistemas de partículas e, portanto, desempenha um papel importante como sistema de administração de fármacos para aplicações clínicas, particularmente em oncologia (Calixto et al., 2014).

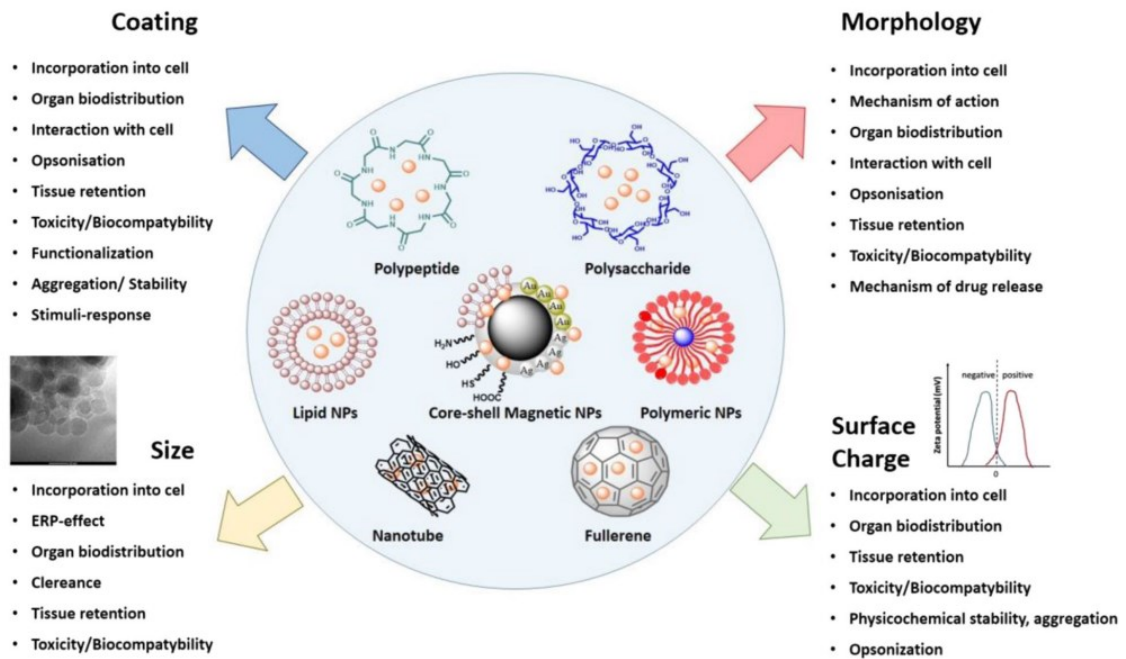


Figura 3- Características físico-químicas de diferentes nanomateriais propostos como portadores de fármacos em sistemas de administração de fármacos e terapia direccionada. As propriedades mais importantes dos nanomateriais que determinam o seu potencial teranóstico, o emprego em aplicações médicas e o efeito sobre os parâmetros farmacocinéticos em condições in vivo, incluindo a biodistribuição, toxicidade e internalização em células alvo (Piktel et al., 2016).

Com base no método e material de fabricação, as nanopartículas podem ter várias formas, tamanhos e propriedades distintas. A família das nanopartículas inclui, nanopartículas poliméricas, lipídicas e inorgânicas (A. Kumar et al., 2013).

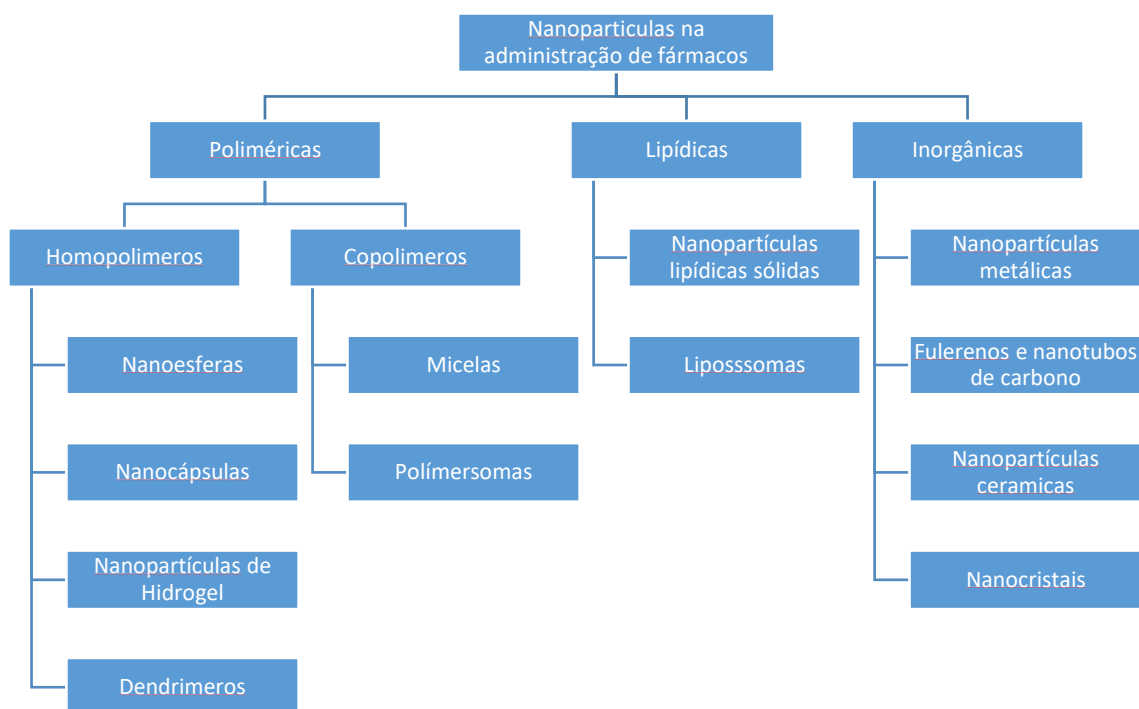


Figura 4- Classificação das nanopartículas (Adaptado de (A. Kumar et al., 2013)).

1.3.2.1- Nanopartículas Poliméricas

As nanopartículas poliméricas são amplamente explorados hoje em dia pelo seu grande potencial como sistema de administração de fármacos para compostos anticancerígenos. Estas são preparadas por encapsulamento, dissolução e aprisionamento do fármaco em polímeros biodegradáveis ou por incorporação do fármaco numa matriz polimérica (Ahmad et al., 2015).

Estas nanopartículas são feitas a partir de materiais biocompatíveis e biodegradáveis e uma variedade de polímeros naturais, como a gelatina e a albumina e sintéticos, como o ácido poliláctico (APL) e ácido poli (láctico-co-glicólico) (APLG) são considerados o transportador de fármacos mais promissor, quando comparados com lipossomas (Mirza & Siddiqui, 2014).

As vantagens do uso de nanopartículas poliméricas na administração de fármacos são numerosas, a mais importante é que estas geralmente aumentam a estabilidade de agentes farmacêuticos voláteis e são fabricados de uma forma regular e

barata em grandes quantidades por uma multiplicidade de métodos. Também, as nanopartículas poliméricas podem ser “desenhadas” especificamente, permitindo que estas libertem uma alta concentração de agentes farmacêuticos no local desejado. Algumas preocupações com o uso de nanopartículas poliméricas incluem a heterogeneidade estrutural inerente dos polímeros, que vão reflectir, por exemplo, um índice elevando de polidispersidade (A. Kumar et al., 2013).

Nanocápsulas e nanoesferas

As nanopartículas poliméricas são uma classe ampla composta de sistemas vesiculares (nanocápsulas) e sistemas de matriz (nanoesferas). As nanocápsulas são sistemas em que o medicamento é confinado a uma cavidade cercada por uma membrana polimérica única, enquanto as nanoesferas são sistemas em que o fármaco é disperso em toda a matriz polimérica (A. Kumar et al., 2013).

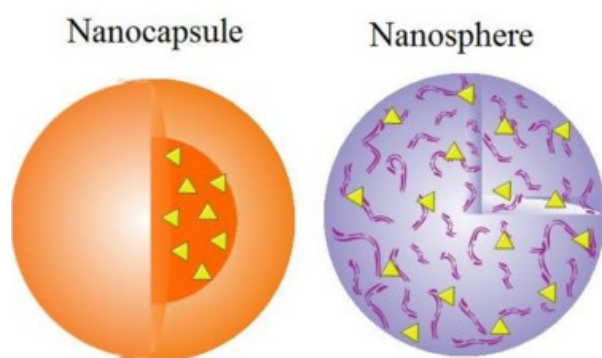


Figura 5- Exemplo esquemático da estrutura de uma nanocápsula e de uma nanoesfera. (Deda & Araki, 2015)

Micelas

As micelas são definidas como um conjunto de moléculas anfifílicas, que se agregam espontaneamente, quando em contacto com meio aquoso, adquirindo a forma de vesículas esféricas. O seu centro, que corresponde ao núcleo, é hidrofóbico, tendo, portanto, a capacidade de encapsular fármacos hidrofóbicos. As micelas convencionais são formadas por uma camada constituída por moléculas de cabeça hidrofílica e cauda hidrofóbica (Daniell, 2012). As micelas poliméricas têm sido um excelente transporte de fármaco devido à sua elevada capacidade de carga, estabilidade em condições fisiológicas, baixa taxa de dissolução, maior acumulação de fármaco no local alvo e capacidade de funcionalizar o grupo final para a conjugação dos ligandos que vão

direccionar para o alvo (A. Kumar et al., 2013). São nanopartículas que apresentam uma escolha ideal na entrega efectiva de fármacos anticancerígenos com fraca solubilidade (Yinghong Huang, Cole, Cai, & Cai, 2016).

Dendrímeros

Os dendrímeros são moléculas altamente ramificadas constituídas por camadas de dendrões, que emergem simetricamente e radialmente de um núcleo comum central, onde o número de camadas concêntricas constitui a geração de dendrímeros. (Deda & Araki, 2015). Os dendrímeros são caracterizados por: 1) um núcleo central; 2) ramos, chamados de "gerações", que partem do núcleo; 3) repetir unidades com pelo menos uma junção de derivação; 4) muitos grupos funcionais terminais. Ao contrário dos polímeros lineares, os dendrímeros possuem uma arquitectura precisamente controlável com grupos de superfície feitos à sua medida. Por serem facilmente modificáveis, estes são capazes de transportar simultaneamente drogas, agentes de imagem e ligandos de alvos (Friberg & Nyström, 2015). A estrutura molecular dos dendrímeros pode ser ajustada, e por serem geometricamente simétricas, terem muitos grupos funcionais periféricos, cavidades internas, peso molecular controlado e tamanho nanométrico, são excelentes transportadores de fármacos com bom desempenho mecânico de fluidos, versatilidade e forte capacidade de adsorção (Z. Li et al., 2017).

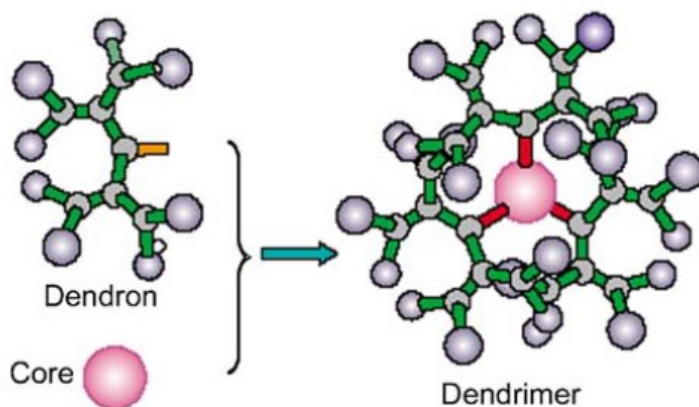


Figura 6- Estrutura básica de um dendrímero (Adaptado de Portney & Ozkan, 2006).

Polimersomas

Os polimersomas são vesículas artificiais que encerram no seu centro uma solução aquosa, resultante da auto-agregação de co-polímeros anfifílicos (X. Zhang & Zhang, 2017). Os polimersomas são consideravelmente menos permeáveis do que os

lipossomas, mesmo que a diferença da membrana seja apenas de alguns nanômetros. Esta permeabilidade reduzida pode aumentar os seus benefícios na administração de fármacos, diminuindo a taxa de liberação (A. Kumar et al., 2013). Os polimersomas são mais adequados para uso médico *in vivo* em comparação com muitos outros tipos semelhantes de estruturas vesiculares. Isso ocorre porque a capacidade dos polimersomas para encapsular moléculas hidrofílicas, hidrofóbicas e anfífilicas como outras estruturas vesiculares, em combinação com a sua membrana espessa e resistente, proporciona-lhes melhor estabilidade *in vitro* e *in vivo* (X. Zhang & Zhang, 2017)

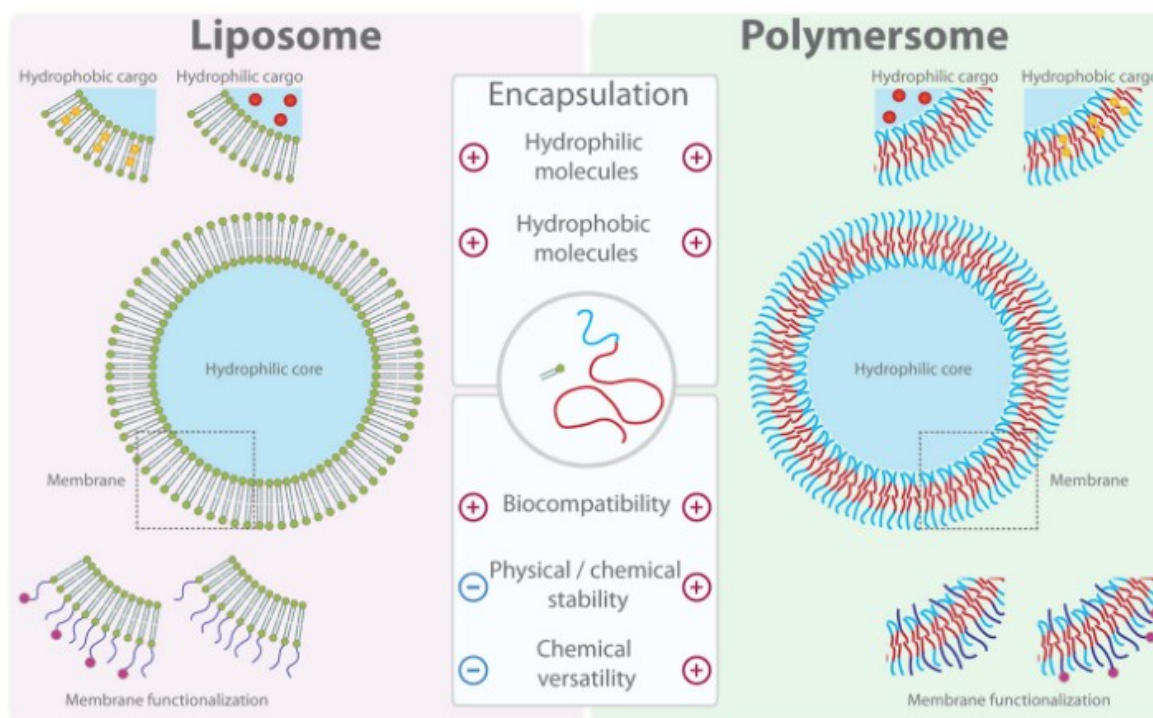


Figura 7- Novos aspectos de encapsulamento e entrega usando polimersomas. Representação esquemática de lipossomas (esquerda) versus polimersomas (direita). Os polimersomas são análogos sintéticos de lipossomas e são constituídos por uma membrana de co-polímeros anfífilicos. Enquanto a maioria das propriedades são semelhantes para ambos, os polímeros apresentam uma alta versatilidade e uma maior estabilidade (Adaptado de Messenger, Gaitzsch, Chierico, & Battaglia, 2014).

1.3.2.2- Nanopartículas Lipídicas

As nanopartículas lipídicas são um tipo de sistema de entrega de fármacos que é fabricado usando lipídios naturais ou sintéticos, como, por exemplo, o ácido esteárico, lecitina e triglicerídeos, como matriz para aprisionar fármacos anticancerígenos num núcleo lipídico. O tamanho da partícula pode ir de 50 a 1000 nm. As nanopartículas lipídicas possuem várias vias de administração, exibem boa compatibilidade biológica e

estabilidade e controlam efectivamente a liberação do fármaco para evitar a degradação e vazamento (Yinghong Huang et al., 2016).

Lipossomas

Os lipossomas consistem num núcleo aquoso cercado por uma ou várias camadas de fosfolípidos e colesterol que formam uma bicamada lipídica. Devido a esta estrutura única, os lipossomas podem encapsular agentes hidrofílicos no compartimento aquoso e agentes hidrofóbicos no espaço lipídico (membrana) (Z. Li et al., 2017).

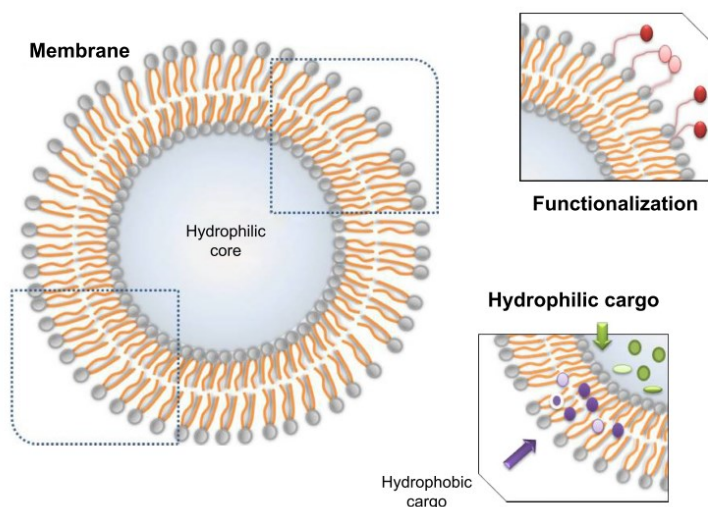


Figura 8- Localização e tipos de carga num lipossoma. A carga hidrofílica é transportada dentro do núcleo e a carga hidrofóbica dentro da membrana. A membrana pode ser conjugada com moléculas para a funcionalização e direccionamento para o alvo. (Adaptado de Irimie, Sonea, Jurj, & Mehterov, 2017).

Uma vez na circulação do paciente, o lipossoma deve ser protegido das defesas do organismo para prolongar a sua meia-vida em circulação. Para isso, os lipossomas são frequentemente revestidos com uma camada de polímero para criar o que é conhecido como um “stealth liposome” ou lipossoma furtivo. Uma das camadas protectoras utilizadas com frequência é o poli (etilenoglicol) (PEG). As formulações lipossómicas foram os primeiros transportadores de fármacos a ser introduzidos no mercado. A formulação lipossomal com PEG de Doxil® para doxorrubicina foi o primeiro produto baseado em lipossomas a ser aprovado (A. Kumar et al., 2013). A formulação lipossomal da doxorrubicina tem o mesmo efeito anti-neoplásico que o fármaco nativo, mas consideravelmente menos efeitos colaterais, especialmente no que diz respeito à toxicidade cardíaca (Friberg & Nyström, 2015).

Os lipídios também podem ser construídos para conter mais de um fármaco de modo a permitir combinações de fármacos sinérgicas, ou adicionar um agente contrastante para imagens e terapia de diagnóstico combinadas (o chamado “teranóstico”) (Friberg & Nyström, 2015).

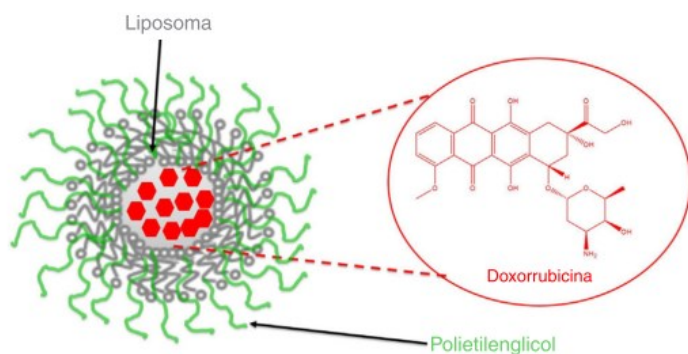


Figura 9- Representação de Doxil®. (Adaptado de Rocha, 2015)

Nanopartículas lipídicas sólidas

As nanopartículas lipídicas sólidas são uma classe de transportadores de fármacos lipoesféricos com um diâmetro médio de 10-1000 nm, formados por lipídios que permanecem em estado sólido à temperatura ambiente e corporal. Estes combinam as vantagens dos lipossomas e das nanopartículas poliméricas e apresentam alta estabilidade em ambiente fisiológico (X.-Y. Zhang & Zhang, 2016).

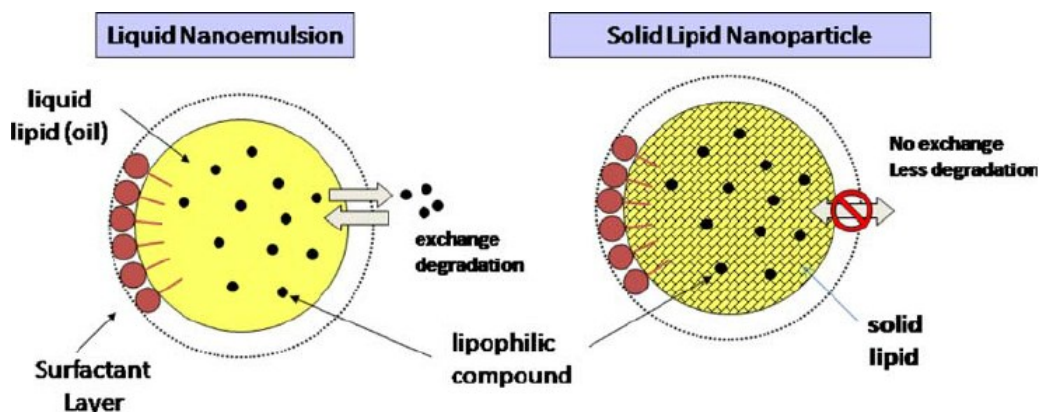


Figura 10- Estrutura de uma nanoemulsão líquida (à esquerda) e de nanopartículas lipídicas sólidas (à direita) estabilizadas por uma camada de surfactante contendo um composto bioativo lipofílico. (Adaptado de Weiss et al., 2008)

1.3.2.3 Nanopartículas Inorgânicas

Existem vários tipos de nanopartículas inorgânicas, incluindo: pontos quânticos, óxidos de ferro superparamagnéticos (conhecidos como SPIONs), nanopartículas metálicas como o ouro e a prata, nanotubos de carbono e outras nanopartículas metálicas e não metálicas, que aumentam a eficiência da radioterapia e melhoram a imagem do tumor. Várias destas nanopartículas inorgânicas são suficientemente pequenas (10-100 nm) para penetrar nos capilares e podem ser absorvidas em diferentes tecidos (Z. Li et al., 2017).

Essas nanopartículas possuem propriedades únicas adaptadas para diferentes aplicações no campo da bio-análise. Não são apenas úteis na entrega de medicamentos, mas também a confirmação da entrega no alvo é importante. O rastreamento da nanomedicina do nível sistêmico para o sub-celular torna-se essencial. Muitos marcadores fluorescentes já se encontram disponíveis. As nanopartículas não só têm a vantagem de mostrar melhorias em marcadores fluorescentes para imagens médicas e aplicações de diagnóstico, mas também na imagem de tumores e outras doenças in vivo (Mirza & Siddiqui, 2014). No entanto, muitos destes materiais levantam questões de âmbito toxicológico. Experiências pré-clínicas sugerem que a escolha criteriosa da via de administração possa facilitar o seu desenvolvimento para a prática clínica (Duncan & Gaspar, 2011).

Nanopartículas metálicas

Evidências emergentes indicam que as nanopartículas metálicas são bons sistemas de transporte de fármacos e bons biossensores. Embora tenham sido fabricadas nanopartículas compostas por vários metais, as nanopartículas de prata e ouro são de primordial importância para uso biomédico. A sua funcionalidade de superfície é muito fácil. Um grande número de ligandos tem sido associado a nanopartículas, incluindo açúcares, péptidos, proteínas e DNA. Estes, quando ligados a nanopartículas metálicas foram utilizados para a entrega de agentes bioativos, descoberta de fármacos, bioensaios, detecção, imagem e muitas outras aplicações (A. Kumar et al., 2013).

As nanopartículas de ouro estão entre as partículas mais estudadas devido ao elevado número de métodos disponíveis para preparação de colóides com tamanhos uniformes e forma bem definida. Técnicas de preparação e caracterização de nanopartículas de ouro foram revistas. Desde a década de 1970, o ouro coloidal

monodisperso tornou-se uma ferramenta citoquímica padrão. A conjugação de proteínas e lectinas permite a localização do receptor e o ouro coloidal radioactivo permite a quantificação da endocitose (Duncan & Gaspar, 2011).

As nanopartículas de ouro têm propriedades ópticas únicas que podem ser manipuladas para aplicações diagnósticas e terapêuticas. Por exemplo, a luz pode excitar electrões livres na superfície da nanopartícula e induzir a ressonância plasmática, ou uma oscilação colectiva dos electrões. Para a terapia fototérmica (TFT), as nanopartículas podem ser ajustadas variando o tamanho e a espessura do invólucro para absorver a luz incidente na faixa do infravermelho. Dentro desta faixa, a luz pode penetrar o tecido saudável e ser absorvida pelas nanopartículas, que aquecem e destroem as células cancerígenas próximas. Embora os tratamentos térmicos sejam geralmente focados em tumores locais, estudos demonstraram que estes tratamentos podem induzir uma resposta imune específica do tumor. Esta resposta é mediada pela libertação de antígenos e proteínas de choque térmico de células tumorais em apoptose, que são então capturadas por células dendríticas e outras células apresentadoras de antígenos. O sistema imunológico pode subsequentemente formar uma resposta contra as células cancerígenas em locais distantes e não tratados. (Almeida et al., 2014).

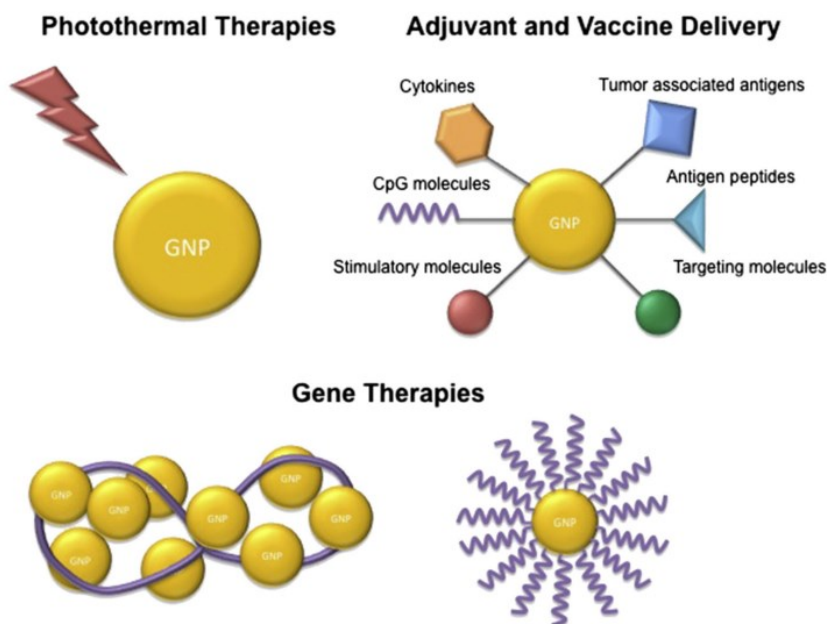


Figura 11- Aplicações de nanopartículas de ouro em imunoterapia contra o cancro (Adaptado de Almeida et al., 2014).

Fulerenos e nanotubos de carbono

Duas nanoestruturas que também receberam muita atenção nos últimos anos são os fulerenos e os nanotubos de carbono. Caracterizados por serem arquiteturas vazias, baseadas em carbono e semelhantes a gaiolas. O tamanho, a geometria e as características de superfície destas estruturas, tornam-nas atraentes transportadores de fármacos (A. Kumar et al., 2013).

Os fulerenos são uma forma alotrópica do carbono (C_{60}), sendo a terceira mais estável após o diamante e a grafite. Devido à sua forma tridimensional, às suas ligações insaturadas e à sua estrutura electrónica, os fulerenos apresentam propriedades físicas e químicas únicas, que podem ser exploradas em várias áreas da bioquímica e da medicina (Partha & Conyers, 2009). No entanto existe um grande debate sobre a potencial toxicidade. Isto é muito devido à variedade de estruturas de fulereno existentes, assim como as suas modificações de superfície (Duncan & Gaspar, 2011).

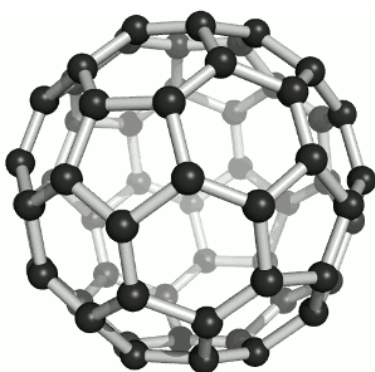


Figura 12- Modelo do Fulereno (Adaptado de <http://nanoparticle-blog.com/page/3>).

Os nanotubos de carbono são subprodutos de fulerenos criados por descarga de corrente contínua em arco. Sua forma geometria única e propriedades electroquímicas, térmicas e espectrofotométricas resultaram numa proposta do seu uso como transportadores de fármacos, agentes de imagem, biossensores para detecção de DNA e agentes de teranóstico (Duncan & Gaspar, 2011). Actualmente, as suas propriedades físicas ainda estão a ser descobertas e discutidas. O que torna a tarefa tão difícil é que os nanotubos têm uma ampla gama de propriedades electrónicas, térmicas e estruturais que mudam dependendo do tipo de nanotubos (definidos pelo seu diâmetro, comprimento e torção) (A. Kumar et al., 2013).

Os nanotubos de carbono podem ser classificados como nanotubos de parede única ou nanotubos de parede múltipla, sendo que o seu tamanho pode variar da escala nanométrica até à escala micrométrica. Mais uma vez coloca-se a questão da toxicidade, até porque a sua forma física é muitas vezes comparada com as fibras de amianto (cancerígenas) e são insolúveis em todos os solventes, o que gera alguma preocupação no risco para a saúde. Contudo, a sua superfície pode ser modificada quimicamente para torna-los solúveis em água e, conseqüentemente no sangue (Duncan & Gaspar, 2011).

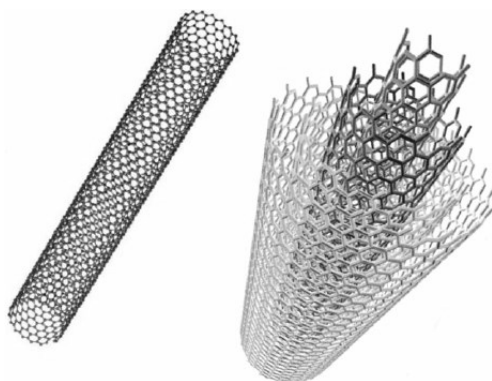


Figura 13- Nanotubos de parede única (esquerda) e nanotubo de parede múltipla (direita) (Adaptado de Terranova, Sessa, & Rossi, 2006).

Nanopartículas cerâmicas

Atualmente, o desenvolvimento de novos materiais cerâmicos para aplicações biomédicas tem sofrido um crescimento exponencial. A liberação controlada de fármacos é uma das áreas mais exploradas em termos de aplicação de nanopartículas de cerâmica na área da biomedicina (Moreno-Vega, Gómez-Quintero, Nuñez-Anita, Acosta-Torres, & Castaño, 2012).

As nanopartículas de cerâmica são tipicamente compostas por nanomateriais inorgânicos, como sílica e alumina. No entanto, o núcleo das nanopartículas não se limita apenas a estes dois materiais. Metais, óxidos metálicos e sulfetos metálicos também podem ser usados para produzir infinitas nanoestruturas com diferentes tamanhos, formas e porosidades. As nanopartículas de sílica ocas, como as nanoesculturas à base de fosfato de cálcio, foram preparadas com poros de superfície levando a um reservatório central. Em contrapartida, o material de sílica mesoporosa contém uma rede de canais complexa através do interior da nanopartícula sólida (A. Kumar et al., 2013). As propriedades distintas das nanopartículas de sílica, como a

estabilidade química e térmica, grande área superficial e volume de poros, biocompatibilidade (devido à facilidade de funcionalização da superfície) e biodegradabilidade, tornam-nas atractivas como agentes de teranóstico. Controlar a porosidade permite a entrega controlada, sequencial e multifuncional de uma multiplicidade de compostos teranósticos a numerosos tipos de células (Roy Chowdhury et al., 2016).

Uma desvantagem que estas partículas apresentam é a sua grande dimensão, que condiciona o seu acesso a determinados tecidos. Alguns autores, sugerem que existem vantagens relativas entre as formas escolhidas para estas nanopartículas. Por exemplo, as nanopartículas de sílica com forma de disco superam as de forma esférica no que respeita a evitar a absorção pelas células fagocitárias do organismo, conseguindo fluir através dos capilares e aderir às paredes dos vasos sanguíneos (Duncan & Gaspar, 2011).

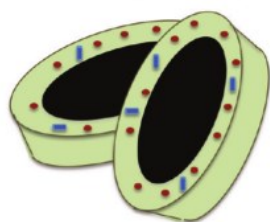


Figura 14- Nanopartículas de sílica em forma de disco (Adaptado de Duncan & Gaspar, 2011).

Nanocristais (Quantum Dots)

Quantum Dots (QDs), ou pontos quânticos, são nanocristais compostos de materiais semicondutores associados a propriedades fotofísicas únicas, incluindo bandas de emissão simétricas ajustáveis em tamanho, absorvência superior de luz, alta intensidade fluorescente e forte fotoestabilidade (X. Li, Chen, & Chen, 2016). Enquanto os fluoróforos convencionais sofrem de fotodegradação, os nanocristais de QDs apresentam propriedades ópticas estáveis necessárias para a imagem molecular direcionada do cancro (Mashinchian et al., 2014). As suas propriedades ópticas levaram ao aumento do uso da nanotecnologia baseada em QDs numa ampla variedade de aplicações biomédicas como: diagnóstico do cancro, monitoramento, tratamento e patologia molecular. A nanotecnologia baseada em QDs tem potencial para uma aplicação mais ampla, particularmente no campo da imagem *in vitro* de moléculas de cancro e detecção quantitativa (X. Li et al., 2016)

Tipicamente são compostos a partir de seleneto de cádmio (CdSe) com um revestimento de superfície de sulfetos de zinco ou cádmio para proteger contra a foto oxidação e melhorar o rendimento quântico de fluorescência (Duncan & Gaspar, 2011). Os QD podem ser sintonizados para emitir entre os 450nm e 850nm (isto é, do ultravioleta ao infravermelho próximo) alterando o tamanho ou a composição química da nanopartícula. Isso produz muitas cores de QDs, que podem ser visualizadas simultaneamente com uma fonte de luz (Alok et al., 2013). No entanto, colocam-se questões relacionadas com a toxicidade dos metais pesados, que se encontram bem documentadas. O sucesso para a sua aplicação encontra-se dependente da identificação da janela onde a dose utilizada seja elevada o suficiente para emitir um sinal passível de detecção, mas desprovida de efeitos tóxicos. O tamanho, carga, tipo de revestimento de superfície e funcionalização influenciam tanto a biodistribuição subcelular como a toxicidade, e estes elementos permitem perceber qual do destino metabólico e qual o possível impacto a nível celular da utilização a longo prazo de QDs.

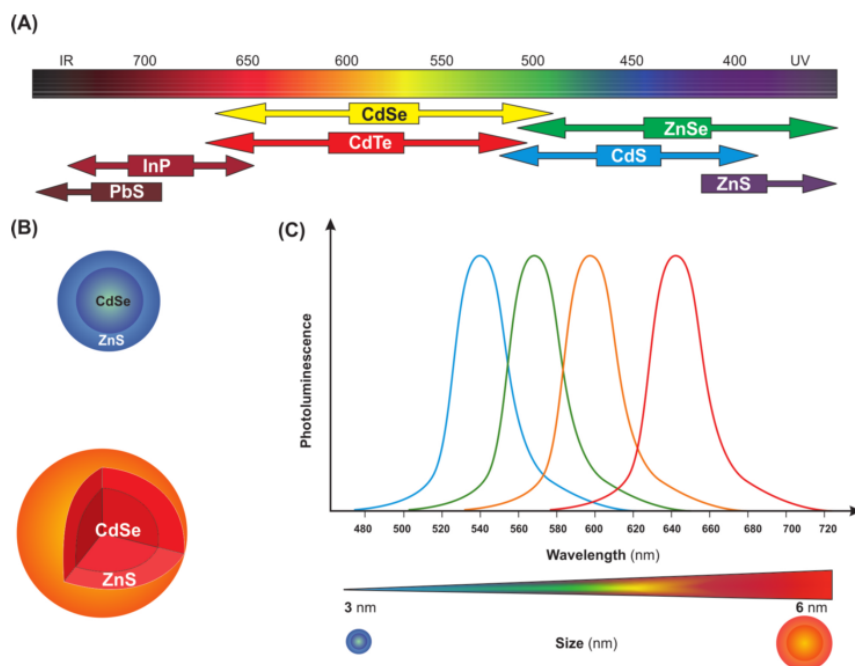


Figura 15- Representação esquemática de vários pontos quânticos (QDs). A) Diferentes tipos de QDs e as suas emissões correspondentes. B) Anatomia dos QDs. C) Emissões dependentes do tamanho dos QDs (Adaptado de Mashinchian et al., 2014).

2- Nanomedicina e Terapia Oncológica

2.1- Fisiopatologia do cancro oral

A classificação histopatológica predominante do cancro da cavidade oral é o carcinoma oral de células escamosas (COCE), que representa 84-86% dos novos casos. Os locais mais frequentemente afectados dentro da cavidade oral são a língua e o pavimento da boca. O comportamento tumoral, o diagnóstico e o tratamento cirúrgico das doenças malignas que não sejam o COCE podem diferir significativamente do mesmo, é então fundamental perceber a sua fisiopatologia.

O COCE é uma doença multifactorial. Os factores de risco podem ser extrínsecos (como o tabaco e o álcool) ou intrínsecos. As etiologias infecciosas - o HPV em particular - tornaram-se cada vez mais prevalentes, embora esta tendência seja mais clara no CCE orofaríngeo. O COCE também pode surgir de algumas lesões preexistentes (Fribley, 2016).

A via genómica desempenha um papel essencial, pelo que as alterações no genoma resultam na expressão alterada de proteínas, mediadores químicos e enzimas. A carcinogénese é um processo com múltiplos passos, cada um caracterizado pela estimulação sequencial de defeitos genéticos adicionais, seguida de expansão clonal. Devido à activação do oncogene e à inactivação do gene supressor do tumor, o COCE leva à desregulamentação da proliferação e da morte celular. As alterações genéticas incluem amplificação de genes, sobreexpressão de oncogenes, mutações, deleções e hipermetilação, levando à inactivação de genes particulares, como o gene supressor de tumor p53 (Calixto et al., 2014).

A carcinogénese é então dividida em três etapas: iniciação, promoção e progressão (Charles et al., 2015). A primeira etapa (iniciação) consiste num factor iniciador ou carcinogénico que causa dano ou mutação celular. A mutação dos ácidos nucleicos é o fenómeno central da etapa de iniciação da carcinogénese. As células “iniciadas” permanecem latentes até que sobre elas actuem agentes promotores (INCA, 2008). Os oncogenes têm um papel importante na iniciação. Com a activação dos oncogenes ou perda de função de genes conhecidos como genes supressores de tumores podem levar uma única célula a adquirir uma capacidade de crescimento distinta, o que leva ao desenvolvimento da malignidade. As mutações em p53 e p16 estão envolvidas no processo de carcinogénese. O gene p53 desempenha um papel na manutenção da

estabilidade genómica, progressão do ciclo celular, diferenciação celular, reparo do ADN e apoptose, e p16 está envolvido na regulação do ciclo celular, incluindo a prisão do ciclo celular e a apoptose. O gene supressor de tumor p53 é conhecido por ser mutado em aproximadamente 70% de todos os tumores sólidos adultos. Estas mutações do gene p53 foram associadas ao tabagismo e ao uso de tabaco nos carcinomas de células escamosas da cabeça e do pescoço (Calixto et al., 2014).

A segunda etapa (promoção) estimula o crescimento da célula que sofreu mutação, e pode acontecer a qualquer momento, após a transformação celular inicial. Os factores de promoção podem ser agentes químicos, processo inflamatório, hormonas, factores que vão actuar no crescimento celular normal. É importante destacar que o agente promotor não tem acção mutagénica nem carcinogénica e que, para conseguir efeito biológico, deve persistir no ambiente. Isto significa que os seus efeitos revertem-se, caso a exposição seja suspensa, sendo esta a grande diferença existente entre o agente promotor e o agente carcinogénico, decisiva para as acções preventivas do cancro (INCA, 2008).

A terceira etapa é a progressão, na qual ocorre o crescimento descontrolado das células e invasão dos tecidos. A angiogénese é um passo crucial nos processos de proliferação e metástase de tumores descontrolados, e a inibição da angiogénese é considerada efectiva no tratamento do cancro oral. O factor de crescimento endotelial vascular é considerado um importante factor angiogénico, e estudos demonstraram que o COCE está associado a uma concentração elevada desse factor de crescimento no soro. Estes níveis mais elevados estão correlacionados com a metástase do sistema linfático, o estágio clínico e o prognóstico e tratamento do COCE (Calixto et al., 2014).

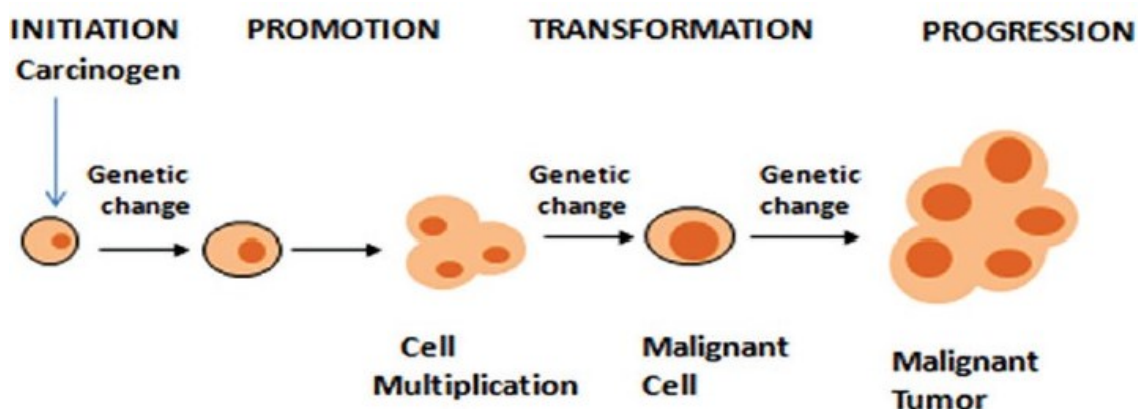


Figura16- Os diferentes estágios da carcinogénese. (Adaptado de Kaur, Singh, & Kaur, 2014)

2.2- Terapêutica convencional e as suas limitações

Actualmente as opções de tratamento incluem cirurgia, radioterapia e quimioterapia convencional. Devido à localização específica das estruturas anatómicas (respiração e deglutição), a excisão cirúrgica dos tecidos tumorais nesta região causa danos às estruturas anatómicas adjacentes ou subjacentes. Considerando que, a terapia de radiação pode ter efeitos colaterais a longo prazo para as células saudáveis que estão associadas ao cérebro, medula espinhal e glândulas salivares (como xerostomia e osteoradionecrose). Actualmente, a quimioterapia é um dos tratamentos mais efectivos (Wang et al., 2015). Os protocolos de tratamento para o cancro da cavidade oral são terapias generalizadas baseadas em estágio, terapia de quimioradioterapia e quimioterapia de indução para a doença localmente avançada. Nas terapias actuais, alguns medicamentos contra o cancro foram utilizados isoladamente ou em combinação para o tratamento do cancro oral, como cisplatina, cetuximab, fluorouracil, paclitaxel, docetaxel (DTX) e metotrexato (Calixto et al., 2014).

A grande limitação e ao mesmo tempo única forma de selectividade dos agentes quimioterapêuticos convencionais, reside na actuação apenas nas células em ritmo de divisão acelerado e, por consequência, a incapacidade de distinção entre as células tumorais e células normais com ritmo de renovação naturalmente rápido (Maeda, 2001). É por exemplo o caso dos folículos capilares, epitélio intestinal e medula óssea (Feng & Chien, 2003). É esta característica que lhes associa risco de morbilidade dos pacientes. Consequentemente, os clínicos são obrigados a aceitar a janela terapêutica demarcadamente estreita entre a dose terapêutica da dose com efeitos adversos severos (Blanco et al., 2011).

Embora, nos dias de hoje, a quimioterapia seja um dos tratamentos mais efectivos, muitas vezes não cump

re os requisitos da terapia clínica. Geralmente, os medicamentos quimioterapêuticos convencionais apresentam baixa estabilidade sistémica, solubilidade limitada em água (que levam à utilização de solventes tóxicos), efeitos colaterais indesejados relacionados com o fármaco (depressão da medula óssea e nefrotoxicidade) e semi-vida relativamente baixa que impede a sua aplicação clínica adicional. Cis-Diaminedichloroplatinum (cisplatina) é um desses fármacos que é amplamente utilizado para o tratamento de vários tipos de cancro, tais como cancros escamosos ováricos,

testiculares, colorrectais e orais, no entanto, sofre de muitos efeitos colaterais sérios (Wang et al., 2015).

A administração oral de agentes anticancerígenos é preferida pelos pacientes pela sua conveniência e potencial para tratamento ambulatorio. Além disso, a administração oral facilita a exposição prolongada a um agente citotóxico. No entanto, a baixa solubilidade em fluídos aquosos, a baixa permeabilidade aparente e baixa biodisponibilidade são observadas como limitações para a quimioterapia oral. A administração intravenosa é a mais directa e supera os padrões de absorção variável do tracto gastrointestinal. A administração intravenosa leva à biodisponibilidade imediata e completa. Assim, esta via tem o potencial de ser mais perigosa devido às altas concentrações de farmacos que são entregues aos tecidos normais, causando maiores danos aos tecidos saudáveis e o aumento das reações adversas (Calixto et al., 2014).

O cancro é uma doença altamente complexa. As limitações no tratamento do cancro oral são resultado dos desafios actuais observados em terapias contra o mesmo, incluindo a falta de detecção precoce da doença, a distribuição sistêmica não específica, concentrações inadequadas do farmaco que atingem o tumor e a incapacidade de monitorar as respostas terapêuticas. A má entrega e a residência do medicamento no local alvo levam a complicações significativas, como a resistência a vários fármacos. Actualmente as técnicas de diagnóstico clínico geralmente envolvem biópsia invasiva. O diagnóstico histopatológico adicional baseia-se em mudanças morfológicas e estruturais ao nível celular ou tecidual, o que pode não ser óbvio para tumores em estágio inicial (Alok et al., 2013).

Na tentativa de superar as desvantagens das técnicas convencionais no tratamento do cancro, a comunidade científica voltou-se para a nanotecnologia para desenvolver novos e mais eficazes sistemas de transporte de medicamentos baseados em nanotecnologia para otimizar as vias de tratamento oral e intravenosa (Calixto et al., 2014).

2.3- Melhorias na biodisponibilidade

Os nanoprodutos são muitas vezes desenvolvidos para aumentar a biodisponibilidade, capacidade de controlar a libertação de farmaco ou promover a sua vectorização, pelo que não é surpreendente que os produtos que demonstram maior

efectividade, tenham sido alvo de um criterioso estudo de farmacocinética aquando o seu desenvolvimento. Não importa quão promissora seja a sua resposta farmacológica, se o sistema não for capaz de atingir o seu alvo terapêutico, nunca será eficaz na prática clínica. O estabelecimento precoce do perfil farmacocinético é essencial, mesmo após comprovação da actividade farmacológica (Duncan & Gaspar, 2011).

A encapsulação de uma molécula numa nanopartícula ou a associação à sua superfície pode alterar o destino deste princípio activo no corpo. Os dois parâmetros principais (solubilidade e permeabilidade) são o principal determinante da biodisponibilidade após a administração oral e estes podem ser alterados pela associação de fármacos com nanopartículas. A estabilidade do fármaco também pode ser aperfeiçoada na medida em que permanece protegido no núcleo da nanopartícula. Assim, a nanotecnologia pode ser uma maneira de aumentar a biodisponibilidade ou obter uma formulação compatível com a via de administração desejada, por exemplo, a administração oral e a entrega do fármaco no sistema nervoso central (SNC) (A. Kumar et al., 2013).

A via oral não é a principal via para quimioterapia, uma vez que os fármacos utilizados para esse fim, muitas vezes não são bem absorvidos. É, por exemplo, o caso do paclitaxel, que tem muito baixa solubilidade e permeabilidade através dos enterócitos. A sua biodisponibilidade absoluta após administração oral foi relatada como sendo inferior a 7%. No entanto, a biodisponibilidade oral do paclitaxel foi aumentada para 80% após a encapsulação em nanopartículas (A. Kumar et al., 2013). Utilizando a nanotecnologia, várias desses fármacos podem ser então convertidos em formulações orais ou manipuladas em nanocristais que podem ser suspensas em água e, assim, possibilitar a administração oral (Friberg & Nyström, 2015).

Não há muitos documentos que descrevem os mecanismos de absorção de nanopartículas nos enterócitos. Existem de fato diferentes possibilidades:

- O fármaco pode ser libertado da nanopartícula e depois ser absorvido passivamente ou activamente via transcelular.
- A nanopartícula pode difundir-se passivamente através da bicamada lipídica enterócita e depois no citosol da célula.
- A nanopartícula pode ser internalizada nos enterócitos por transporte activo numa vesícula de endocitose.

- A nanopartícula pode libertar alguns materiais que vão abrir as junções entre os enterócitos e permitir que o fármaco passe através da via paracelular.

O tamanho e as propriedades da superfície das nanopartículas são de primordial importância para determinar os seus mecanismos de captação (A. Kumar et al., 2013).

Outra característica importante que as nanopartículas podem fornecer às quimioterapias é a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. A modificação ou a funcionalização de nanopartículas para administrar medicamentos através da barreira hematoencefálica para alvejar tumores cerebrais pode ser considerada como um resultado brilhante desta tecnologia. Por exemplo, a doxorrubicina não atravessa a barreira hematoencefálica, mas a sua integração com nanopartículas de polibutilciano-acrilato modificado com polissorbato 80 pode aumentar sua distribuição para o cérebro numa extensão significativa (Mirza & Siddiqui, 2014)

2.4- Vectorização de fármacos em oncologia

Além de sua capacidade de superar as barreiras biológicas e proteger as moléculas frágeis da degradação, as nanopartículas são usadas para atingir alvos farmacológicos. Esta propriedade, chamada de vectorização, é muito útil na terapia do cancro: o tumor geralmente não é de fácil acessibilidade e é particularmente difícil para um fármaco difundir-se profundamente no seu microambiente. No entanto, uma vectorização bem sucedida permite que a maior parte do medicamento atinja as células tumorais e evite o tecido saudável, o que limita os numerosos efeitos colaterais dos medicamentos anticancerígenos. Existem duas possibilidades: vectorização passiva ou vectorização activa (A. Kumar et al., 2013).

Vectorização passiva

O crescimento de um tumor sólido requer o desenvolvimento de um suprimento sanguíneo e drenagem linfática. No entanto, o desenvolvimento desses sistemas é

patológico e isso vai ter implicações profundas na entrega de nanopartículas (Zeineldin, 2017).

A estratégia de vectorização passiva assenta sobre a acumulação preferencial de fármacos em células tumorais, conseguida através do efeito de permeabilidade e retenção aumentada (EPR). O conceito deste fenómeno e o seu impacto no transporte de nanopartículas em tecidos afectados foi formulado pela primeira vez em 1986 por Matsumara. Esta teoria baseia-se no facto de que a vasculatura tumoral é caracterizada por um epitélio descontínuo, drenagem linfática deficiente e absorção reduzida do líquido intersticial, em contraste com os vasos sanguíneos normais com endotélio firmemente selado. O acúmulo subsequente de macromoléculas fornece o meio ambiente que suporta o transporte passivo de nanopartículas ao local alvo (Piktel et al., 2016). No entanto, para que o mecanismo de vectorização passiva funcione, as nanopartículas devem evitar o reconhecimento pelo sistema fagocitário mononuclear (SFM) após a opsonização. Tais nanopartículas podem ser obtidas modificando o tamanho e as propriedades de superfície do nanossistema através do enxerto de polímeros solúveis (hidrofílicos) em água como, por exemplo, o PEG (A. Kumar et al., 2013).

Estes nanossistemas são principalmente baseados no controle da liberação do componente activo por difusão passiva, através de uma barreira de difusão na sua construção física e às vezes com o auxílio de interacções secundárias para maior controle de difusão. Existe um grande interesse em avançar ainda mais esses sistemas, de modo que os componentes activos possam ser lançados numa localização específica. A maioria dos sistemas utiliza os seguintes princípios:

- pH: Os tumores geralmente têm um pH menor ($<7,0$) do que o tecido normal (pH 7,2-7,4). Isso pode ser aproveitado se a nanopartícula for construída de maneira a se dissolver em ambientes ácidos. Para alcançar esse comportamento, os polímeros são frequentemente usados.
- Temperatura: a nanopartícula pode ser construída de tal forma que se dissolve a temperaturas acima do normal (isto é, a 43°C). Essa temperatura localmente elevada pode ser alcançada por campos magnéticos oscilantes (para partículas magnéticas) ou por ressonância plasmática (para nanopartículas de ouro, por exemplo).

- Luz: a nanopartícula pode ser projectada para ser dissolvida por luz (fotodegradação). Desta forma, apenas as nanopartículas na área submetida a esse comprimento de onda, irão dissolver-se. Isso tem sido usado com terapia a laser para tumores visíveis e acessíveis (Friberg & Nyström, 2015).

A distribuição de nanopartículas dentro dos tumores começa com a marginação através da parede vascular, seguida de extravasamento dos vasos sanguíneos, difusão em todo o tecido extravascular e interacção com alvos extracelulares e intracelulares (Zeineldin, 2017). Mesmo que as nanopartículas cheguem ao interior do tumor, estas muitas vezes têm que enfrentar obstáculos adicionais. Estes incluem a heterogeneidade vascular, o fluxo sanguíneo lento, a alta pressão intersticial dentro dos tumores necróticos e a matriz extracelular que, muitas vezes, impede o acesso a células tumorais distantes da vasculatura. O tecido tumoral também contém vários tipos de células diferentes (Duncan & Gaspar, 2011). Também a alta heterogeneidade do efeito EPR causa uma limitação significativa desta estratégia, não só entre os diferentes pacientes, mas também no mesmo indivíduo, no qual uma distribuição variada dos tamanhos dos poros e, conseqüentemente, a distribuição diversificada do fármaco pode ser observada. Um impacto preciso do efeito EPR sobre a acumulação de nanopartículas nos tecidos tumorais também é difícil de determinar, uma vez que uma grande variedade de propriedades das nanopartículas, incluindo a forma, o tamanho, o potencial zeta, a presença de ligandos está envolvida neste processo (Piktel et al., 2016).

Vectorização activa

A vectorização activa é uma estratégia muito promissora no que diz respeito à acumulação do fármaco anticancerígeno no local onde este deve exibir a sua eficácia terapêutica e evitar o tecido saudável (A. Kumar et al., 2013). Esta abordagem é baseada em interacções específicas como as interacções lectina-hidratos de carbono, ligando-receptor, e anticorpo-antígeno (Allen, 2002).

A vectorização activa descreve, portanto, o uso de ligandos de afinidade para direccionar a ligação da nanopartícula a antígenos que são sobre-expressos no tecido doente. As partículas activamente direccionadas dependem do princípio do

direccionamento passivo discutido acima (o EPR), no entanto com a adição de ligandos que podem auxiliar a acumulação no tumor e a absorção de nanopartículas nas células cancerígenas via endocitose. Uma grande variedade de ligandos são usados para criar nanopartículas direcionadas. Esses ligandos são muitas vezes direcionados para receptores ou antígenos sobre-expressos em células cancerígenas que proliferam (Zeineldin, 2017). Um grande número de moléculas, incluindo receptores de transferrina, receptores do factor de crescimento epidérmico, receptores de folato, CD44 ou CD22 podem ser utilizados. Enquanto que a superfície da nanopartícula pode ser funcionalizada por uma série de agentes de direccionamento do tumor, incluindo pequenas moléculas, péptidos, anticorpos monoclonais ou os seus fragmentos, aptâmeros e ácidos nucleicos (Piktel et al., 2016).

Pequenas moléculas, como ácido fólico ou moléculas de açúcar, têm sido usadas. Os receptores de folato são sobre-expressos em muitas células cancerígenas na sua proliferação. A vectorização de receptores de folato tem sido utilizada não só com nanopartículas para propriedades de imagem do tumor, mas também para propriedades terapêuticas.

Tal como a vectorização passiva, os nanotransportadores activos devem exibir propriedades para evitar o SFM e, portanto, exibir uma meia-vida de circulação prolongada. Estes nanotransportadores são, portanto, frequentemente acoplados com PEG e os ligandos de reconhecimento de tumores podem ser anexados no final destas moléculas (A. Kumar et al., 2013).

A sobre-expressão de receptores ou antígenos em muitos cancros, conduz, por si só, a um eficiente “uptake” celular, via endocitose mediada. Uma vez que as glicoproteínas não possuem a capacidade de remover os conjugados de fármaco-polímero que entraram na célula por endocitose, este mecanismo de vectorização activa proporciona uma estratégia alternativa no combate à multirresistência de fármacos (Brown & Links, 2004).

Os nanossistemas desenvolvidos para vectorização activa, além de enfrentarem os mesmos desafios que os de vectorização passiva, isto é, durante a sua circulação têm de possuir a capacidade de evasão de receptores-alvo, que também se encontram expressos nos tecidos normais, deparam-se ainda com a heterogeneidade da expressão de receptores das células tumorais; encaram com a interacção com os receptores presentes nas células proximais da vasculatura que restringem a permeação e

confrontam-se com a possibilidade da existência de uma saturação de receptores, com a consequente perda de eficiência da vectorização. A expressão de receptores também pode variar de acordo com o estágio da doença e o microambiente tumoral. Estes factos fazem da selecção de doentes para a terapia e a escolha da dose a administrar, elementos de extrema importância (Duncan & Gaspar, 2011).

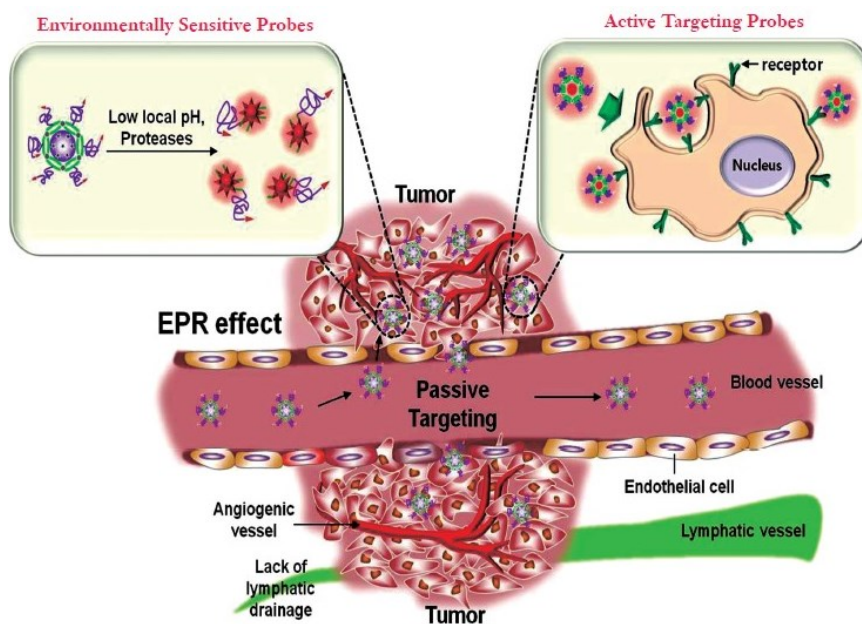


Figura 17- Representação esquemática de vectorização passiva e activa. Na vectorização passiva, o alvo é alcançado por extravasamento de nanopartículas através da maior permeabilidade da vasculatura tumoral e drenagem linfática ineficaz (efeito EPR). As nanopartículas sensíveis ao meio ambiente (à esquerda) são outro exemplo de vectorização passiva que aproveita as características dos microambientes associados a tumores (isto é, ambiente ácido e sobre-expressão de enzimas). A vectorização activa (à direita) pode ser conseguida através da funcionalização de nanopartículas com ligandos direccionados que promovam o reconhecimento e vinculação de células específicas (Adaptado de Park, 2012).

2.5- Teranóstico em oncologia: conceito e aplicações clínicas

Como as nanopartículas demonstraram ser bons vectores para imagem no diagnóstico do cancro e, por outro lado, para a sua terapia, foi proposto associar o diagnóstico e a terapia nos mesmos sistemas. Este domínio é chamado de teranóstico (A. Kumar et al., 2013). O termo foi criado em 2002 por Funkhouser para explicar a integração das modalidades de diagnóstico e tratamento concorrentes na mesma faixa de dosagem (Roy Chowdhury et al., 2016).

O teranóstico em nanomedicina é de natureza multifuncional, capaz de diagnóstico e entrega do agente terapêutico às células doentes com a ajuda de ligandos e biomarcadores (Muthu, Leong, Mei, & Feng, 2014).

Um agente teranóstico deve consistir num fármaco terapêutico (por exemplo: um ácido nucleico como miRNA ou siRNA, proteínas terapêuticas ou qualquer outro agente quimioterapêutico), ligandos de ligação e emissores de sinal (com propriedades radioactivas, ópticas ou magnéticas únicas). Estes agentes teranósticos podem ser utilizados como uma abordagem personalizada de tratamento do cancro, direccionando biomoléculas específicas para um determinado tipo de tecido cancerígeno. Isso é possível através de uma abordagem direccionada de liberação do fármaco anticancerígeno e da monitorização em tempo real, tanto da biodistribuição, como da liberação de fármacos pelas nanopartículas (Roy Chowdhury et al., 2016).

Além dos agentes terapêuticos, os agentes de diagnóstico comumente utilizados em nanomedicina incluem aqueles para imagens ópticas (usando corantes fluorescentes ou pontos quânticos (QD)), imagens de ressonância magnética (RMI) (usando metais superparamagnéticos de óxidos de ferro, os SPIONs), imagens nucleares (usando radionuclídeos) e tomografia computadorizada (usando elementos pesados, por exemplo, o iodo) (Muthu et al., 2014). Estes agentes podem ser usados para representar a progressão do tumor. Assim, ao adoptar uma abordagem nanoteranóstica, o prognóstico de diferentes tipos de cancro pode ser detectado e monitorizado juntamente com a eliminação directa e específica das células tumorais (Roy Chowdhury et al., 2016).

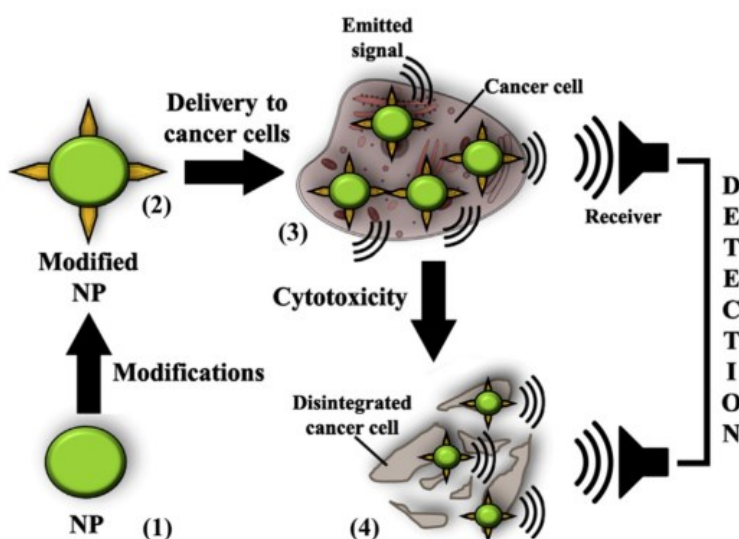


Figura 18- Um esboço do esquema funcional básico de um agente nanoteranóstico. As nanopartículas são entregues a células cancerígenas, onde vão destruir terapêuticamente a célula enquanto emitem sinais que podem ser detectados e monitorados usando um sistema de diagnóstico adequado. (Adaptado de Roy Chowdhury et al., 2016).

Um exemplo de teranóstico, foi um estudo feito por Kumar et al, em 2010, o qual consistiu no uso de SPIONs, permitindo o monitoramento por RMI, com um corante fluorescente (Cy 5.5) e siRNA dirigido contra o gene inibidor da apoptose BIRC5. Após a injeção intravenosa das nanopartículas em ratos-domésticos portadores de tumor da mama BT-20, estes tumores foram detectados por fluorescência, graças ao Cy 5.5, e dentro de 2 semanas, observou-se um alto nível de necrose e apoptose devido à acção do siRNA. A mudança do volume do tumor foi quantificada ao longo do tempo pelo monitoramento da fluorescência. Este exemplo e muitos mais na literatura, aumentam o enorme potencial do teranóstico obtido por nanopartículas na terapia do cancro (A. Kumar et al., 2013).

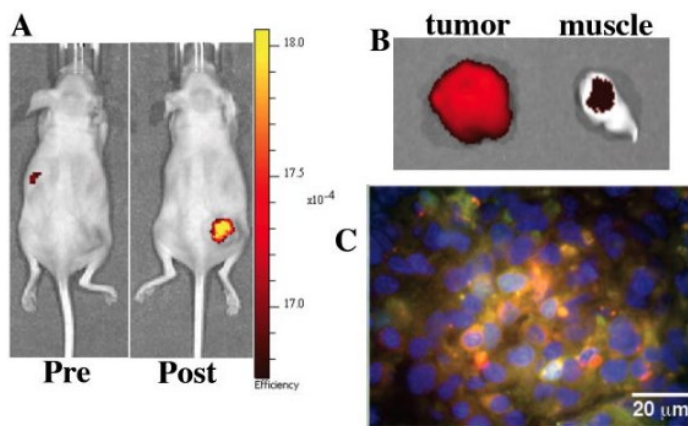


Figura 19- Imagem óptica num modelo subcutâneo de tumor da mama. (A) Imagem in vivo. O sinal brilhante do infravermelho próximo associado aos tumores em comparação com o tecido circundante, reflectiu a entrega selectiva ao tumor de siRNA. (B) Imagem ex vivo. Houve fluorescência brilhante do infravermelho próximo, associada aos tumores. Em contraste, a fluorescência do tecido muscular adjacente, que estava nos níveis de fundo. (C) Microscopia de fluorescência. A co-localização entre fluorescência no verde e infravermelho próximo reflectiu a integridade da nanopartícula após a persistência na circulação. Os tecidos foram contrastados com DAPI (núcleos, azul). (Adaptado Kumar, Yigit, Dai, Moore, & Medarova, 2010)

2.6- Outras terapias em nanomedicina

Aplicação de nanopartículas na radioterapia

O uso de radioisótopos (radionuclídeos) na prática clínica está bem estabelecido. Os radioisótopos emitem energia do núcleo e geram átomos ionizados e radicais livres que vão induzir clivagens no DNA.

Existem diferentes mecanismos de como o corpo humano elimina os radioisótopos. Muitos dos radioisótopos sofrem uma depuração rápida pelo rim. Em particular, a depuração renal é dependente do tamanho, para o qual o tamanho menor que 5 nm será excretado rapidamente. Os radioisótopos como moléculas pequenas sofrem um curto tempo de circulação no sangue e são incapazes de alcançar efeito terapêutico. Outro possível processo de eliminação dos radioisótopos é a opsonização, que é um processo imune em que as macromoléculas são eliminadas pelo sistema fagocitário mononuclear (SFM). No entanto, ao conjugar com nanopartículas, os radioisótopos são capazes de escapar a esses mecanismos de eliminação biológica.

As nanopartículas marcadas com radioisótopos foram desenvolvidas para aumentar a acumulação destes nos tumores e reduzir a biodistribuição indesejada. Li et al. aplicou as nanopartículas de sulfureto de cobre marcadas com o beta-emissor para suprimir o cancro de mama em ratos. Mais de 90% das nanopartículas foram restritas no tumor 24 h após a injeção intratumoral. Estas nanopartículas marcadas com radioisótopos não mostraram nenhum efeito colateral evidente e, uma vez combinada com a terapia fotodinâmica, ajudou a prolongar o tempo de sobrevivência dos ratos portadores do tumor para 7,6 vezes mais do que o grupo controle e ainda reduziu a metástase pulmonar (Mi, Shao, Vang, Kaidar-Person, & Wang, 2016).

Nano-imunoterapia

A imunoterapia é uma opção promissora para o tratamento do cancro com menos efeitos colaterais, activando principalmente o sistema imunológico do hospedeiro. No entanto, o efeito da imunoterapia tradicional é modesto, frequentemente devido à fuga do tumor e à resistência de múltiplos mecanismos. A nanotecnologia farmacêutica forneceu uma solução prática para resolver as limitações da imunoterapia tradicional.

Com o desenvolvimento da ciência e da nanotecnologia, os sistemas de entrega à base de nanopartículas oferecem novas esperanças para melhorar a eficiência das imunoterapias convencionais com as seguintes vantagens:

- protegem as moléculas bioactivas (por exemplo, anticorpo e antígeno) da degradação enzimática e eliminação imediata da circulação.
- entregam as moléculas bioactivas em massa com alta eficiência.
- podem ser facilmente acoplados a ligandos com direccionamento celular específico.

A nano-imunoterapia pode assim ser definida como a aplicação e o desenvolvimento da nanotecnologia para aumentar o potencial da imunoterapia, que inclui o desenvolvimento de nanopartículas para a entrega direccionada e controlada de anticorpos contra células cancerígenas (imunoterapia passiva) e de antígenos para células dendríticas (CDs) para activar e provocar uma resposta imune contra as células cancerígenas (imunoterapia activa) (W. Li et al., 2014).

Para além disso, a quimioterapia tradicional pode ser combinada com imunoterapia para combater as células tumorais (Fontana, Liu, Hirvonen, & Santos, 2017).

Terapia genética

A entrega de ácidos nucleicos é um campo que tem avançado rapidamente, atraindo cada vez mais interesse como potencial tratamento de uma grande variedade de doenças, de distúrbios genéticos (como hemofilia, imunodeficiência humana combinada severa e fibrose cística) e doenças adquiridas (tais como como infecções virais, doenças neurodegenerativas e cancro), bem como para a vacinação. A Agência Europeia de Medicamentos (EMA) define o produto da terapia genética como uma terapia em que o medicamento geralmente consiste num vector ou formulação / sistema de entrega que contém uma construção genética projectada para expressar uma sequência terapêutica específica ou uma proteína específica responsável pela regulação, reparo, adição ou deleção de uma sequência genética.

As ferramentas mais recentes incluem sequências de ácidos nucleicos de acção directa tais como microRNA, RNA de interferência (RNAi) através de RNAs de cadeia

curta (shRNA) ou abordagens de corte molecular para reparar, adicionar ou excluir uma sequência genética por meio de silenciamento de genes, saltos de exões, regulação de genes ou deleção de genes (del Pozo-Rodríguez et al., 2016)

A terapia genética ainda é subexplorada, apesar do seu grande potencial. Neste tipo de terapia, um gene é entregue a um tecido ou célula específicos de paciente. Uma vez lá, o gene codificado na forma de oligonucleótidos ou plasmídeo induzirá a expressão de proteínas, ou o gene codificado na forma de oligonucleótidos “antisense” ou siRNA irá silenciar a expressão dos genes da célula alvo (A. Kumar et al., 2013).

No entanto, os nanossistemas de transporte de ácidos nucleicos precisam superar várias barreiras antes de atingir o citoplasma celular (no caso de RNAs) ou a maquinaria nuclear (no caso de DNAs): ataques do meio extracelular, membrana celular, tráfico intracelular e envelope nuclear. Uma vantagem destes nanossistemas é a possibilidade de serem funcionalizados para superar todos esses obstáculos no processo de transfecção (del Pozo-Rodríguez et al., 2016).

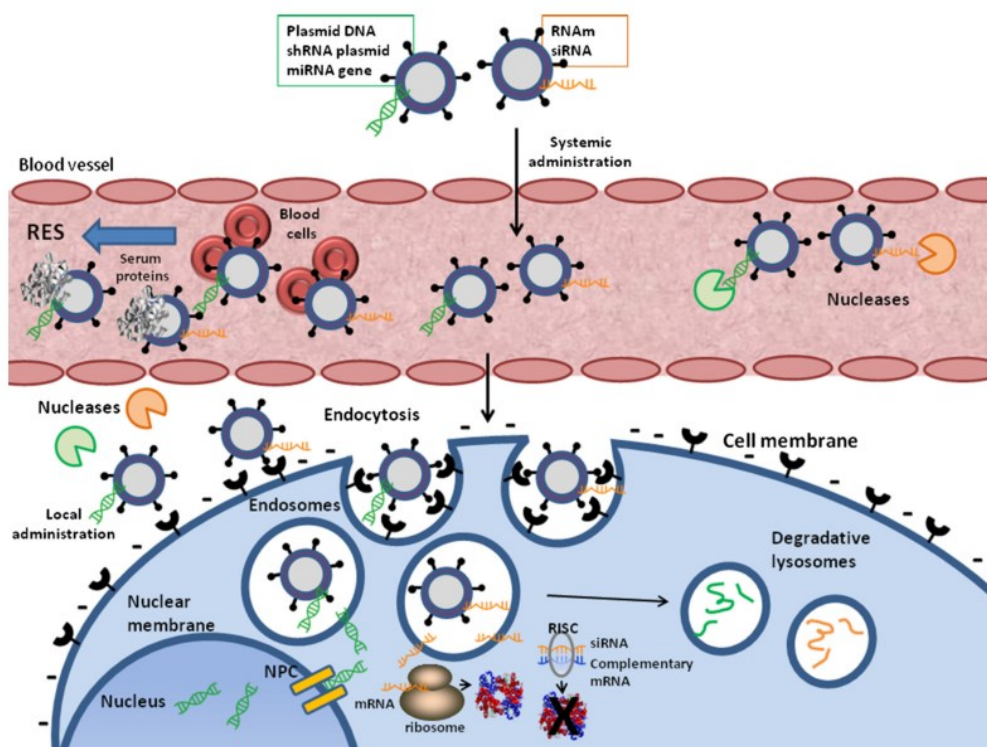


Figura 20- Barreiras que as nanopartículas precisam superar como sistemas de entrega de ácidos nucleicos. As nanopartículas podem ser projectadas para administrar DNAs ou RNAs, no entanto, estas precisam evitar a degradação dos ácidos nucleicos pelas nucleases após administração local ou sistêmica (Adaptado de del Pozo-Rodríguez et al., 2016).

Terapia fotodinâmica e fototérmica

Recentemente, a terapia fotodinâmica (TFD) foi aplicada em várias abordagens de tratamento de diferentes tipos de cancro e outras doenças. Esta aplicação contém a utilização de um fotossensibilizador, seja por aplicação sistémica ou tópica e a sucessiva iniciação da exposição à luz para a produção de espécies reactivas de oxigénio e radicais. Isto, conseqüentemente, vai matar as células cancerígenas através do mecanismo de apoptose ou necrose. Esse cenário é muito mais benéfico em comparação com as terapias convencionais de tratamento do cancro. A TFD tem uma baixa toxicidade para as células e tecidos normais e a activação apenas por luz leva a minimizar danos a essas células (Jukupli & Bagheri, 2016).

Apesar dos seus efeitos colaterais reduzidos em comparação com as terapias convencionais, muitos esforços ainda têm sido focados no aumento da selectividade e eficiência dos fotossensibilizadores. A nanotecnologia oferece muitas possibilidades e ferramentas interessantes para o desenvolvimento de sistemas de entrega de medicamentos e plataformas multifuncionais para terapia e diagnóstico. Mais recentemente, a sua eficácia contra células e tecidos tumorais tem sido melhorada combinando os efeitos sinérgicos de agentes quimioterapêuticos e outras terapias, tornando-os alternativas terapêuticas mais interessantes (Deda & Araki, 2015). A TFD também pode ser combinada com quimioterapia, radioterapia e termoterapia (Deda & Araki, 2015).

A terapia fototérmica (TFT) representa uma extensão da TFD, onde a luz do infravermelho próximo é utilizada para induzir calor e o aumento da temperatura local nos tecidos tumorais, levando a foto-ablações das células e morte celular num mecanismo independente do oxigénio. É importante ressaltar que a TFT permite o uso de luz de comprimento de onda maior que a TFD, o que é menos prejudicial para os tecidos normais. Entre uma série de nanomateriais testados para o uso na terapia fototérmica, as nanopartículas de ouro ocuparam um lugar especial. Estas apresentam-se como um sistema multifuncional que permite a terapia fotodinâmica e fototérmica combinada. (Piktel et al., 2016).

Uma dessas plataformas, que está a ser introduzida pela primeira vez, é o uso de nanopartículas à base de ouro em conjunto com a terapia fototérmica (TFT) para o tratamento do cancro oral. O Dr. Afifi et al. realizou um estudo onde usaram um modelo

de cancro oral de hamster para determinar a eficácia do tratamento de cancros localizados e superficiais com TFT e demonstraram que esse novo tratamento diminuiu significativamente o volume do tumor e aumentou a taxa de sobrevivência dos animais. Utilizaram nano-partículas de ouro esférico (Au-NP) que prepararam e injectaram em grupos de hamsters com e sem cancro. As nanopartículas de ouro entram preferencialmente dentro da vasculatura em tecidos malignos, com o efeito EPR. Além disso, o ouro tem uma ressonância óptica, de modo que, quando exposto a certos comprimentos de onda de luz, as partículas gerarão e transmitirão calor. Dada a vulnerabilidade das células cancerígenas à hipertermia, a adição de TFT pode induzir a morte celular, minimizando a toxicidade ao tecido normal circundante, onde a absorção de nanopartículas é menor (Kerr, 2013).

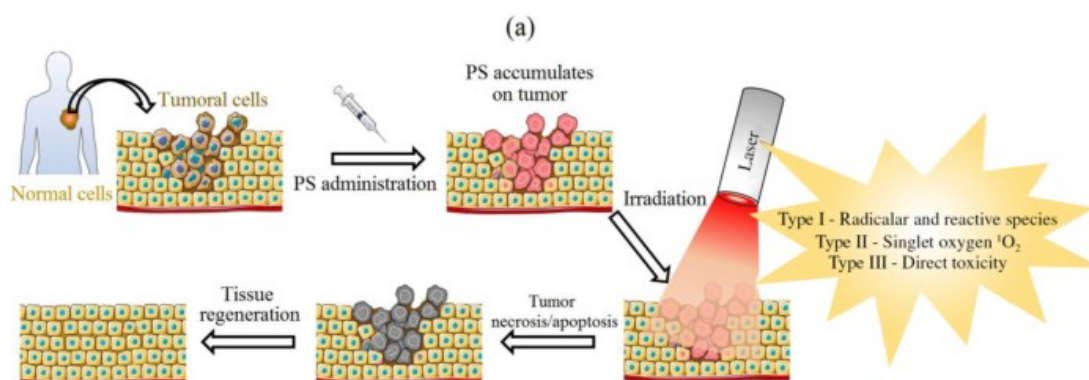


Figura 21- Esquema que mostra um procedimento clínico típico para aplicação de terapia fotodinâmica. PS (fotossensibilizador) (Adaptado de Deda & Araki, 2015).

Magneto-hipertermia

A lógica subjacente à hipertermia é o fato de que as temperaturas entre 40 e 44°C são citotóxicas e menos toleradas pelas células tumorais do que pelas células saudáveis especialmente em ambientes com condições de hipoxia e valores de pH baixos que normalmente são encontrados nos tecidos tumorais (Riehemann et al., 2009).

A magneto-hipertermia, baseia-se no princípio de que uma nanopartícula magnética (por exemplo as nanopartículas de ferro) seja direcionada ao local de interesse e gere calor por meio de um campo magnético alternado, liberando energia térmica e eliminando, conseqüentemente, as células tumorais devido às elevadas

temperaturas. Em contrapartida, o aquecimento convencional dos tecidos por microondas ou laser resulta também na destruição das células normais próximas ao tumor, sendo muitas vezes maléfico ao tratamento (Johannsen et al., 2007).

Foi feito um estudo sobre a acção de nanopartículas magnéticas de ferro no cancro oral, no qual trinta hamsters sírios foram divididos igualmente em cinco grupos, sendo um grupo controle normal no qual não foi induzido tumor. No restante dos animais foi feita a indução do cancro oral por meio da aplicação do carcinógeno DMBA na bochecha direita dos hamsters, resultando no desenvolvimento de COCE. Os grupos com tumor foram tratados com nanopartículas. Dentre estes animais, um grupo foi tratado exclusivamente desta forma e outros dois grupos foram separados para combinar a terapia de nanopartículas à exposição a um campo magnético capaz de gerar hipertermia. Um grupo foi eutanasiado um dia pós-tratamento e outro grupo após sete dias. Os tecidos da cavidade oral foram corados com Hematoxilina-Eosina e Azul da Prússia, bem como os seus corações, pulmões, fígados, rins e baços. Foram feitas imunocitoquímicas do tecido oral para os anticorpos PCNA e caspase-3 activada, marcadores de proliferação celular e apoptose, respectivamente; e o sangue dos animais foi retirado, para análise dos leucogramas. O grupo não tratado e os animais tratados somente com nanopartículas apresentaram COCE in situ com diversas mitoses atípicas e presença de infiltrado mononuclear. Entretanto, os animais tratados com nanopartículas associadas à hipertermia como terapia demonstraram regressão do cancro atestada pelas análises histopatológicas, imunocitoquímicas e pela quantidade normalizada de leucócitos (Candido, 2013).

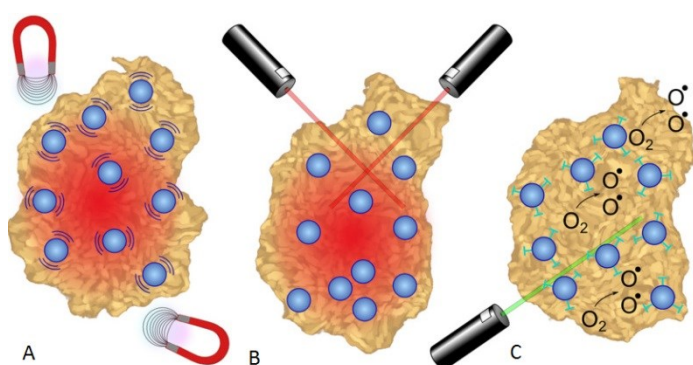


Figura 22- (A) Na hipertermia magnética, um campo magnético alternado faz com que as nanopartículas gerem calor, induzindo necrose tumoral. (B) Na ablação fototérmica, a luz absorvida pelas nanopartículas é convertida em energia térmica causando morte celular na vizinhança. (C) Para a terapia fotodinâmica, os agentes fotossensibilizantes ligados a nanopartículas são activados por uma fonte de luz externa para criar espécies reactivas de oxigénio que são citotóxicas para as células (Adaptado de Revia & Zhang, 2016).

3- Nanomedicina e diagnóstico em oncologia

O diagnóstico do cancro pode ser praticado na forma de “biosensing” (ou biodeteção), ou diagnóstico por imagem. A biodeteção consiste na detecção de biomoléculas que servem como biomarcadores do cancro ou detecta células específicas de cancro, como células estaminais cancerígenas ou células cancerígenas circulantes. A imagem detecta e monitoriza o cancro ou pode mesmo auxiliar na cirurgia para orientar a excisão do tecido afectado (Zeineldin, 2017).

Actualmente no mercado estão disponíveis diferentes tipos de técnicas de diagnóstico por imagem amplamente utilizadas, como o ultra-som (US), tomografia computadorizada (TC), imagem por ressonância magnética (MRI), tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), tomografia por emissão de positrões (PET). Embora essas técnicas ofereçam uma excelente caracterização anatómica e morfológica da doença, são obtidas em estádios avançados, apresentando uma resposta terapêutica fraca e um mau prognóstico.

Recentemente, a imagem biomédica recebeu uma atenção enorme tendo em vista a sua capacidade de auxiliar na análise e diagnóstico através de imagens aos níveis molecular e celular. Como resultado, surgiu uma nova disciplina, conhecida como "imagem molecular", que combina biologia molecular e imagens *in vivo*. O objectivo desta disciplina é monitorar e medir os processos biológicos em indivíduos vivos através de dados espectrais. A medição e monitoramento de processos biológicos fornecem informações semelhantes às de uma biópsia, mas não é invasiva e é realizada em tempo real, oferecendo assim a possibilidade de acompanhamento sequencial e longitudinal. O uso de técnicas de medicina molecular permite que as mudanças moleculares associadas ao início e desenvolvimento de estádios patológicos sejam quantificadas e a abordagem pode fornecer um diagnóstico precoce e prognóstico de doenças (Estelrich, Sánchez-Martín, & Busquets, 2015).

Uma boa imagem a nível médico exige um aprimoramento adequado do sinal no local de interesse para obter um bom contraste com o tecido normal circundante, e deve ser capaz de fazer uso rotineiro desses agentes para a detecção precoce e localização de várias patologias em diferentes tecidos.

É importante procurar maneiras de fornecer uma solução para melhorar a sensibilidade do diagnóstico, a absorção específica do agente de contraste pelo alvo

afectado e o design de diferentes tipos de energia para produzir o diagnóstico (luz, som, feixe de electrões, etc.) (A. Kumar et al., 2013).

As vantagens do uso de nanomateriais em imagens incluem:

- A sua capacidade de gerar e / ou amplificar sinais de imagem.
- A sua capacidade de vectorização, porque a sua superfície pode ser funcionalizada e, desta forma, direccionada a células alvo.
- A sua multimodalidade, pois alguns nanomateriais podem produzir sinais para mais do que uma tecnologia de imagem.
- A sua utilidade na detecção de micro-metástases normalmente não detectadas, através de métodos de imagem não-moleculares.
- Alguns têm um valor teranóstico (Zeineldin, 2017).

As nanopartículas emergiram como agentes de diagnóstico e tratamento com a distinção da sua superfície poder ser manipulada, permitindo assim um período de circulação intravascular mais longo, a manipulação física e química da energia, e sendo direccionadas especificamente para o alvo, alcançando uma captação específica de células específicas, permitindo uma maior sensibilidade de detecção através da amplificação do sinal patológico (A. Kumar et al., 2013).

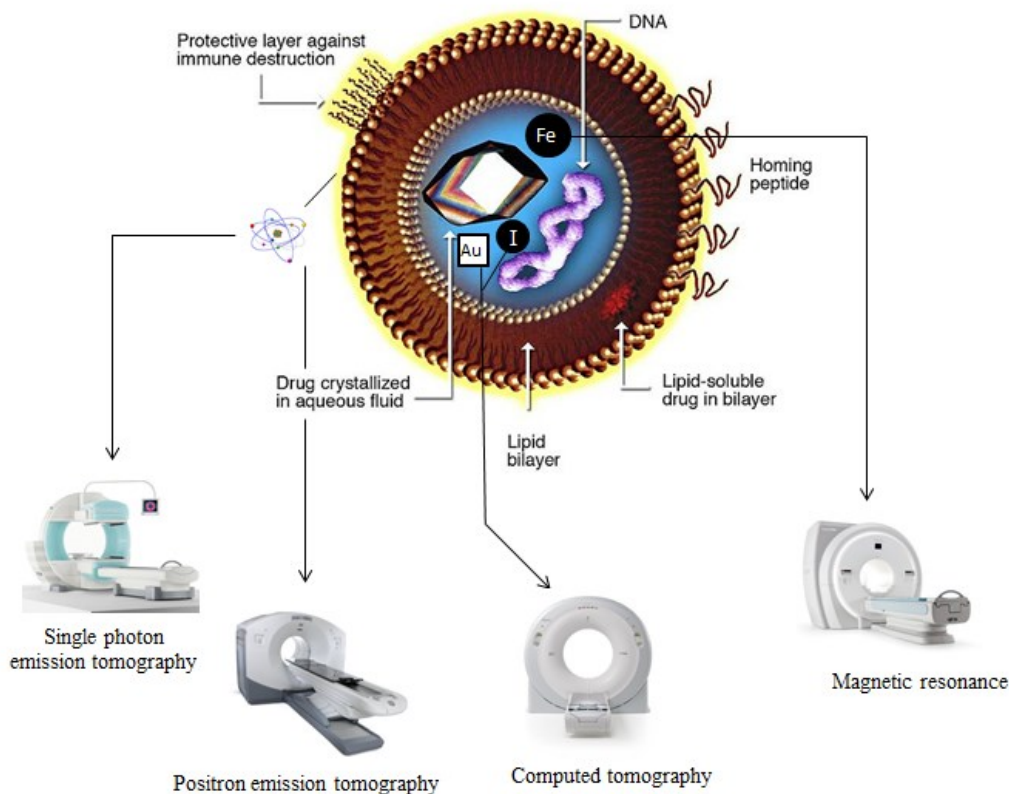


Figura 23- Imagem de um lipossoma visualizado por múltiplas técnicas de imagem de medicina radiológica e nuclear (SPECT, PET, CT, MRI). Na superfície do lipossoma, um radioisótopo é anexado para ser visto pelo detector de câmara gama; O PEG também é observado como sendo capaz de evitar a destruição do lipossoma pelo sistema imune e permanecer por um período de tempo mais longo na circulação intravascular; os péptidos projectam um alvo activo. O invólucro lipídico é observado incorporando fármacos terapêuticos lipofílicos. Dentro do lipossoma, as partículas terapêuticas e diagnósticas são transportadas em solução aquosa (fármaco, DNA, ferro, iodo e ouro) (Adaptado de A. Kumar et al., 2013).

3.1- Biosensing

A pesquisa de biomarcadores em lesões da cavidade oral pode ser feita a nível serológico, a nível histológico através de biópsias representativas da lesão, ou através de recolha de saliva. O uso de saliva é vantajoso em relação aos outros, uma vez que a saliva é um fluido de recolha fácil, indolor, rápida e não invasiva (Wadsworth et al., 2004).

Um biomarcador é uma molécula específica com uma característica especial que se torna fundamental para medir o progresso da doença ou os efeitos do tratamento. Portanto, torna-se uma nova ferramenta de diagnóstico, isolada ou em combinação com métodos tradicionais. As características ideais de um biomarcador são: serem específicos, sensíveis, preditivos e úteis em ensaios pré-clínicos e clínicos (Mendez Lopez, 2012).

A detecção molecular pode ser baseada em alterações nas proteínas ou em ácidos nucleicos. Consideram-se marcadores moleculares baseados em ácidos nucleicos as mutações no gene p53, hipermetilação anormal de promotores, mutações no ADN mitocondrial, actividade da telomerase, entre outros. Os marcadores moleculares proteicos dizem respeito a alterações pós-transcrição que podem ser causadas por processos de carcinogénese, nomeadamente processos de hipermetilação (Wadsworth et al., 2004).

Devido à sua composição celular, à sua acessibilidade, à possibilidade de uma colheita não invasiva e ao seu conteúdo de proteínas, mRNAs, enzimas e produtos químicos (biomarcadores potenciais), a saliva permite identificar doenças como periodontite, epilepsia, síndrome de Sjögren, lesões premalignas e malignas (Mendez Lopez, 2012).

De facto, desde 2007 que a tecnologia tem vindo a permitir aos investigadores desenvolver um sistema de nanotecnologia com base num biossensor eletroquímico capaz de identificar biomarcadores salivares. Este sistema designa-se de teste oral fluido

nanossensor (OFNASET), e caracteriza-se pela sua fácil utilização, como também, pela sua rapidez em detectar proteínas salivares e ácidos nucleicos na determinação de várias doenças. Efectivamente, este pode ser utilizado em consultório médico, com o objectivo de se conseguir rapidamente os resultados de um rastreio de uma patologia (Yakob, Fuentes, Wang, Abemayor, & Wong, 2014).

Actualmente, as técnicas proteicas e genómicas tornaram-se uma área de desenvolvimento e pesquisas importantes para o projecto de métodos não invasivos na detecção precoce e no seguimento do cancro oral (Mendez Lopez, 2012).

3.2- PET e SPECT em nanomedicina

Actualmente o esforço das nanopartículas no campo da medicina nuclear centra-se na identificação altamente específica de diferentes processos fisiológicos, desde mudanças no metabolismo da glicose, ácidos gordos e proteínas, à demonstração de expressão genética e mudanças de sinal devido a um aumento ou diminuição da concentração de receptores na superfície celular ou no espaço intracelular (A. Kumar et al., 2013).

A abordagem mais prudente que fornece informações quantitativas sobre a biodistribuição no corpo inteiro realiza-se incorporando radioisótopos adequados nas nanopartículas - um processo conhecido como "radiomarcção". Após a administração das nanopartículas radiomarcadas em indivíduos vivos, a sua biodistribuição in vivo pode ser monitorizada de forma não invasiva por técnicas de imagem molecular, como a SPECT e a PET (Chakravarty, Goel, Dash, & Cai, 2017).

As imagens de fotões gama (γ), tanto a PET como a SPECT, são métodos predominantes para uma melhor visualização da biodistribuição in vivo de nanopartículas. No caso do PET, dois fotões de 511 keV (resultantes da colisão entre um positrão e um electrão) são emitidos em direcções opostas e são detectados e usados para localizar as partículas. Em contraste, a SPECT usa emissão de fotões individuais com um sistema de colimação combinado para prever o caminho do fotão e, portanto, da partícula a ser localizada dentro do corpo (A. Kumar et al., 2013).

Para imagens de PET e SPECT bem-sucedidas usando nanopartículas radiomarcadas, existem quatro parâmetros importantes que precisam ser cuidadosamente considerados: a escolha do radioisótopo, a escolha de uma nano-

plataforma adequada, o método de radiomarcção e a estabilidade do agente radiomarcado.

As nanopartículas radiomarcadas podem actuar como amplificadores de sinal, levando a índices de contraste aumentados e sensibilidade aumentada em relação aos radiomarcadores convencionais. Devido à grande área de superfície das nanopartículas, estas podem ser conjugadas com diferentes ligandos de vectorização para detecção direccionada de vários tipos de cancro. Além disso, as nanopartículas oferecem a oportunidade da imagem multimodal que oferece vantagens sinérgicas em relação a qualquer modalidade de imagem molecular utilizada individualmente (Chakravarty et al., 2017).

Os pontos fortes e as limitações inerentes de cada modalidade de imagem estimularam o desenvolvimento de sistemas multimodais, como per exemplo: SPECT/CT, PET/CT, óptica/CT e PET /MRI para imagens sinérgicas. Devido à sua alta sensibilidade de detecção, quantificação, profundidade de penetração ilimitada, assim como avanços no desenvolvimento de radiomarcadores, as modalidades de imagem nuclear não-invasiva, SPECT e PET oferecem grandes oportunidades na detecção da lesão inicial, rastreio e estratificação de pacientes e no monitorização do tratamento individualizado e optimização de dose (Goel, England, Chen, & Cai, 2016).

Novos estudos mostram a utilidade de imagens multimodais com agentes SPECT/MRI para a localização do nódulo sentinela. Madru et al. produziram nanopartículas com um núcleo de óxido de ferro revestido com PEG e marcado com Tc-99m atingindo uma eficiência de 97% às 24 h após marcação em água e plasma sérico e observou-se um acúmulo do agente de contraste no nódulo sentinela de 100% e no fígado e baço de 2% (A. Kumar et al., 2013).

Adicionalmente, diferentes agentes terapêuticos (fármacos quimioterapêuticos e radioisótopos terapêuticos adequados) podem ser incorporados na mesma nanoplataforma, que pode ser uma opção viável para a terapia com base na multimodalidade para uma melhor gestão do cancro (Chakravarty et al., 2017).

3.3- Ressonância Magnética em nanomedicina

A imagem de ressonância magnética (MRI) é a que fornece a melhor resolução espacial quando comparada com outras técnicas e é não invasiva ou, pelo menos, minimamente invasiva. Infelizmente, a ressonância magnética não foi aplicada ao seu pleno potencial para o diagnóstico de cancro, principalmente devido à sua baixa especificidade (por exemplo, a taxa de falso-positivo para o cancro da mama é de 10%). No entanto, a falta de especificidade da MRI pode ser corrigida usando marcadores celulares e propriedades únicas das nanopartículas paramagnéticas e superparamagnéticas, que podem ser utilizadas para serem detectadas com ressonância magnética em pequenas quantidades (Blasiak, Van Veggel, & Tomanek, 2013).

A alta resolução e o excelente contraste de tecidos moles são as principais vantagens em relação a outras técnicas de imagem *in vivo*. A ressonância magnética depende de grandes campos magnéticos e radiofrequências e faz uso dos tempos de relaxamento de prótons em moléculas móveis, como água, lipídios e proteínas presentes em órgãos em diferentes concentrações, para produzir imagens anatómicas de tecidos moles de alta resolução com bom contraste endógeno (Estelrich et al., 2015).

A acumulação dos agentes de contraste baseia-se unicamente nas diferenças da vasculatura entre o tumor e os tecidos normais, assim, o reconhecimento por MRI de tipos específicos de tumores não é alcançado. A imagem de RM ultrapassa essa desvantagem aproveitando as propriedades específicas das células (como um padrão único de expressão de proteína) do tumor ao utilizar nanopartículas superparamagnéticas, permitindo a detecção sensível e específica de alvos moleculares associados a eventos precoces na carcinogénese (Blasiak et al., 2013).

Dentro do campo da ressonância magnética, as nanopartículas são compostas por óxido de ferro que actua como agente de contraste negativo. Existem dois tipos actualmente aprovados para uso clínico, partículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIO) e partículas ultrapequenas de óxido de ferro superparamagnético (USPIO).

Os agentes SPIO (Feridex IV®, Endorem®) são capturados por células do SRE do parênquima hepático normal. Portanto, ao aumentar o contraste entre este e o tecido hepático patológico, torna-se muito útil para o diagnóstico de carcinoma hepatocelular e lesões metastáticas intra-hepáticas.

Os agentes da USPIO (Sinerem®, Combidex®, Clariscan®) são capturados por macrófagos, tornando este agente útil para diferenciar entre nódulos inflamatórios e metastáticos (A. Kumar et al., 2013).

A combinação de imagens moleculares de MRI de alta resolução com a entrega de fármacos facilitará a verificação e quantificação do tratamento e oferecerá novas abordagens clínicas para muitas doenças (Semkina et al., 2017).

3.4- Tomografia computadorizada em nanomedicina

A forma primária de agente de contraste para imagem baseada em raios-x são moléculas pequenas iodadas, como o iopamidol ou o iodixanol. No entanto, esses agentes iodados apresentam uma série de inconvenientes, incluindo reacções alérgicas do paciente e contra-indicação para uso em insuficiência renal, devido ao risco de nefropatia induzida por contraste. Além disso, as meias-vidas desses agentes são muito curtas, exigindo altas doses e imagens rápidas pós-injecção. Mais importante, eles têm baixa especificidade para os tumores. São então necessários agentes de contraste aprimorados para detecção de um tumor através da TC (Davis et al., 2015).

Lipossomas com lodo podem ser usados para detecção otimizada de tumores, inflamações e infecções. Estes têm a vantagem de ter uma estrutura membranosa e podem ser manipulados para adicionar moléculas como o PEG à superfície dos lipossomas, aumentando assim o tempo de circulação no plasma. Podem, ainda ter anticorpos de marcação (imunolipossomas) para encontrar tecido alvo específico, obtendo um aumento do meio de contraste no local da lesão (A. Kumar et al., 2013).

Desde há vários anos, muito trabalho tem sido realizado com nanopartículas de ouro. Com um número atômico mais alto e um coeficiente de absorção maior, o ouro fornece aproximadamente 2,7 vezes maior contraste por unidade de peso que o iodo. O ouro tem menos interferência óssea e tecidual e consegue um contraste melhor com doses mais baixas de raios-x. A depuração renal das nanopartículas é mais lenta em comparação com os produtos iodados e, por isso, permitem mais tempo de visualização. Os vasos sanguíneos com menos de 100 micra de diâmetro podem ser delineados e regiões com maior vascularização e angiogénese podem ser distinguidas (Davis et al., 2015).

Kim et al. projectou nanopartículas de ouro multifuncionais para teranóstico, adicionando aptâmeros de RNA na sua superfície que se ligam ao antigénio específico de membrana prostático e carregados com doxorubicina obtendo um sinal tomográfico com uma força quatro vezes maior do que a standard (A. Kumar et al., 2013).

3.5- Ultra-sonografia em nanomedicina

O ultra-som é um campo com muitas vantagens, especialmente devido ao seu baixo custo, conveniência e capacidade de imagens de ultra-som em tempo real. (Son, Min, You, Kim, & Kwon, 2014).

Mais tarde, o conceito de imagens de ultra-som com contraste direccionado foi proposto. Vários materiais foram projectados para a visualização de ultra-som, como “microbubbles” ou microbolhas direccionadas, com uma estrutura esférica e aplicações múltiplas. Uma das vantagens dessas microbolhas em relação a outros agentes de contraste convencionais noutras técnicas de imagem (TC, MRI) é que elas têm uma circulação intravascular mais longa, permitindo um período prolongado de contraste intravascular para visualização. Outra vantagem significativa é a oportunidade de avaliar os parâmetros do contraste em tempo real sem ter que predefinir os tempos de varredura ou o rastreamento de bolus e, além disso, a possibilidade de repetir o teste por ser bem tolerado pelo paciente (A. Kumar et al., 2013).

Convencionalmente, os agentes de contraste de ultra-som comercialmente utilizados são microbolhas com tamanhos na gama micrométrica, como SonoVue®, Definity®, Luminity®, Sonazoid®, Levovist® etc., que são compostos principalmente de gás insolúvel e um invólucro incapsulante (lipídios, proteínas ou polímeros) (Zheng, Xu & Chen, 2013).

Geralmente, as “microbubbles” são extremamente seguras e têm uma incidência muito baixa de efeitos adversos. Estes não são nefrotóxicos ou cardiotoxicos e a incidência de hipersensibilidade ou alergia aparece em números menores que nos agentes de contraste de TC e MRI.

Para aumentar a especificidade de detecção da lesão, podem ser adicionados à superfície das “microbubbles” anticorpos, péptidos e hidratos de carbono como ligandos específicos para o alvo (A. Kumar et al., 2013).

3.6- Imagem Óptica em nanomedicina

Nos últimos anos, a área do campo de imagem óptica ganhou grande interesse. O campo da fluorescência ganhou grande importância pelo impacto que poderia ter a nível cirúrgico. A imagem de fluorescência intra-operatória específica do tumor pode melhorar os esforços na cirurgia cito-redutora e assim melhorar o prognóstico (A. Kumar et al., 2013).

Os pontos quânticos (QDs) são nanocristais semicondutores associados a propriedades fotofísicas únicas, incluindo bandas de emissão simétrica ajustáveis em tamanho, absorvência de luz superior, alta intensidade fluorescente e forte fotostabilidade (X. Li et al., 2016) Os QDs podem ser sintonizados para emitir entre 450 nm e 850 nm (isto é, do ultravioleta ao infravermelho próximo) alterando o tamanho ou a composição química da nanopartícula. Isso produz várias cores de QDs, que podem ser visualizadas simultaneamente com uma fonte de luz (Alok et al., 2013).

As suas propriedades ópticas levaram ao uso crescente de nanotecnologia baseada em QDs numa ampla variedade de aplicações biomédicas, como diagnóstico, monitoramento, tratamento e patologia molecular do cancro. A nanotecnologia baseada em QDs tem potencial para uma aplicação mais ampla, particularmente no campo da imagem *in vitro* de moléculas de cancro e detecção quantitativa (X. Li et al., 2016).

Os QDs também possuem uma grande área de superfície que pode ser funcionalizada para ligação a agentes de diagnóstico múltiplo (por exemplo, radioisotópico ou magnético) e terapêuticos (por exemplo, fármacos anticancerígenos) (Alok et al., 2013).

No entanto, os QDs têm várias desvantagens, como a visualização *ex vivo* da biodistribuição, a penetração limitada de tecidos, o limite de resolução espacial na profundidade do tumor, a localização e o medo da potencial toxicidade, que se tornaram um tema de discussão e debate (A. Kumar et al., 2013).

4- Nanotecnologia em oncologia: quais os desafios?

Durante o desenvolvimento de nanoproductos para aplicação na área da oncologia, a peculiaridade e complexidade dos tumores, e a diferença patente entre o

seu tipo de células em relação às células de um tecido/órgão normal, devem ser ponderadas.

Foram descritas várias barreiras biológicas que os nanoprodutos podem ter que superar para atingir os seus alvos (Summary, 2011). O transporte do agente terapêutico desde a circulação sistémica até às células tumorais compreende quatro passos: primeiro o transporte pelo sangue até às regiões tumorais através dos vasos sanguíneos; segundo, a passagem através da parede do vaso sistémico, depois através do espaço intersticial tumoral e por último alcançarem as células alvo passando pelas suas membranas celulares (Rakesh K. Jain & Stylianopoulos, 2010). Além disso, as nanopartículas podem ter que superar a barreira adicional representada pela pressão que se constrói em tumores devido aos seus vasos sanguíneos com extravasamento, onde podem penetrar moléculas maiores. Essas moléculas acumulam-se e atraem fluidos, criando pressão nas células tumorais que impedem a entrada até de pequenas moléculas (Summary, 2011).

Vascularização anormal (sanguínea e linfática)

A rede vascular tumoral é caracterizada por canais dilatados e tortuosos, com padrões aleatórios de interconexão e ramificação. Ao contrário da microvasculatura do tecido normal, que tem uma ordem de ramificação organizada e regular, a microvasculatura tumoral é desorganizada e carece da hierarquia convencional dos vasos sanguíneos. As arteríolas, os capilares e as vénulas não são identificáveis, em vez disso, os vasos são ampliados e muitas vezes interligados por shunts bidireccionais. Uma consequência fisiológica dessas anormalidades vasculares é a heterogeneidade do fluxo sanguíneo do tumor, que resulta numa perfusão pobre e heterogénea no tumor e pressão de fluido intersticial elevada, devido ao extravasamento constante de fluido, o que, por sua vez, cria condições intratumorais hipóxicas e ácidas (Nakamura, Mochida, Choyke, & Kobayashi, 2016).

Também a estrutura da parede dos vasos sanguíneos, nos tumores, é anormal, possuindo grandes junções interendoteliais, com uma membrana basal excepcionalmente grossa ou fina, um elevado número de poros e canais transendoteliais formados por vesículas, e com um diâmetro de poros a rondar as centenas de nanómetros (Hashizume et al., 2000). Devido à sua estrutura irregular, as paredes dos vasos são hiperpermeáveis em algumas zonas, enquanto noutras não. Finalmente a proliferação das células tumorais e/ou do estroma, exercem compressão contra as paredes dos vasos, o que pode levar ao seu colapso.

A rede linfática normal tem como objectivo drenar os excessos de líquidos dos tecidos, a fim de manter o equilíbrio dos fluidos do tecido intersticial (Padera et al., 2004). No entanto, num tumor esta drenagem é ineficiente e em conjunto com o extravasamento de fluidos das paredes dos vasos tumorais, contribui para a hipertensão intersticial (R. K. Jain, 2005). Este ambiente impede a penetração de nanofármacos no interior do tumor e, portanto, contribui para a progressão do tumor, metástases e resistência aos medicamentos.

Sistema retículo endotelial (SRE) e sistema fagocitário mononuclear (SFM)

Para que se possa existir uma maior acumulação de nanopartículas no interior do tumor através do efeito EPR, estas devem permanecer em circulação o tempo necessário. Contudo, e uma vez na corrente sanguínea, estão sujeitas a depuração pelo SFM ou SRE que faz parte do sistema imunitário (Hume, 2006).

O SRE e o SFM consistem no grupo de macrófagos em circulação que tem como função livrar o organismo de corpos estranhos e necessitam de opsoninas como agentes de reconhecimento intermediários. As opsoninas, são proteínas que englobam imunoglobulinas, sistema do complemento (C3, C4 e C5), fibronectinas, colagénio tipo I, entre outros. Estas, através do estabelecimento de interacções ligam-se ao corpo estranho preparando-o para o reconhecimento do SRE e sua posterior *clearance* da circulação pela fagocitose de macrófagos e consecutiva digestão numa vesícula intracelular lisossomal (Owens & Peppas, 2006).

As propriedades superficiais das nanopartículas são um factor importante que influencia como esses nanomateriais interagem com os sistemas biológicos. As interacções entre as nanopartículas e macrófagos do SRE podem reduzir a eficácia do diagnóstico e da terapêutica. Na tentativa de limitar a depuração pelo SRE, a superfície das nanopartículas pode ser neutralizada com moléculas como o PEG e outros polissacáridos, que são conhecidos por resistir à adsorção de proteínas e à acção do SRE (Rattan et al., 2017). No entanto o PEG pode levar a uma redução da interacção das nanopartículas com as células alvo (A. Kumar et al., 2013).

Pressão do fluido intersticial elevada

À medida que os tecidos tumorais têm alta pressão osmótica, a alta pressão do fluido intersticial pode dificultar o fornecimento adequado de fármacos anticancerígenos. Esta pressão é elevada em tumores sólidos não só devido ao aumento

da permeabilidade dos vasos e à drenagem linfática ineficiente que normalmente mantém o equilíbrio de fluidos, bem como à hiperplasia em torno dos vasos sanguíneos e aumento da produção de componentes da matriz extracelular.

A pressão do fluido intersticial elevada limita a entrada de nanonpartículas, ao mesmo tempo que promove paradoxalmente a difusão passiva para fora do tumor. Além disso, as células do estroma comprimem o sangue no interior do tumor assim como os vasos linfáticos, prejudicando ainda mais o fluxo sanguíneo, levando a estase sanguínea e inibição adicional da penetração de fármaco. Finalmente, devido à queda acentuada da pressão intersticial na periferia dos tumores, o fluido intratumoral pode escapar da periferia do tumor para o tecido circundante, levando com ele os nanofármacos que já se encontravam no seu interior. Assim, a pressão do fluido intersticial elevada representa uma barreira formidável tanto para entrega de nanopartículas, como para a sua eficácia (Nakamura et al., 2016).

Matriz extracelular

Nos tecidos normais, a composição e a estrutura da matriz extracelular (MEC) são únicas e dinâmicas e funcionam para regular o crescimento celular. Os principais componentes são o colagénio, glicoproteínas, proteoglicano, elastina e hialuronano. Os componentes estruturais, enzimas e factores de crescimento associados à MEC são cruciais para a regulação da proliferação e diferenciação celular, prolongando a sobrevivência celular e a homeostase.

Em contraste com essas características estromais normais, o estroma tumoral inclui uma MEC modificada ligada a células estromais multifacetadas, incluindo fibroblastos, pericitos, células endoteliais e células imunes. Além disso, características biofísicas e biológicas alteradas da MEC tumoral num microambiente hipóxico contribuem para progressão tumoral e metástases. A fibrose é uma característica de muitos tipos de tumores, esta desenvolve-se devido à produção excessiva de MEC ou ao turnover limitado da mesma nos tecidos tumorais (Nakamura et al., 2016). Esta matriz composta por proteínas fibrosas juntamente com um fluido viscoso composto de polissacarídeos, mostra-se capaz de reduzir substancialmente a difusão e distribuição espacial das nanopartículas no interstício tumoral (Jang, Wientjes, Lu, & Au, 2003).

Barreira ao sítio de ligação

Para além da barreira da própria MEC, as primeiras nanopartículas a extravasar criam uma nova barreira para as suas seguidoras na MEC. Além disso, se as nanopartículas se ligarem às primeiras células cancerígenas que encontram, isso cria uma segunda barreira. Assim, torna-se bastante difícil que as nanopartículas alcancem o centro do tumor (Nakamura et al., 2016).

Transporte intracelular

Quando o encaixe ocorre entre o ligando da nanopartícula e o receptor na célula cancerígena, as forças de ligação são fracas e consistem em forças secundárias. Para que a interacção ocorra, os dois participantes não devem estar além de poucos nm. Isso é facilmente alcançado *in vitro*. *In vivo*, no entanto, o processo é muito mais complicado. Além disso, se o vector é direccionado com um ligando para um receptor celular, o ligando deve poder manter a sua especificidade após o seu longo percurso até à célula cancerígena.

Uma vez, ou se, as nanopartículas chegarem às células tumorais, vão enfrentar o desafio adicional de transporte e metabolismo dentro das células. Os lisossomas citoplasmáticos são capazes de degradar as nanopartículas e, por vezes, tornam inerte a substância activa (Friberg & Nyström, 2016).

5- Toxicologia e segurança das nanopartículas

Durante a fase de pesquisa básica, cada nanossistema específico deve ser optimizado em relação ao uso clínico proposto, via de administração, dose provável e frequência de dosagem. No entanto, existem vários pontos de verificação empíricos (“checkpoints”), comuns a todos. Embora, um agente de nanomedicina ou nanoimagem nunca seja útil na prática sem a capacidade de exibir actividade funcional (por exemplo, farmacológica), é evidente que a incapacidade de passar os pontos de controlo de farmacocinética, segurança e especificação de produtos desejados irá tornar redundantes quaisquer propriedades farmacológicas ou de imagem interessantes.

A toxicidade ou a imunotoxicidade de um sistema como um todo ou dos seus componentes individuais, em resultado da acção de degradação/metabolismo, deve ser considerada logo no início quando se selecciona a via de administração (Duncan & Gaspar, 2011). Apesar de alguns autores referirem que durante muito tempo, a indústria

farmacêutica utilizava nanopartículas com o objectivo de reduzir a toxicidade e efeitos adversos dos fármacos sem, no entanto, considerar que os sistemas de transporte, acarretavam, eles próprios, riscos para os doentes (Kim et al., 2004). Acontece que os investigadores, desde o início, sempre estudaram a toxicidade geral, hematocompatibilidade, activação do complemento, imunotoxicologia, farmacocinética, toxicocinética e destino metabólico de todos os materiais propostos para a composição dos sistemas de libertação/vectorização de fármacos (Materials, 1990). Deste modo, os materiais/produtos a utilizar em nanomedicina devem ser submetidos a uma rigorosa avaliação pré-clínica, assegurando as boas práticas de fabrico e de laboratório em todo o seu processo de desenvolvimento (Gaspar & Duncan, 2009).

No entanto, todos os fármacos apresentam efeitos adversos, e os nanofármacos não são excepção. A questão consiste em saber estimar a relação risco-benefício. As técnicas utilizadas para avaliar a segurança dos nanossistemas estão em constante evolução. Normalmente, são efectuados testes de citotoxicidade *in vitro*, para se obter uma primeira indicação do risco da utilização de determinado produto para uma determinada aplicação. Para cada nanossistema é essencial assegurar que o portfólio de testes e ensaios a realizar, esteja cuidadosamente optimizado. A duração dos ensaios deve ter em consideração a farmacocinética do material utilizado: uma única leitura de resultados a um dado tempo pode conduzir a falsos positivos/negativos. É, então necessário, recorrer a um intervalo de tempo adequado, para que se consiga, efectivamente, traduzir a realidade. Similarmente, a linhagem de células escolhida deverá ser aquela a que, *in vivo*, a probabilidade de exposição seja a mais elevada (Duncan & Gaspar, 2011).

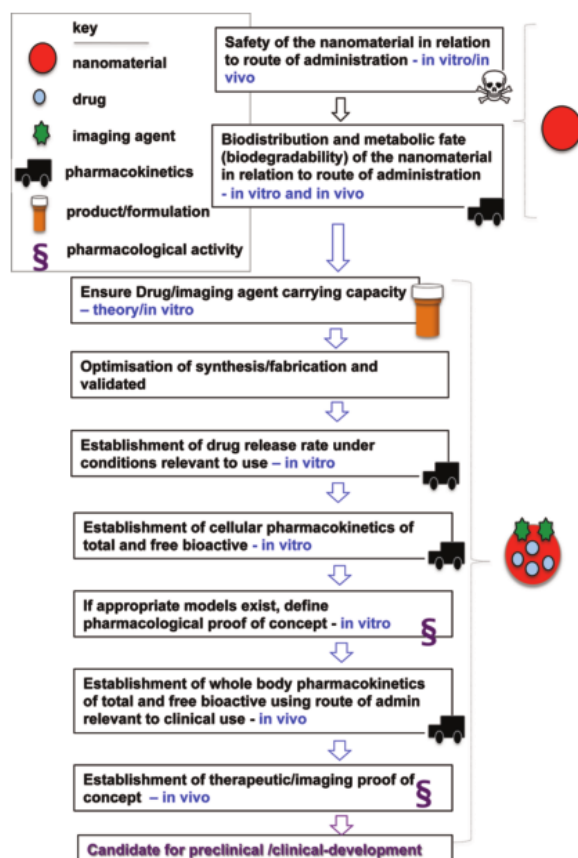


Figura 24- Resumo dos pontos de verificação “stop and go” para a produção de nanossistemas, otimização e selecção de candidatos para o desenvolvimento pré-clínico. A metodologia geralmente utilizada (teórica, in vitro, in vivo) também está representada no esquema. (Adaptado de Duncan & Gaspar, 2011)

6- Discussão e perspectivas futuras

De acordo com o *World Cancer Report 2014* da Organização Mundial de Saúde (OMS), o cancro causou 8,2 milhões de mortes em todo o mundo em 2012, e este número deverá aumentar para 22 milhões até 2035 (Z. Li et al., 2017). O cancro oral é um dos cancros mais comuns em todo o mundo em homens e mulheres. O tratamento convencional pode levantar problemas e complicações que podem ser abordadas por estratégias alternativas de tratamento. Uma dessas estratégias baseia-se no uso de nanossistemas de entrega de medicamentos que poderiam alvejar células malignas com uma eficiência melhorada e menos danos a células saudáveis. Como tal, essa abordagem inovadora foi testada em modelos in vitro e in vivo e mesmo em ensaios clínicos, com perspectivas promissoras para o futuro (Irimie et al., 2017). Outra questão importante que precisa ser resolvida em todos os tipos de cancro, incluindo o cancro oral, está

relacionada com as novas abordagens diagnósticas e com o monitoramento da resposta terapêutica, cuja nanotecnologia tem demonstrado grandes avanços (Irimie et al., 2017).

O campo da nanomedicina está a mover-se a um ritmo muito elevado. Na última década, cerca de 12.000 artigos sobre o tema dos nanomateriais como portadores de fármacos no tratamento do cancro foram publicados. No entanto, permanece uma lacuna entre os avanços tecnológicos e as aplicações clínicas (Z. Li et al., 2017).

Questões relevantes vão bem além das considerações sobre biocompatibilidade dos nanomateriais, da sua farmacocinética ou da fiabilidade dos protocolos adoptados para a sua produção, não deixando de constituir, no entanto, uma das preocupações fulcrais. Dada a sua natureza tripartida, as nanopartículas estão, sem dúvida, sobre a responsabilidade dos três ramos das agências reguladoras, como a FDA ou a *European Medicines Agency* (EMA): medicamentos, dispositivos médicos e agentes biológicos. Consequentemente, qualquer nanoproducto para aplicação clínica deve ser examinado a partir destas três perspectivas (Ferrari, 2005).

A Nanotecnologia oferece grandes perspectivas para a área da medicina, e apesar de já existirem alguns nanoproductos comercializados e a serem efectivamente utilizados na prática clínica, a maior parte ainda se encontra sob investigação e ensaios, pelo que apenas poderemos comprovar a sua efectividade no futuro. Esta orientação futura faz da nanotecnologia vulnerável ao surgimento de questões, por parte da comunidade científica, acerca dos seus benefícios ou danos potenciais. Devido a este facto, é necessário ter algum cuidado ao formular especulações prematuramente sobre esperanças ou preocupações relevantes sobre nanotecnologias em desenvolvimento, antes de qualquer evidência formal científica (Boisseau & Loubaton, 2011).

A nanomedicina tem potencial para melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes. No entanto, as novas possibilidades também envolvem riscos e suscitam questões regulamentares, sociológicas e éticas que devem ser analisadas e debatidas (MG et al., 2015).

Questões de segurança

Embora os benefícios das nanopartículas sejam notáveis, a toxicidade continua a ser uma questão crítica. As questões nano-toxicológicas também precisam ser abordadas

para que se possa melhorar e desenvolver estratégias terapêuticas otimizadas e mais eficazes contra o cancro.

Numerosas questões ainda precisam ser abordadas antes que as nanopartículas possam ser amplamente utilizados no campo da medicina. Por exemplo, qual é a relação entre o tamanho, a forma e a química da superfície das nanopartículas e seu comportamento *in vivo*? Qual é o destino final da nanopartícula portadora de fármaco, depois da liberação do medicamento no local de acção pretendido? Como é que os efeitos nano-específicos podem ser medidos e previstos? (Ross, 2011)

O estudo dos riscos inerentes à nanotecnologia, implica a articulação entre disciplinas como a nanotoxicologia, genotoxicologia e ecotoxicologia. Dentro do contexto da Nanotecnologia, é necessário ter em conta algumas considerações, dado que os nanomateriais apresentam características únicas, dependentes do tamanho e da morfologia, tais como um grande aumento da sua reactividade química em relação ao estado “bulk” (sólido macro) e a sua enorme diversidade estrutural-funcional.

Não é pois de admirar, que exista algum cepticismo por parte dos toxicologistas quando confrontados com esta realidade emergente da Nanotecnologia e Nanomedicina. Não obstante a existência de bases de dados sobre nanopartículas, pouco ainda se sabe sobre a sua toxicidade em humanos até ao momento e, os estudos toxicológicos tradicionais não estão completamente adaptados para nanomateriais, em virtude do rápido avanço que se tem verificado nesta área. Adicionalmente, dados ecotoxicológicos limitados criam, na verdade, grande dificuldade para uma avaliação sistemática do impacto das nanopartículas nos ecossistemas (ABDI -Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial ABDI, 2011).

Estudos adicionais são necessários para avaliar a toxicidade a longo prazo dos nanomateriais em medicina. O comportamento biológico e as propriedades toxicológicas dos novos nanomateriais devem ser cuidadosamente avaliados.

No presente momento, o efeito biológico sobre os seres humanos da exposição intencional (médica) ou não intencional aos nanomateriais de engenharia é desconhecido. A este respeito, é necessário um maior esforço para melhorar a padronização dos ensaios utilizados para testes de nanomateriais *in vitro* e *in vivo* (Ross, 2011).

Questões éticas

À medida que a ciência e a tecnologia da nanomedicina aceleram, a ética, a política e a lei lutam para recuperar o atraso. É importante abordar de forma proactiva os aspectos éticos, sociais e regulamentais da nanomedicina para minimizar os impactos adversos sobre o meio ambiente e a saúde pública e para evitar uma repercussão pública.

Actualmente, as preocupações mais significativas envolvem avaliação de riscos, gerenciamento de riscos de engenharia de nanomateriais (ENM) e comunicação de risco em ensaios clínicos. Embora experiências de animais *in vivo* e análises de laboratório *ex vivo* possam aumentar a nossa compreensão da interação de ENM em sistemas biológicos, estes não podem eliminar toda a incerteza em torno da exposição de um sujeito humano a produtos de nanomedicina em ensaios clínicos. Riscos significativos ainda podem se materializar depois dum produto eliminar o obstáculo da Fase I e está em teste clínico de Fase II ou III (Fakruddin et al., 2012).

Para além disso, a Nanotecnologia acrescenta novas possibilidades na interface entre o bio (humano) e não-bio (máquina), tais como chips ou implantes, que podem, eventualmente, levantar novas questões éticas específicas para a nanomedicina. Assim, é indispensável uma análise cuidadosa dos aspectos éticos, tendo em vista a existência de normas e regulamentos estabelecidos pelo Comité de Ética à escala europeia (Boisseau & Loubaton, 2011).

Embora a maioria dos comentadores concordarem que os avanços na nanotecnologia gerarão muitas questões éticas, sociais e legais diferentes, alguns argumentam que nenhum deles é verdadeiramente novo: a nanotecnologia simplesmente reitera problemas e dilemas já existentes. Mesmo que se concorde que a nanotecnologia não levantou novos problemas éticos, sociais ou legais até o momento, ainda se acredita que é importante examinar cuidadosamente esta área, desenvolver políticas prudentes e tomar decisões sábias (Resnik, JD, & Tinkle, 2009)

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

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

A preocupação com a competitividade económica e de outros valores económicos (crescimento económico) podem entrar em conflito com o respeito pela dignidade humana. A liberdade plena de alguns pode comprometer a saúde e a segurança de outros (Boisseau & Loubaton, 2011).

Questões Regulamentares

Durante mais de meio século, as Agências Reguladoras de Saúde e Medicamentos em todo o mundo desenvolveram procedimentos juridicamente vinculativos para garantir que a sociedade tenha acesso a medicamentos e dispositivos seguros e eficazes. Embora diferentes países e territórios tenham enquadramentos legislativos específicos, tem havido um esforço significativo para desenvolver procedimentos que são comuns a todos através das directrizes da *International Conference on Harmonization (ICH)*. A ICH reúne as entidades reguladoras e indústria inovadora dos Estados Unidos, Europa e Japão (Duncan & Gaspar, 2011) O contexto histórico da regulamentação dos medicamentos e o debate actual sobre a necessidade de regulamentar a nanomedicina foram sujeitos a uma revisão (Gaspar, 2007).

Embora a FDA não tenha identificado preocupações de segurança específicas envolvendo nanotecnologia em produtos regulamentados, a agência possui uma agenda científica e de pesquisa para ajudar a entender como as mudanças nas propriedades físicas, químicas ou biológicas afectam a segurança, eficácia, desempenho ou qualidade de um produto.

A indústria é encorajada a consultar a FDA no início do processo de desenvolvimento de produtos para abordar questões relacionadas ao status regulatório, segurança, eficácia ou impacto na saúde pública de produtos que utilizam a nanotecnologia. As directrizes propostas são o primeiro passo para o desenvolvimento de políticas que guiarão a regulamentação de produtos que utilizem esta tecnologia. A agência pretende desenvolver directrizes adicionais para produtos específicos no futuro.

A FDA continua a trabalhar com a Casa Branca, com a ICH e outras agências do governo dos Estados Unidos e reguladores internacionais para se concentrar na gestão de dados e na coordenação de abordagens políticas para garantir a segurança e eficácia dos produtos que utilizam nanomateriais (Ross, 2011).

Perspectivas futuras

Ao longo dos últimos 20 anos, as nanopartículas passaram a desempenhar um papel significativo no desenvolvimento comercial. Na verdade, podemos esperar muitos avanços e novas perspectivas para a economia mundial, com os avanços na nanotecnologia (Yu Huang et al., 2017).

A Nanomedicina deixou de ser um conceito apenas académico e a sua translação para a prática clínica tem vindo a se tornar uma realidade premente. A nanotecnologia para aplicação clínica não só vem revolucionar todo o conceito de terapia, diagnóstico e prognóstico, como também se apresenta como um elevado foco de investimento.

A nanomedicina representa uma vasta indústria com mais de 200 empresas e 38 produtos em todo o mundo. Um mínimo de US \$ 3,8 bilhões está a ser investido anualmente na pesquisa e no desenvolvimento de nanotecnologia (I&D). Em 2004, as vendas de nanomedicinas chegaram a US \$ 6,8 bilhões e, em abril de 2006, a revista *Nature Materials* anunciou que 130 medicamentos e sistemas de entrega baseados em nanotecnologia estão a ser desenvolvidos universalmente. Esta indústria crescente de nanomateriais deverá ter um impacto significativo na economia e nos cuidados médicos

da sociedade (Agrawal, 2016). Em 2009 os nanoproductos de aplicação em terapia oncológica corresponderam a um dos maiores segmentos do mercado, no valor de quase 20 bilhões de dólares e previu-se o crescimento deste sector a uma taxa anual de 11%, atingindo 33 bilhões de dólares em 2014 (Boisseau & Loubaton, 2011).

Na Europa existem muitas diferenças entre os vários países quanto ao investimento público em nanotecnologia. Entre 2005 e 2010, Portugal encontrava-se em último lugar, sendo o investimento público em 2005 e 2006 de apenas 4 milhões de dólares, em 2007 de 11 milhões de dólares e em 2010 de 31 milhões. O que, ainda assim, nos mostra o contínuo crescimento no investimento desta área em Portugal e no mundo e a sua tendência para continuar a crescer.

Este crescente investimento proporciona assim, uma fonte de esperança no que diz respeito ao combate de doenças oncológicas (Fatal & Eugénio, 2010).

III – CONCLUSÃO

A nanomedicina tem-se revelado uma área em crescente expansão. O rápido avanço na nanotecnologia fornece diferentes ferramentas para desenvolver novas estratégias contra o cancro. O emprego de terapias baseadas em nanotecnologia revela-se promissor no que respeita ao desenvolvimento de alternativas sustentáveis às terapias oncológicas convencionais.

Ao longo deste trabalho foram dados alguns exemplos, que demonstram bem a potencialidade das nanopartículas na medicina, sendo quase impossível a não rendição a esta nova realidade.

No entanto, e para além das nanopartículas se terem revelado extremamente atractivas para a terapia oncológica, ainda existe algum cepticismo. Várias são as questões que se levantam em torno desta matéria: até que ponto é que a avaliação do custo-benefício se torna favorável em relação às terapias convencionais já existentes, isto é, até que ponto é que, a longo prazo, a sua utilização, na prática clínica de rotina, se pode revelar contraproducente? São questões válidas e pertinentes, no entanto, estas também são dúvidas que surgem no desenvolvimento de qualquer tecnologia médica. Como tal, uma correcta avaliação de risco-benefício, biotoxicidade, assim como o respeito pelos critérios rigorosos da produção e desenvolvimento de qualquer nanotecnologia torna-se imperativa.

Apesar destas questões, espera-se que o interesse crescente nas abordagens anticancerígenas baseadas em nanotecnologia resulte em soluções que em breve serão usadas como parte de uma terapia antineoplásica moderna, eficiente e individualizada. As expectativas são elevadas e os investimentos nesta área demonstram a confiança e a esperança que a sociedade coloca na nanotecnologia, abrindo portas para o avanço na investigação e desenvolvimento de produtos para aplicação em oncologia, onde a palavra “nano” nunca foi tão grande.

IV- BIBLIOGRAFIA

- (Brasil), I. N. D. C. (2008). Fisiopatologia do câncer. *Ações de Enfermagem Para O Controle Do Câncer: Uma Proposta de Integração Ensino-Serviço*, 628.
- ABDI -Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial ABDI. (2011).
Nanotecnologias: subsídios para a problemática dos riscos e regulação.
Unicamp/Funcamp, 52.
- Agrawal, P. (2016). Potential Prospects of Future Medicine: Nano Medicine. *Journal of Pharmacovigilance*, 4(1), 1–2. <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000e149>
- Ahmad, J., Akhter, S., Rizwanullah, M., Amin, S., Rahman, M., Ahmad, M. Z., ...
Ahmad, F. J. (2015). Nanotechnology-based inhalation treatments for lung cancer: State of the art. *Nanotechnology, Science and Applications*, 8, 55–66.
<https://doi.org/10.2147/NSA.S49052>
- Allen, T. M. (2002). Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 2(10), 750–763. <https://doi.org/10.1038/nrc903>
- Almeida, J. P. M., Figueroa, E. R., & Drezek, R. A. (2014). Gold nanoparticle mediated cancer immunotherapy. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 10(3), 503–514. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.09.011>
- Alok, A., Panat, S., Aggarwal, A., Upadhyay, N., Agarwal, N., & Kishore, M. (2013). Nanotechnology : A boon in oral cancer diagnosis and therapeutics. *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, 4(4), 154–160. <https://doi.org/10.4103/0976-433X.125591>

- Blanco, E., Hsiao, A., Ruiz-Esparza, G. U., Landry, M. G., Meric-Bernstam, F., & Ferrari, M. (2011). Molecular-targeted nanotherapies in cancer: Enabling treatment specificity. *Molecular Oncology*. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.10.005>
- Blasiak, B., Van Veggel, F. C. J. M., & Tomanek, B. (2013). Applications of nanoparticles for MRI cancer diagnosis and therapy. *Journal of Nanomaterials*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/148578>
- Boisseau, P., & Loubaton, B. (2011). Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Physique*. <https://doi.org/10.1016/j.crhy.2011.06.001>
- Brown, R., & Links, M. (2004). Clinical relevance of the molecular mechanisms of resistance to anti-cancer drugs. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 1(15), 1–21. <https://doi.org/10.1017/S1462399499001099X>
- Calixto, G., Fonseca-Santos, B., Chorilli, M., & Bernegossi, J. (2014). Nanotechnology-based drug delivery systems for treatment of oral cancer: a review. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 3719. <https://doi.org/10.2147/IJN.S61670>
- Candido, N. M. [UNESP]. (2013). Estudo da ação de nanopartículas magnéticas de ferro no câncer oral, 112 f. : il. color., il. gráfs., . Retrieved from <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/92528>
- Chakravarty, R., Goel, S., Dash, A., & Cai, W. (2017). Radiolabeled inorganic nanoparticles for positron emission tomography imaging of cancer: an overview. *J Nucl Med Mol Imaging*, 67(2), 181–204. <https://doi.org/10.23736/S1824-4785.17.02969-7>

Charles, B. F., Dana, K. A., Timothy, R. B., David, L. D., John, G. H., & Raphael, E. P. (2015). *Schwartz's Principles of Surgery* (10^a).

Cooper, C. L., & Robertson, I. T. (2005). Editorial Foreword. *International Review of Industrial and Organizational Psychology*, 2004, 19(2), xi.
<https://doi.org/10.1002/0470013311>

Daniell, H. (2012). NIH Public Access, 76(October 2009), 211–220.
<https://doi.org/10.1007/s11103-011-9767-z>.Plastid

Davis, M. A., Bynum, J. P. W., Sirovich, B. E., Practice, C., Science, E., Medical, A., & Junction, W. R. (2015). HHS Public Access, 175(5), 777–783.
<https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2014.5466>.Association

Deda, D. K., & Araki, K. (2015). Nanotechnology, light and chemical action: An effective combination to kill cancer cells. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(12), 2448–2470. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150316>

del Pozo-Rodríguez, A., Solinís, M. Á., & Rodríguez-Gascón, A. (2016). Applications of lipid nanoparticles in gene therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 109, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.10.016>

Duncan, R., & Gaspar, R. (2011). Nanomedicine (s) under the Microscope, 2101–2141.

Estelrich, J., Sánchez-Martín, M. J., & Busquets, M. A. (2015). Nanoparticles in magnetic resonance imaging: From simple to dual contrast agents. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 1727–1741. <https://doi.org/10.2147/IJN.S76501>

- Fakruddin, M., Hossain, Z., & Afroz, H. (2012). Prospects and applications of nanobiotechnology: a medical perspective. *Journal of Nanobiotechnology*, *10*(1), 31. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-10-31>
- Fatal, V., & Eugénio, J. (2010). Evolução da Nanotecnologia: abordagem nacional e internacional. *Inpi*, 1–22.
- Feng, S.-S., & Chien, S. (2003). Chemotherapeutic engineering: Application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases. *Chemical Engineering Science*, *58*, 4087–4114. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(03\)00234-3](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(03)00234-3)
- Ferrari, M. (2005). Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nature Reviews Cancer*, *5*(3), 161–171. <https://doi.org/10.1038/nrc1566>
- Fontana, F., Liu, D., Hirvonen, J., & Santos, H. A. (2017). Delivery of therapeutics with nanoparticles: what's new in cancer immunotherapy? *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, *9*(1), 1–26. <https://doi.org/10.1002/wnan.1421>
- Friberg, S., & Nyström, A. M. (2015). Nanotechnology in the war against cancer: new arms against an old enemy - a clinical view. *Future Oncology (London, England)*, *11*(13), 1961–75. <https://doi.org/10.2217/fon.15.91>
- Friberg, S., & Nyström, A. M. (2016). NANOMEDICINE: will it offer possibilities to overcome multiple drug resistance in cancer? *Journal of Nanobiotechnology*, *14*(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0172-2>

- Fribley, A. M. (2016). *Targeting oral cancer. Targeting Oral Cancer*.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-27647-2>
- Gaspar, R. (2007). Regulatory issues surrounding nanomedicines: setting the scene for the next generation of nanopharmaceuticals. *Nanomedicine (London, England)*, 2(2), 143–7. <https://doi.org/10.2217/17435889.2.2.143>
- Gaspar, R., & Duncan, R. (2009). Polymeric carriers: Preclinical safety and the regulatory implications for design and development of polymer therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.06.003>
- Goel, S., England, C. G., Chen, F., & Cai, W. (2016). Positron emission tomography and nanotechnology: A dynamic duo for cancer theranostics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.08.001>
- Hashizume, H., Baluk, P., Morikawa, S., McLean, J. W., Thurston, G., Roberge, S., ... McDonald, D. M. (2000). Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness. *American Journal of Pathology*, 156(4), 1363–1380.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65006-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65006-7)
- Huang, Y., Cole, S. P. C., Cai, T., & Cai, Y. U. (2016). Applications of nanoparticle drug delivery systems for the reversal of multidrug resistance in cancer. *Oncoogy Letters*, 11–15. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4596>
- Huang, Y., Fan, C.-Q., Dong, H., Wang, S.-M., Yang, X.-C., & Yang, S.-M. (2017). Current applications and future prospects of nanomaterials in tumor therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1815–1825.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S127349>

- Hume, D. A. (2006). The mononuclear phagocyte system. *Current Opinion in Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2005.11.008>
- Iniciativve, N. N. (2014). Nanotechnology timeline. Retrieved July 12, 2017, from <https://www.nano.gov/timeline>
- Irimie, A. I., Sonea, L., Jurj, A., & Mehterov, N. (2017). Future trends and emerging issues for nanodelivery systems in oral and oropharyngeal cancer, 4593–4606.
- Jain, R. K. (2005). Normalization of Tumor Vasculature: An Emerging Concept in Antiangiogenic Therapy. *Science*, 307(5706), 58–62.
<https://doi.org/10.1126/science.1104819>
- Jain, R. K., & Stylianopoulos, T. (2010). Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 7(11), 653–664.
<https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.139>
- Jang, S. H., Wientjes, M. G., Lu, D., & Au, J. L. S. (2003). Drug delivery and transport to solid tumors. *Pharmaceutical Research*.
<https://doi.org/10.1023/A:1025785505977>
- Johannsen, M., Gneveckow, U., Taymoorian, K., Thiesen, B., Waldöfner, N., Scholz, R., ... Loening, S. A. (2007). Morbidity and quality of life during thermotherapy using magnetic nanoparticles in locally recurrent prostate cancer: Results of a prospective phase I trial. *International Journal of Hyperthermia*, 23(3), 315–323.
<https://doi.org/10.1080/02656730601175479>

- Jukapli, N. M., & Bagheri, S. (2016). Recent developments on titania nanoparticle as photocatalytic cancer cells treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *163*, 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.08.046>
- Kaur, S., Singh, G., & Kaur, K. (2014). Cancer stem cells: An insight and future perspective. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, *10*(4), 846–852. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.139264>
- Kerr, A. R. (2013). Nanotechnology meets oral cancer: How, why, and when? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, *115*(6), 703–704. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2013.03.010>
- Kim, T. Y., Kim, D. W., Chung, J. Y., Shin, S. G., Kim, S. C., Heo, D. S., ... Bang, Y. J. (2004). Phase I and pharmacokinetic study of Genexol-PM, a Cremophor-free, polymeric micelle-formulated paclitaxel, in patients with advanced malignancies. *Clinical Cancer Research*, *10*(11), 3708–3716. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-03-0655>
- Kumar, A., Mansour, H. M., Friedman, A., & Blough, E. R. (2013). *Nanomedicine in Drug Delivery*. (A. Kumar, H. M. Mansour, A. Friedman, & E. R. Blough, Eds.). New York.
- Kumar, M., Yigit, M., Dai, G., Moore, A., & Medarova, Z. (2010). Image-guided breast tumor therapy using a small interfering RNA nanodrug. *Cancer Research*, *70*(19), 7553–7561. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2070>
- Li, W., Wei, H., Li, H., Gao, J., Feng, S. S., & Guo, Y. (2014). Cancer nanoimmunotherapy using advanced pharmaceutical nanotechnology. *Nanomedicine (Lond)*, *9*(16), 2587–2605. <https://doi.org/10.2217/nmm.14.127>

- Li, X., Chen, C., & Chen, J. (2016). Quantum dot-based immunofluorescent imaging and quantitative detection of TOP2A and prognostic value in triple-negative breast cancer, 5519–5529.
- Li, Z., Tan, S., Li, S., Shen, Q., & Wang, K. (2017). Cancer drug delivery in the nano era: An overview and perspectives (Review). *Oncology Reports*, 611–624. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5718>
- Maeda, H. (2001). The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: The key role of tumor-selective macromolecular drug targeting. *Advances in Enzyme Regulation*, 41, 189–207. [https://doi.org/10.1016/S0065-2571\(00\)00013-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2571(00)00013-3)
- Mashinchian, O., Johari-Ahar, M., Ghaemi, B., Rashidi, M., Barar, J., & Omid, Y. (2014). Impacts of quantum dots in molecular detection and bioimaging of cancer. *BioImpacts*, 4(3), 149–166. <https://doi.org/10.15171/bi.2014.008>
- Masthan, K. M. K., Aravindha Babu, N., Shanmugam, K. T., & Jha, A. (2012). Nanotechnology - Its application in oral cancer. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 6(7 SUPPL.), 1328–1330.
- Materials, O. F. (1990). Methods for the evaluation of biocompatibility of soluble synthetic polymers which have potential for biomedical use : 1 - Use of the tetrazolium-based colorimetric assay (M T T) as a preliminary screen for evaluation of in vitro cytotoxicity, 61–68.
- Mendez Lopez, B. A. (2012). Nanochips y nanosensores para el diagnóstico temprano de cáncer oral : una revisión, 31(67), 131–147.

- Messenger, L., Gaitzsch, J., Chierico, L., & Battaglia, G. (2014). Novel aspects of encapsulation and delivery using polymersomes. *Current Opinion in Pharmacology*, 18, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.09.017>
- MG, K., V, K., & F, H. (2015). History and Possible Uses of Nanomedicine Based on Nanoparticles and Nanotechnological Progress. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 6(6). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000336>
- Mi, Y., Shao, Z., Vang, J., Kaidar-Person, O., & Wang, A. Z. (2016). Application of nanotechnology to cancer radiotherapy. *Cancer Nanotechnology*, 7(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s12645-016-0024-7>
- Mirza, A. Z., & Siddiqui, F. A. (2014). Nanomedicine and drug delivery: a mini review. *International Nano Letters*, 4(1), 94. <https://doi.org/10.1007/s40089-014-0094-7>
- Moreno-Vega, A. I., Gómez-Quintero, T., Nuñez-Anita, R. E., Acosta-Torres, L. S., & Castaño, V. (2012). Polymeric and ceramic nanoparticles in biomedical applications. *Journal of Nanotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/936041>
- Muthu, M. S., Leong, D. T., Mei, L., & Feng, S. S. (2014). Nanotheranostics - application and further development of nanomedicine strategies for advanced theranostics. *Theranostics*, 4(6), 660–677. <https://doi.org/10.7150/thno.8698>
- Nakamura, Y., Mochida, A., Choyke, P. L., & Kobayashi, H. (2016). Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? *Bioconjugate Chemistry*, 27(10), 2225–2238. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00437>

- Owens, D. E., & Peppas, N. A. (2006). Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.010>
- Padera, T. P., Stoll, B. R., Tooredman, J. B., Capen, D., Tomaso, E. di, & Jain, R. K. (2004). Pathology: Cancer cells compress intratumour vessels. *Nature*, *427*(6976), 695–695. <https://doi.org/10.1038/427695a>
- Park, K. (2012). Polysaccharide-based near-infrared fluorescence nanoprobe for cancer diagnosis. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, *2*(2), 106–113. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4292.2012.05.01>
- Partha, R., & Conyers, J. L. (2009). Biomedical applications of functionalized fullerene-based nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*, *4*, 261–275. <https://doi.org/10.2147/IJN.S5964>
- Pentenero, M. (2017). Nanotechnology: a novel adjunctive aid to fight cancer. *Oral Diseases*, *23*(3), 273–275. <https://doi.org/10.1111/odi.12524>
- Piktel, E., Niemirowicz, K., Wątek, M., Wollny, T., Deptuła, P., & Bucki, R. (2016). Recent insights in nanotechnology-based drugs and formulations designed for effective anti-cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, *14*(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0193-x>
- Portney, N. G., & Ozkan, M. (2006). Nano-oncology: Drug delivery, imaging, and sensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *384*(3), 620–630. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0247-7>

- Rattan, R., Bhattacharjee, S., Zong, H., Swain, C., Siddiqui, M. A., Visovatti, S. H., ... Goonewardena, S. N. (2017). Nanoparticle-macrophage interactions: A balance between clearance and cell-specific targeting. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25(16), 4487–4496. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.040>
- Resnik, D. B., JD, & Tinkle, S. S. (2009). NIH Public Access, 2(3), 345–350. <https://doi.org/10.2217/17435889.2.3.345.Ethics>
- Revia, R. A., & Zhang, M. (2016). Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: Recent advances. *Materials Today*, 19(3), 157–168. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2015.08.022>
- Riehemann, K., Schneider, S. W., Luger, T. A., Godin, B., Ferrari, M., & Fuchs, H. (2009). Nanomedicine - Challenge and perspectives. *Angewandte Chemie - International Edition*. <https://doi.org/10.1002/anie.200802585>
- Rivas, J., & Sorg, C. (2015). ESF Scientific Forward Look on Nanomedicine. *European Science Foundation Policy Briefing* 23, 23(February), 1–6. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Rocha, A. (2015). *Q uímica*, 26, 117–126.
- Ross, B. N. (2011). Nanomedicine : Prospects , Risks and Regulatory Issues, (December).
- Roy Chowdhury, M., Schumann, C., Bhakta-Guha, D., & Guha, G. (2016). Cancer nanotheranostics: Strategies, promises and impediments. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 84, 291–304. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.035>

- Semkina, A. S., Abakumov, M. A., Grinenko, N. F., Lipengolts, A. A., Nukolova, N. V., & Chekhonin, V. P. (2017). Magnetic Resonance Imaging of Tumors with the Use of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles as a Contrast Agent. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 162(6), 1–4. <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3718-x>
- Son, S., Min, H. S., You, D. G., Kim, B. S., & Kwon, I. C. (2014). Echogenic nanoparticles for ultrasound technologies: Evolution from diagnostic imaging modality to multimodal theranostic agent. *Nano Today*. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2014.06.002>
- Summary, W. (2011). *Nanotechnology and Oncology*. (M. Patlak & C. Micheel, Eds.). Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/13037>
- Tang, F., Li, L., Chen, D., Products, N., For, A., Or, U. S. E., ... Brinker, C. J. (2013). The Practicality of Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Devices and Progress Toward This Goal. *Nano Today*, 46(3), 1278–1288. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.05.013>.THE
- Terranova, M. L., Sessa, V., & Rossi, M. (2006). The world of carbon nanotubes: An overview of CVD growth methodologies. *Chemical Vapor Deposition*. <https://doi.org/10.1002/cvde.200600030>
- Wadsworth, J. T., Somers, K. D., Stack, B. C., Cazares, L., Malik, G., Adam, B.-L., ... Semmes, O. J. (2004). Identification of patients with head and neck cancer using serum protein profiles. *Archives of Otolaryngology--Head & Neck Surgery*, 130, 98–104. <https://doi.org/10.1001/archotol.130.1.98>

- Wang, Z., Liu, K., Huo, Z., Li, X.-C., Wang, M., Liu, P., ... Pang, B. (2015). A cell-targeted chemotherapeutic nanomedicine strategy for oral squamous cell carcinoma therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 13(63), 10.
<https://doi.org/10.1186/s12951-015-0116-2>
- Weiss, J., Decker, E. A., McClements, D. J., Kristbergsson, K., Helgason, T., & Awad, T. (2008). Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3(2), 146–154. <https://doi.org/10.1007/s11483-008-9065-8>
- Yakob, M., Fuentes, L., Wang, M. B., Abemayor, E., & Wong, D. T. W. (2014). Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma - current state and recent advances. *Current Oral Health Reports*, 1(2), 133–141.
<https://doi.org/10.1007/s40496-014-0014-y>
- Zeineldin, R. (2017). *Cancer Nano- technology Methods and Protocols Methods in Molecular Biology 1530*. (R. Zeineldin, Ed.). New York.
- Zhang, X.-Y., & Zhang, P. (2016). Nanotechnology for multimodality treatment of cancer (Review). *Oncology Letters*, 4883–4886.
<https://doi.org/10.3892/ol.2016.5322>
- Zhang, X., & Zhang, P. (2017). Polymersomes in Nanomedicine - A Review. *Current Nanoscience*, 13(2), 124–129.
<https://doi.org/10.2174/1573413712666161018144519>