



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde
Curso de Farmácia

BÁRBARA LOPES JOVITO

NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS E SEU USO NO TRATAMENTO DE
GLIOBLASTOMAS: REVISÃO

Brasília

2017



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde
Curso de Farmácia

BÁRBARA LOPES JOVITO

**NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS E SEU USO NO TRATAMENTO DE
GLIOBLASTOMAS: REVISÃO**

“Projeto apresentado ao curso de graduação em Farmácia da Universidade de Brasília, como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso”.

Orientador (a): Prof. Dra. Sônia Nair Bão

Brasília

2017



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde
Curso de Farmácia

BÁRBARA LOPES JOVITO

**NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS E SEU USO NO TRATAMENTO DE
GLIOBLASTOMAS: REVISÃO**

Orientador (a): Prof. Dra. Sônia Nair Bão

Assinatura do orientador (a)

Brasília
2017

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Dra. Sônia Nair Bão, pelo apoio e disponibilidade mediante minhas necessidades e resolução dos problemas surgidos.

Aos meus familiares e amigos pelo carinho, paciência e incentivo constantes durante a realização de todo o projeto.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e todas as pessoas que fizeram parte desta etapa decisiva da minha vida.

RESUMO

Glioblastoma ou glioblastoma multiforme (GBM) é considerado um astrocitoma de grau IV, sendo o tipo mais comum e agressivo dentre os tumores cerebrais primários. O tratamento inclui cirurgia, radioterapia e quimioterapia, porém, apesar de avanços destas técnicas, ainda confere um prognóstico ruim da doença. A presença da barreira hematoencefálica (BHE) dificulta a passagem dos agentes terapêuticos tanto por sua estrutura física quanto por mecanismos de efluxo e é o principal fator limitante para o sucesso terapêutico da quimioterapia em GBM. Um dos modos de contornar essa situação é a incorporação dos agentes quimioterápicos em nanocarreadores, que constituem um tipo de veículo em escala nanométrica e permitem adição de ligantes em sua superfície, permitindo que ocorra uma interação a nível molecular e passagem pela BHE sem interferir em sua integridade. O presente trabalho teve como objetivo fazer uma busca na literatura sobre estudos com uso de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) como carreadores para tratamento do GBM e sobre sua capacidade de atravessar a BHE. As buscas foram realizadas nas bases de dados Pubmed e Science Direct. Um total de 15 trabalhos foram selecionados para análise dos resultados, os quais incluem 13 estudos *in vitro* e 2 estudos *in vivo*. Nenhum estudo clínico foi encontrado.

Palavras chave: Glioblastoma, Gliomas, Nanocarreadores, Nanopartículas Lipídicas Sólidas, Barreira Hematoencefálica.

ABSTRACT

Glioblastoma or glioblastoma multiforme (GBM) is considered a grade IV astrocytoma, being the most common and aggressive type among primary brain tumors. Treatment includes surgery, radiotherapy and chemotherapy, but despite technical advances, they still give a poor prognosis of the disease. The presence of blood brain barrier (BBB) complicates the transfer of therapeutic agents both by their physical structure and by efflux mechanisms and consists the main limiting factor for the therapeutic success of chemotherapy in GBM. One of the ways to overcome this situation is incorporation of chemotherapeutic agents into nanocarriers, a type of vehicle on a nanoscale which permit addition of ligands on its surface, making possible interactions in a molecular level and passage through the BBB without interfering in its integrity. The present work had as objective to do a research in the literature about studies using solid lipid nanoparticles (SLN) as carriers for GBM treatment and its capacity to cross the BBB. The researches were performed using databases Pubmed and Science Direct. 15 works were selected to result's analyze which includes 13 *in vitro* studies and 2 *in vivo* studies. No clinical trials were founded.

Keywords: Glioblastoma, Gliomas, Nanocarriers, Solid Lipid Nanoparticles, Blood Brain Barrier.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – ácido asiático.

BCNU – carmustina.

BHE – barreira hematoencefálica.

BVZ – bevacizumabe.

CCNU – lomustina.

Dox – doxorubicina.

GBM – glioblastoma.

gp-P - glicoproteína P.

HA - astrócitos humanos.

HBMEC - células endoteliais de microvasculatura cerebral humana.

HBMEC/HA - células endoteliais de microvasculatura cerebral humana reguladas por astrócitos humanos.

hCMEC/D3 – linhagem celular primária da microvasculatura cerebral humana.

ETP – etoposídeo.

MRP - proteínas de resistência múltipla a drogas.

MTX – metotrexato.

NLS – nanopartículas lipídicas sólidas.

PTX – paclitaxel.

SNC – sistema nervoso central.

TMR – transcitose mediada por receptor.

TMA – transcitose mediada por adsorção.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação histológica dos gliomas	3
Figura 2 – Esquema representativo da barreira hematoencefálica	7
Figura 3 – Rotas de transporte através da BHE	9
Figura 4 – Principais tipos de nanocarreadores disponíveis	10
Figura 5 – Esquema de uma nanopartícula lipídica sólida	11
Figura 6 – Representação de ensaio <i>in vitro</i> com método de co-cultura celular e paralelismo com a BHE	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos encontrados e descrição dos resultados	23
--	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
Glioblastoma Multiforme	3
Barreira Hematoencefálica	6
Nanopartículas Lipídicas Sólidas	9
OBJETIVOS	13
Objetivo Geral	13
Objetivos específicos	13
METODOLOGIA	14
RESULTADOS	15
DICUSSÃO	24
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

INTRODUÇÃO

Os termos nanociência e nanotecnologia se referem respectivamente ao estudo e manipulação de materiais e ao design, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas na escala nanométrica, definida entre aproximadamente 0,2 nm - 100 nm (THE ROYAL SOCIETY & THE ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING, 2004). Seus investimentos vêm crescendo significativamente nos últimos anos, principalmente na área de ciência de materiais, estruturas supramoleculares, entrega de fármacos e terapia fotodinâmica. Na aplicação terapêutica destaca-se no desenvolvimento de nanopartículas, que podem ser utilizadas para incorporar agentes de contraste para diagnóstico por imagem, bem como carregar fármacos ou genes terapêuticos, sendo estas últimas denominadas nanocarreadores (TEDESCO *et al.*, 2013).

Os nanocarreadores apresentam diversas vantagens em relação a terapia convencional como: elevada estabilidade química e biológica, aumento da solubilidade dos fármacos e proteção dos mesmos à degradação enzimática, liberação constante e controlada reduzindo a dose administrada, redução dos efeitos tóxicos, facilidade de manipulação, permite modificações em sua estrutura que aumentam sua especificidade e possui tamanho reduzido, o que lhes permite atingir áreas profundas e ultrapassar estruturas anatômicas como a barreira hematoencefálica (BHE) (RAWAT *et al.*, 2006; OCHEKPE *et al.*, 2009; MASSERINI, 2013).

Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) constituem um tipo de nanocarreador lipídico, composta por uma matriz lipídica sólida quando em temperatura ambiente ou corporal. O uso desse nanocarreador apresenta diversas vantagens em relação a outros sistemas nanoestruturados, como: biocompatibilidade, tolerabilidade, estabilidade e controle na liberação de substâncias incorporadas em seu interior, bem como permitir sua

produção em larga escala e processos de esterilização (WANG *et al.*, 2002; WISSING *et al.*, 2004; MANJUNATH *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Um dos maiores desafios para o tratamento de doenças do sistema nervoso central se dá pela presença da BHE, a qual dificulta a passagem dos agentes terapêuticos por diversos mecanismos, dentre os quais células endoteliais desprovidas de fenestrações com junções intercelulares extremamente apertadas, o que lhe confere uma alta resistência elétrica transendotelial de até 1500-2000 Ωcm^2 (CRONE e OLESEN, 1982), presença de astrócitos, pericitos e transportadores de efluxo de drogas (PATEL *et al.*, 2013). O tamanho reduzido dos nanocarreadores, a utilização de materiais e adição de ligantes em sua superfície, permitem que ocorra uma interação a nível molecular e passagem pela BHE sem interferir em sua integridade (MIRANDA e FIGUEIRAS, 2014).

Glioma é um termo genérico utilizado para referir-se a tumores que tem origem em células da glia e correspondem a aproximadamente 30% de todos os tumores cerebrais (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016). Glioblastoma ou glioblastoma multiforme é considerado um astrocitoma de grau IV e o tipo mais agressivo dentre os gliomas (PERRY e WESSELING, 2016). Seu tratamento inclui cirurgia, radioterapia e quimioterapia.

A capacidade infiltrativa do tumor, presença da BHE e mecanismos de resistência à drogas e seus efeitos adversos são fatores limitantes que conferem um prognóstico ruim da doença, entretanto o uso de nanocarreadores pode minimizar esses problemas (KLEIHUES *et al.*, 2002; OHGAKI e KLEIHUES, 2005; GHOBRIAL *et al.*, 2005; OMURO *et al.*, 2007).

O presente estudo tem por objetivo reunir dados disponíveis na literatura sobre estudos realizados com nanopartículas lipídicas sólidas como carreadores de fármacos citotóxicos e de outros agentes para o tratamento de glioblastomas, bem como avaliar sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica.

Glioblastoma Multiforme

De todos os tumores malignos no mundo, cerca de 2% correspondem ao câncer do Sistema Nervoso Central (SNC), que apesar de ser um tipo de tumor relativamente raro, contribui significativamente para a mortalidade no mundo inteiro (INCA, 2016). Glioma é um termo genérico para referir-se a tumores originários de células da glia ou células-tronco que desenvolvem características gliais por transformação neoplásica (OSTROM et al., 2014). São classificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) de acordo com o tipo celular envolvido, características histopatológicas e grau de agressividade de I a IV (Figura 1) (PERRY e WESSELING, 2016).

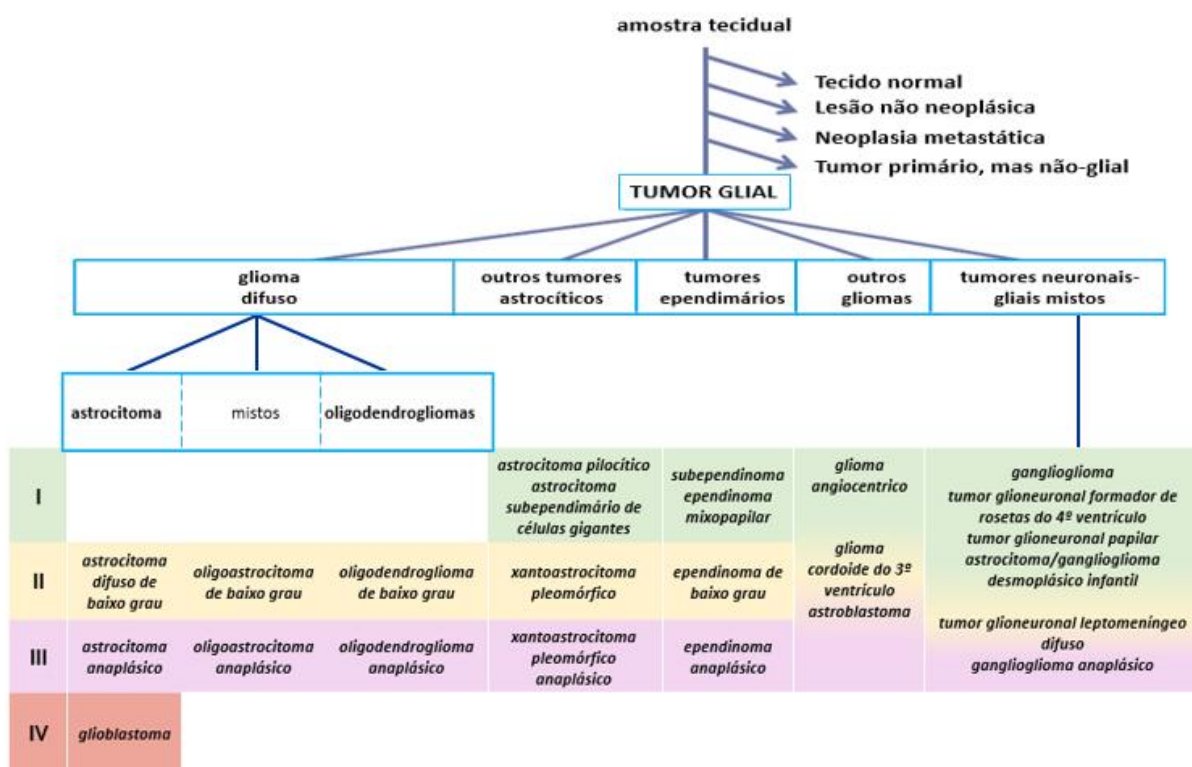


Figura 1: Classificação histológica dos gliomas de acordo com o tipo celular envolvido e o grau de agressividade de I a IV. Adaptado de PERRY e WESSELING, 2016.

Devido ao fato de que estes tumores surgem no SNC e afetam estruturas cerebrais, pacientes acometidos pelos gliomas, comumente desenvolvem sintomas que incluem cefaleia, convulsões, papiledema e vômitos, resultante de um aumento da pressão

intracraniana exercida pelo tumor e edema. Ataques epiléticos, alterações neurológicas com perda sensorial e/ou motora, problemas de memória e de atividades mentais também são comuns nesses pacientes (BEHIN et al., 2003).

Glioblastoma ou glioblastoma multiforme é considerado um astrocitoma de grau IV, sendo o tipo mais comum e agressivo dentre os tumores cerebrais primários. O tratamento da doença inclui cirurgia, radioterapia e quimioterapia. Porém a duração de sobrevivência do paciente é de apenas 12-15 meses e somente 3-5% dos pacientes sobrevivem por mais de 3 anos. (KLEIHUES *et al.*, 2002; PERRY e WESSELING, 2016).

Cirurgia

A ressecção cirúrgica completa ou quase completa é realizada na maioria dos casos e tem como objetivo estabelecer um diagnóstico histológico e reduzir a pressão intracraniana através da remoção do tumor de forma que a função neurológica se mantenha preservada (CLOUGHESY *et al.*, 2001; LAWS *et al.*, 2003). A localização do tumor em áreas muito profundas, sua extensiva proliferação e a infiltração das células cancerígenas entre as células cerebrais normais, os torna alvos complexos e são características que dificultam um manejo cirúrgico eficaz (KLEIHUES *et al.*, 2002).

Radioterapia

A radioterapia geralmente é aplicada após biópsia ou cirurgia ou em casos em que o tumor é inacessível ou se encontra em local onde é contraindicada a ressecção cirúrgica. Este método se baseia no uso de radiação, a qual pode ser particulada com uso de prótons e nêutrons ou eletromagnética, como raio gama ou raio x, para impedir a proliferação celular (MENEZES, 2012). Técnicas que diferem na quantidade e frequência na aplicação de radiação são utilizadas de acordo com o quadro clínico de cada paciente. (NORIYUKI *et al.*, 2014).

Avanços na área inclui técnicas de radioterapia guiada por imagem (IGRT), permitindo o conhecimento da localização do tumor e um preciso direcionamento da radiação ao alvo, o que resulta em uma redução da irradiação sobre células normais presentes na margem do tumor. Este avanço também contribuiu para tentativas de diversos investigadores em intensificar a dose no tecido alvo (NORIYUKI *et al.*, 2014), a fim de aumentar eficácia na redução do volume tumoral.

Apesar desses avanços, a radioterapia possui alguns efeitos indesejáveis, que englobam danos a superfícies endoteliais, boca, garganta, úlceras gastrointestinais, inchaço e infertilidade, fibrose, perda de cabelo, linfedema e doença cardíaca (PIROTH *et al.*, 2007).

Quimioterapia

A quimioterapia é um método adjuvante e raramente é utilizada em primeira instância (OMURO e DE ANGELIS, 2013), sendo geralmente empregada após cirurgia e após ou juntamente com a radioterapia. É dirigida principalmente para células tumorais residuais (SCHIFFER *et al.*, 2010).

A maioria dos quimioterápicos são fármacos citotóxicos. Apenas carmustina (BCNU), *gliadel wafer* (discos biodegradáveis infundidos com BCNU) e temozolomida estão aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) no tratamento de tumores cerebrais de alto grau, porém outros fármacos como cisplatina, carboplatina, etoposídeo, irinotecano que estão aprovados para uso em outros tipos de câncer podem ser prescritos para uso *off label*. Combinações de drogas como o regime PCV (procarbazona, lomustina CCNU e vincristina) também são utilizadas (ABTA, 2017).

A temozolomida é o agente alquilante de escolha em combinação com a radioterapia para o tratamento de gliomas devido a sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Atualmente a quimioterapia padrão baseia-se no protocolo desenvolvido

por Stupp *et al.*, (2005) que consiste na administração diária de temozolomida por seis semanas em combinação com radiação (fase concomitante), seguido de mais seis ciclos com duração de 28 dias cada - primeiros 5 dias com administração diária da medicação seguidos de 23 dias sem medicação - de terapia adjuvante com uso de temozolomida isolado (fase de monoterapia) (PATEL *et al.*, 2012).

A quimioterapia também possui diversos efeitos adversos incluindo danos nos nervos, perda de cabelo, vômitos, diarreia, infertilidade, insônia e rash cutâneo (CHARNLEY *et al.*, 2009). Além disso, a resistência ao tratamento inclui diversos mecanismos comuns em diversos tipos de câncer, como o bloqueio de rotas responsáveis pela indução de morte celular programada (apoptose e autofagia) e a superexpressão de chaperonas moleculares que promovem a sobrevivência celular, bem como a dificuldade dos agentes terapêuticos em atravessar BHE (OHGAKI e KLEIHUES, 2005; GHOBRIAL *et al.*, 2005; OMURO *et al.*, 2007).

Outras estratégias como a imunoterapia, que consiste em usar substâncias capazes de desencadear uma resposta imune do próprio indivíduo contra células tumorais, e o uso de nanocarreadores para incorporar diversos agentes capazes de inibir o crescimento tumoral, têm se mostrado promissoras para superar esses desafios, conferindo maior especificidade, capacidade de atravessar a BHE e oposição aos mecanismos de resistência do tumor (POURGHOLI *et al.*, 2016).

Barreira Hematoencefálica

A barreira hematoencefálica (BHE) constitui uma das três barreiras entre o sangue e o sistema nervoso central (SNC), porém as células endoteliais do plexo coroide (barreira do líquido cerebrospinal) e o endotélio avascular aracnoideo, que constituem as outras

duas, não representam uma superfície significativa para o intercâmbio de drogas entre os dois meios (ABBOTT *et al.*, 2010).

A BHE consiste de um sistema especializado de células endoteliais capilares que protege o cérebro de substâncias nocivas, assim como fornece nutrientes necessários para sua função adequada. Estes capilares, ao contrário dos capilares periféricos que permitem uma troca relativamente livre de substâncias entre as células, restringem estritamente o transporte de substâncias para o cérebro, tanto por meio de uma barreira física quanto de uma barreira metabólica (Figura 2) (BEGLEY, 2004). Esta barreira restringe o alcance de drogas ao SNC e o desenvolvimento de novos fármacos, considerando que mais de 96% de potenciais moléculas são incapazes de atravessá-la (PATEL *et al.*, 2013) (Figura 1).

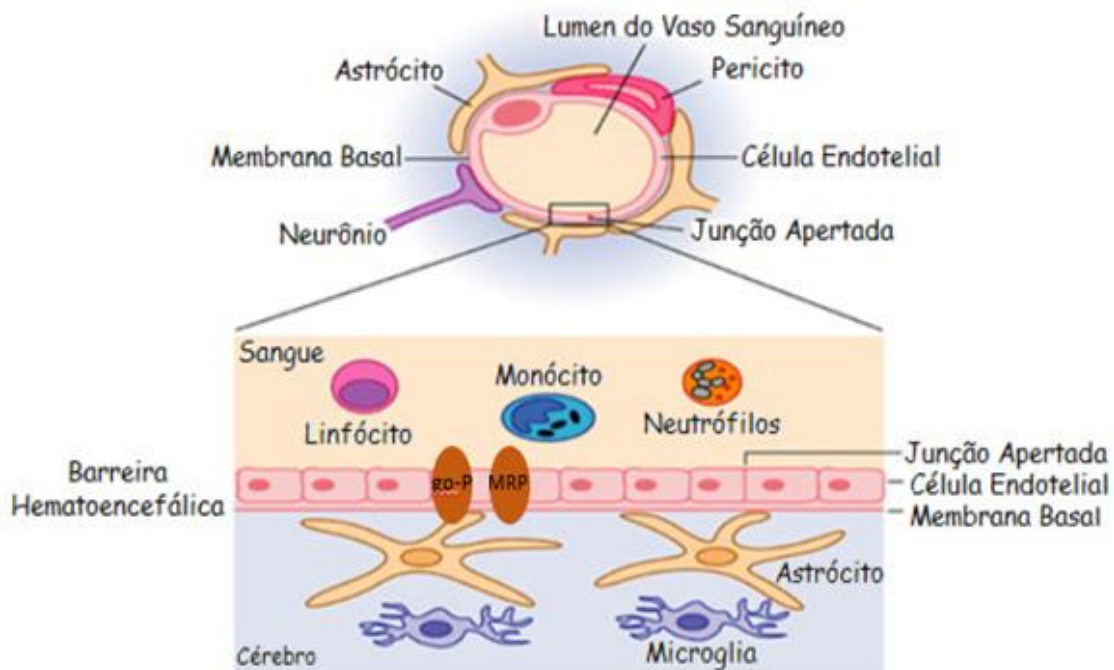


Figura 2: Esquema representativo da Barreira Hematoencefálica (BHE). A BHE consiste em um sistema especializado de células endoteliais capilares que separa o fluxo sanguíneo periférico do Sistema Nervoso Central (SNC). Os vasos sanguíneos são envolvidos por células de suporte (astrócitos e pericitos) e neuronais e possuem células endoteliais desprovidas de fenestração com junções intercelulares extremamente apertadas e transportadores de efluxo (glicoproteína P – gp-P e família de proteínas de resistência múltipla a drogas - MRP). Adaptado de UNIVERSITY OF CAMBRIDGE, 2003.

A barreira física é composta por células endoteliais desprovidas de fenestrações e a presença de junções intercelulares extremamente apertadas, que efetivamente selam a via paracelular e proporcionam à BHE uma resistência elétrica transendotelial (TEER) de até 1500-2000 Ωcm^2 (CRONE e OLESEN, 1982). Outros tipos celulares que compõem a BHE são os astrócitos e os pericitos. Astrócitos são células da glia que possuem prolongamentos (podócitos) que envolvem a membrana basolateral do endotélio capilar e têm uma função importante na homeostase, como manutenção dos níveis de íons K^+ , inativação de neurotransmissores, regulação e produção de fatores de crescimento e citocinas (BLASI *et al.*, 2007). Pericitos são células cerebrais contráteis que regulam o fluxo sanguíneo capilar desempenhando um papel importante na manutenção da BHE com a auto-regulação e homeostase cerebral, além disto parecem estar envolvidos em sua formação, diferenciação e integridade (BALABANOV *et al.*, 1999; ROJAS *et al.*, 2011).

A barreira metabólica consiste na presença de transportadores como a glicoproteína P (gp-P) e a família de proteínas de resistência múltipla a drogas (MRP) na membrana das células endoteliais, as quais regulam o intercâmbio transcelular entre o SNC e o sangue periférico, bem como a remoção de substâncias nocivas e resíduos de produtos e são responsáveis pelo mecanismo de efluxo de muitas drogas (PATEL *et al.*, 2013).

Existem quatro mecanismos distintos principais pelos quais uma molécula solúvel pode atravessar a BHE (Figura 3) (PATEL *et al.*, 2013):

1. Difusão paracelular, por entre as células, a qual é bastante restrita devido a presença das junções apertadas nas células endoteliais.
2. Difusão transcelular, que ocorre quando uma substância atravessa a célula. Quanto maior a lipofilicidade e tamanho <450 Da, melhor o transporte da molécula (PARDRIDGE, 2003).

3. Transporte mediado por carreadores, que provavelmente ocorre pela abertura de poros estreitos transitórios devido a ligação de um substrato específico a um carreador presente na membrana, permitindo a passagem também de uma molécula específica.
4. Endocitose mediada por receptor, a qual se dá por meio da ligação de substâncias a receptores localizados na membrana luminal do endotélio, regulando a permeabilidade de outras substâncias (FERNANDES *et al.*, 2010).

O uso de nanocarreadores pode melhorar a biodisponibilidade de fármacos no SNC, potencializando a difusão passiva através do endotélio cerebral, aumentando o gradiente de concentração local de fármaco. Da mesma forma, nanocarreadores podem desencadear transcitose através da BHE, quer pela ligação ligante-receptor (transcitose mediada por receptor – TMR) ou por interações eletrostáticas (transcitose mediada por adsorção -TMA), graças à segmentação de unidades anexadas à sua superfície (XU *et al.*, 2013), bem como podem bloquear o efluxo ativo de volta para a corrente sanguínea (MILLER *et al.*, 2008).

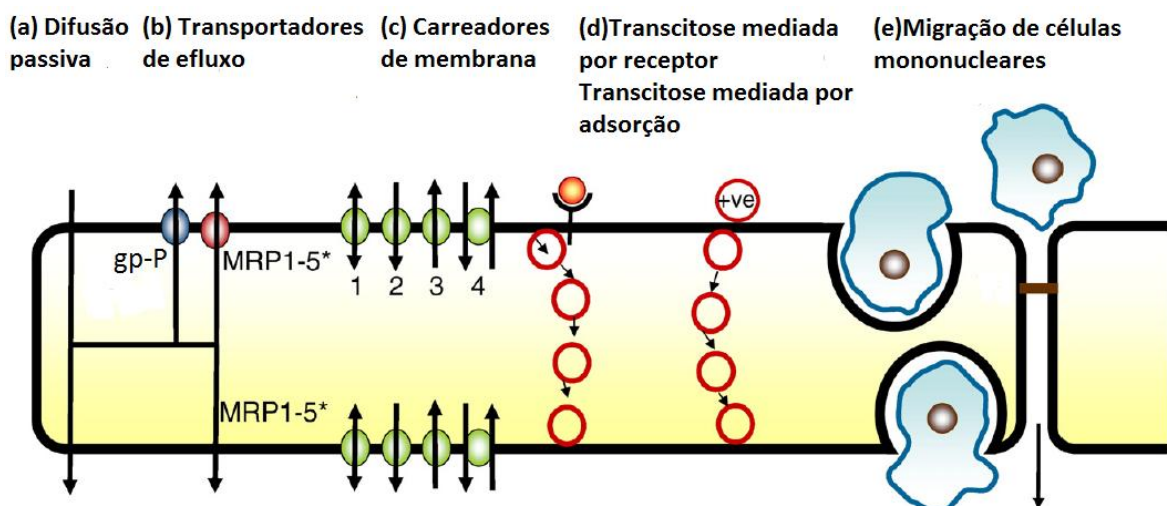


Figura 3: Rotas de transporte através da Barreira Hematoencefálica (BHE). (a) solutos podem se difundir passivamente através da membrana e atravessar o endotélio. (b) transportadores de efluxo ativo que incluem glicoproteína P (gp-P) e família de proteínas de resistência múltipla a drogas (MRP) podem interceptar e bombear alguns desses solutos para fora da célula. (c) influxo por meio de carreadores presentes na membrana celular para determinadas substâncias. (d) transcitose pode ser induzida por ligação de ligantes a

receptores presentes na membrana e por substâncias carregadas positivamente. (e) leucócitos atravessam a BHE por diapedese através das células endoteliais ou modificações das junções intercelulares. Adaptado de ABBOTT *et al.*, 2010.

Silva *et al.*, 2012 obteve sucesso na passagem de nanopartículas magnéticas hospedadas em nanoesferas de albumina através da BHE sem nenhuma alteração patológica por meio de sua internalização e transporte por eritrócitos e também sua distribuição em diferentes tipos celulares e organelas, atribuindo ao uso de materiais biocompatíveis e com participação em mecanismos celulares diversos (SILVA *et al.*, 2012).

Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Existem diversos tipos de nanocarreadores disponíveis, que diferem em sua composição, características físico-químicas, comportamento no organismo e capacidade de estocar fármacos de acordo com suas diferentes características, os quais podem ser divididos em três diferentes categorias de acordo com os excipientes existentes em sua formulação: nanocarreadores poliméricos (nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas e dendrímeros), nanocarreadores lipídicos (nanocápsulas, lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas lipídicas sólidas) e nanocarreadores metálicos (BLANCO *et al.*, 2016) (Tabela 1). Outras nanopartículas lipídicas derivadas de NLS (carreadores lipídicos nanoestruturados e conjugados de fármaco lipídico) foram recentemente desenvolvidas (BATTAGLIA e GALLARATE, 2012).









Material	Tipo	Morfologia	Tamanho
Nanocarreadores poliméricos	Polímeros conjugados		2–25 nm
	Nanopartículas poliméricas		10–1000 nm
	Micelas poliméricas		10–200 nm
	Dendrímeros		1–10 nm
Nanocarreadores lipídicos	Lipossomas		20–5000 nm
	Nanopartículas lipídicas sólidas		50–1000 nm
	Nanocápsulas lipídicas		20–100 nm
Nanocarreadores metálicos	Nanopartículas de magnetita/maghemita/ouro/selênio		1–200 nm

Figura 4: Principais tipos de nanocarreadores disponíveis, os quais são separados de acordo com o material predominantemente presente na formulação em três categorias: nanocarreadores poliméricos, nanocarreadores lipídicos e nanocarreadores metálicos. Cada categoria abriga diversos tipos de nanocarreadores que diferem entre si em suas características morfológicas, físico-químicas e modo de produção. (BLANCO *et al.*, 2016).

Nanocarreadores lipídicos apresentam algumas vantagens que incluem excelente biocompatibilidade e tolerabilidade, além de não apresentarem problemas relacionados à produção em larga escala e à esterilização (WANG *et al.*, 2002; WISSING *et al.*, 2004; MANJUNATH *et al.*, 2005). Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) são compostas por um núcleo hidrofóbico sólido, revestido por uma monocamada de fosfolipídios, que possuem suas extremidades hidrofóbicas incorporadas na matriz. Podem transportar tanto fármacos lipofílicos, dissolvidos ou dispersos no núcleo, quanto fármacos hidrofílicos na superfície (Figura 2) (ANDRESEN *et al.*, 2005; LAI *et al.*, 2007; SUBEDI *et al.*, 2009).

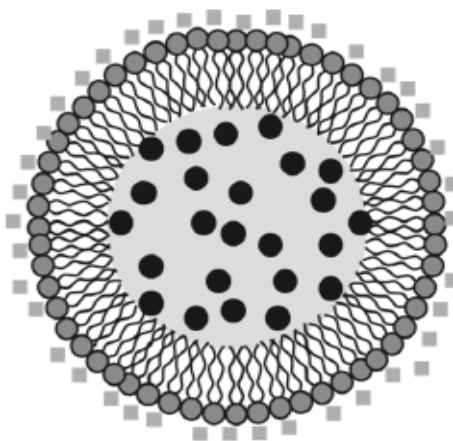


Figura 5: Esquema de nanopartícula lipídica sólida: antineoplásico hidrofílico adsorvido na sua superfície (representado por quadrados cinzas) e encapsulando antineoplásico lipofílico (representado esferas pretas). Adaptado de Oliveira *et al.*, 2012.

Os lipossomas, por apresentar um núcleo líquido, são mais fluidos, enquanto NLS apresentam pouca ou nenhuma fluidez e acredita-se que essa estrutura mais rígida favoreça o controle da liberação do fármaco no sítio de ação, bem como a sua estabilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2012). O reconhecimento das NLS pelo sistema reticuloendotelial (SRE) é a principal desvantagem para sua aplicação (BEG *et al.*, 2011), porém a adição de ligantes em sua superfície, como por exemplo o polietilenoglicol (PEG), consegue superar essa limitação, impedindo a ligação de componentes do sangue a nanopartícula por meio de repulsões elétricas, evitando a opsonização e captura pelo SRE e permitindo com que a nanopartícula circule por mais tempo na corrente sanguínea (HUSSEINI e PITT, 2008; MORSHED *et al.*, 2013).

As modificações na superfície também permitem uma maior especificidade e seletividade para o tecido alvo. Adição de ligantes como transferrina, insulina e tiamina podem ser utilizados para interagir diretamente com as células endoteliais possuem ligantes na BHE (TOSI *et al.*, 2007). Além disso, verificou-se que o revestimento da superfície com polietilenoglicol, propileno glicol e outros tensoativos não iônicos são capazes de bloquear a bomba de efluxo (GARCION *et al.*, 2006).

Com isso, a nanomedicina permite com que níveis de fármacos no tecido cerebral, de outro modo inalcançável, sejam atingidos, tanto por meio do aumento da passagem da droga pelo endotélio cerebral, tanto evitando o bloqueio da clivagem enzimática periférica do mesmo, resultando em doses e frequências reduzidas e minimizando os efeitos adversos prejudiciais devido a distribuição da droga em alvos periféricos não desejados. Este fato é de grande importância para agentes terapêuticos cuja baixa disponibilidade no tecido alvo não pode ser contrabalanceada pelo aumento da dose por receio dos efeitos adversos graves, como no caso da quimioterapia (KOZLOVSKAYA e STEPENSKY, 2013; BLANCO *et al.*, 2016). Dessa forma diversos estudos vêm sendo realizados com NLS para tratamento de câncer e doenças que acometem SNC, incluindo glioblastoma.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Coletar e reunir dados disponíveis na literatura sobre estudos realizados com nanopartículas lipídicas sólidas como carreadores de fármacos citotóxicos e outras substâncias para o tratamento de glioblastomas e sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fazer um levantamento sobre quais fármacos estão sendo incorporados em NLS para o tratamento de glioblastomas.
- Analisar as modificações realizadas nas NLS e seus resultados quanto a capacidade de atravessar a BHE e especificidade por células cancerígenas.
- Quantificar e discutir os tipos de estudos realizados (*in vitro*, *in vivo*, clínicos).

METODOLOGIA

A busca de dados disponíveis foi efetuada utilizando-se as bases de dados *Pubmed* e *Science Direct* por se tratarem de referências em buscas científicas e reunirem diversos trabalhos voltados para a área médica realizados em todo o mundo. Foram selecionados trabalhos publicados nos últimos 3 anos (2014-2017) com os seguintes descritores de assunto na língua inglesa: “*solid lipid nanoparticles*” e “*glioblastoma*”, com operador booleano “AND” entre eles.

Encontrou-se um total de 14 publicações na base Pubmed e 111 na base Science Direct, dos quais 11 artigos de cada base foram selecionados por meio da leitura dos títulos e resumos, seguindo os seguintes critérios de inclusão/exclusão:

- Critérios de inclusão: artigos publicados nos últimos 3 anos que incluíam estudos pré-clínicos *in vitro* e/ou *in vivo* e estudos clínicos, relacionados ao uso de nanopartículas lipídicas sólidas para o tratamento de gliomas e glioblastomas.
- Critérios de exclusão: artigos de revisão, trabalhos que englobavam o uso de outros nanocarreadores que não nanopartículas lipídicas sólidas ou estudos comparativos entre os mesmos e estudos voltados apenas para síntese e caracterização das formulações.

Ao fim, do total de 22 textos selecionados, 7 foram subtraídos por se tratar do mesmo trabalho encontrado nas duas bases de dados, totalizando em 15 artigos para leitura íntegra e análise dos resultados.

RESULTADOS

Foi selecionado um total de 15 artigos para análise de seus dados, sendo que 13 destes apresentam resultados de ensaios realizados *in vitro* e apenas 2 descrevem ensaios *in vitro/in vivo*. Nenhum estudo clínico foi encontrado. Os resultados e análise dos dados estão contidos na Tabela 2 e são descritos a seguir:

Testes in vitro

MOHAMED *et al.*, 2014, desenvolveram uma NLS híbrida (HNLS) composta de lipídeos e polímero conjugadas com folato e carregadas com curcuma, uma proteína inativadora de ribossomo. Os ensaios mostraram que a formulação apresentou uma rápida e subsequente moderada liberação da droga, biocompatibilidade com células HUVEC e HCN-1A e especificidade de absorção e toxicidade para linhagem de gliomas (teste 2D e 3D). Para entender como as HNLSs eram internalizadas, as células foram tratadas com inibidores endocíticos específicos e então expostas à formulação, onde várias NLS conseguiram alcançar o citosol, mostrando que as mesmas utilizam diversos mecanismos distintos para fazê-lo, não apenas endocitose. O mecanismo de toxicidade observado foi a redução dos níveis de survivina, um inibidor de apoptose e vinculina, uma proteína de membrana com função na interação célula-célula e célula-matriz (MOHAMED *et al.*, 2014).

CHIRIO *et al.*, 2014, desenvolveram NLS com paclitaxel (PTX-NLS) carregadas positivamente utilizando duas substâncias diferentes: estearilamina ou glicol-quitosana. Nenhuma diferença de permeabilidade através da BHE, testada em monocamada de células hCMEC/D3, entre NLS não carregadas e carregadas positivamente contendo uma cumarina fluorescente foi observada, embora todas se mostraram maior absorção em relação a substância livre. Teste de citotoxicidade com diferentes linhagens NO3 de glioblastoma mostram que PTX em NLS foi mais eficiente que a droga livre, e que apenas

NLS sem carga e carregadas com glicol-quitosana apresentaram diferença significativa em relação a sua correspondente NLS vazia (sem o fármaco). Testes de morfologia celular e danos de DNA também mostraram que a encapsulação de PTX não afetou sua ação farmacológica. Em experimentos de co-cultura com hCMEC/D3 e diferentes tipos celulares de glioblastoma, PTX em NLS teve sua toxicidade sobre células tumorais aumentada, possivelmente por sua maior permeabilidade devido bloqueio de seu efluxo por P-gp (CHIRIO *et al.*, 2014).

BATTAGLIA *et al.*, 2014, em estudo para aprisionar doxorrubicina em NLS, no qual a formulação selecionada foi a que continha dioctil sulfosuccinato de sódio como contra-íon e ácido beénico como matriz lipídica (Dox-AOT-BA-NLS), observaram que a mesma melhorou a permeabilidade de Dox comparada com a droga livre de maneira tempo/dose dependente e teve maior internalização por células hCMEC/D3. Testes de citotoxicidade com três culturas celulares de glioblastoma humano diferentes (U87MG, CV17 e 01010627), revelaram que o aprisionamento do fármaco em NLS não alterou sua toxicidade em diferentes concentrações. Além disso, em experimento de co-cultura com células hCMEC/D3 e células de glioblastoma, NLS concedeu uma entrega mais alta e reduziu significativamente a viabilidade em todas as linhagens utilizadas, sendo mais eficaz que a droga livre (BATTAGLIA *et al.*, 2014).

KUO e HONG, 2014, estudaram a entrega de etoposídeo ao cérebro utilizando NLS catiônicas com 5HT-modulina na superfície (5-HT-moduline/ETPCASLNs). A formulação não induziu citotoxicidade séria em células HBMECs e a modificação em sua superfície promoveu uma liberação sustentada do fármaco, reduzindo a dosagem e toxicidade. Aumento na concentração de 5-HT-modulina melhorou consideravelmente a permeabilidade pela BHE, bem como a adição de agentes tensoativos catiônicos ao sistema. Aumento na concentração de 5-HT-modulina também foi responsável por

aumentar a quantidade de NLS internalizadas por HBMECs, evidenciando uma internalização por meio da ligação com receptor 5HT 1B presente em células HBMECs (KUO e HONG, 2014).

KUO e LEE, 2015, demonstraram que NLS carregadas com ETP com *p*-aminophenyl- α -D-manno-pyranoside (APMP) e ácido fólico (AF) na superfície (APMP-AF-NLSs), foram capazes de retardar a rápida dissolução do ETP. Além disso, a permeabilidade de ETP através da BHE em teste com monocamada HBMEC/HA foi aumentada, atribuindo ao fato de que AF e APMP poderiam se ligar, respectivamente, a receptores de folato (FR) e de glicose (GLUT-1) presentes em células HBMEC, sendo que este último poderia ser confirmado pelo fato de que glicose livre no meio conseguiu reduzir a permeabilidade de ETP quando APMP estava presente. Também observou-se redução da viabilidade celular de células U87MG, sugerindo o estudo que o aumento da captação de APMP-AF-NLSs foi atribuída a endocitose mediada por receptor pela ligação do AF com FRs presentes na membrana dessas células, sendo que APMP seria responsável apenas por mediar a transcitose pela BHE, mas não atingir células U87MG (KUO e LEE, 2015).

BATTAGLIA *et al.*, 2015 realizou quatro diferentes estudos *in vitro* com células HUVEC (ensaio de proliferação, ensaio de migração, ensaio de cicatrização de feridas e ensaio de formação de tubos) para avaliar a capacidade antiproliferativa e antiangiogênica de bevacizumab (BVZ) encapsulado em NLS (BVZ-NLS). Em todos os ensaios, BVZ nanoencapsulado teve sua atividade melhorada em cerca de 100-200 vezes quando comparada com a droga livre. Além disso, NLSs foram capazes de aumentar a permeabilidade de BVZ marcada com fluorescência (BVZ-FITC) através de uma monocamada de células hCMEC/D3 (BATTAGLIA *et al.*, 2015).

KUO e WANG, 2015 utilizaram NLS estabilizadas com surfactantes catiônicos conjugadas com antagonista do subtipo 1B de receptor serotoninérgico (S1BRSA) para encapsular carmustina (BCNU) (S1BRSA/BCNU-CASLNs) e avaliar sua efetividade contra GBM. Os resultados revelaram uma liberação moderada de BCNU com característica de liberação sustentada pelas NLSs. Além disso, células U87MG foram significativamente mais sensíveis à toxicidade de NLSs que células HBMECs em mesmo intervalo de tempo de exposição e o aumento na concentração de surfactante catiônico também reduziu a viabilidade. Aumento na concentração de compritol e S1BRSA diminuiu o clearance intrínseca de BCNU *in vitro*, prolongando sua duração efetiva. Aumento na concentração de S1BRSA e surfactantes catiônicos melhorou a permeabilidade de BCNU em teste *in vitro* com monocamada HBMEC/HA e sua internalização em células HBMEC, sugerindo um direcionamento de S1BRSA para seus receptores presentes em células HBMEC e uma transcitose mediada por adsorção devido fornecimento de grupos carregados pelos surfactantes (KUO e WANG, 2015).

KUO e WANG, 2015a demonstraram que NLS carregadas com etoposídeo (ETP) conjugadas com tamoxifeno (TX) e anticorpo anti-melanotransferrina (AM) (AM-TX-ETP-NLSs), foram capazes de aumentar o coeficiente de permeabilidade de ETP em teste *in vitro* com monocamada HBMEC/HA, sendo que conjugação com AM aproximadamente dobrou o coeficiente em comparação com NLS conjugadas apenas com TX. Presença de TX mostrou-se responsável por bloquear a P-gp devido aumento da intensidade relativa fluorescente de calceína-AM intracelular (substrato de P-gp), enquanto o mesmo não foi observado de forma considerável com AM. Teste de viabilidade celular com células HBMEC e U87MG, mostrou redução razoável e significativa respectivamente. A presença concomitante de TX e AM na superfície resultou em maior internalização celular comparada com outras formulações e AM-TX-ETP-NLSs emergiram na vizinhança de

melanotransferrina expressas em células U87MG, sugerindo uma endocitose mediada por receptor (KUO e WANG, 2015a).

KUO e CHENG, 2015 demonstraram que NLS contendo carmustina (BCNU) modificadas com tamoxifeno (TX) e lactoferrina (Lf) (TX-Lf-BCNU-NLSs), foram capazes de aumentar o coeficiente de permeabilidade de BCNU em teste *in vitro* com monocamada HBMEC/HA. Além disso, capacidade do TX de bloquear a P-gp foi observada devido aumento da intensidade relativa fluorescente de calceína-AM intracelular (substrato de P-gp), enquanto o mesmo não foi observado de forma considerável com Lf. Em teste de viabilidade celular, TX-Lf-BCNU-NLSs demonstrou toxicidade aceitável em células HBMEC e reduziu de maneira expressiva o crescimento de células U87MG. Aumento da internalização de NLS com Lf e a proximidade das mesmas dos LfR foi confirmada por coloração imunoquímica, reforçando a ideia da ocorrência de endocitose mediada por receptor. O estudo também mostrou que a liberação de BCNU em NLS na presença de TX e Lf foi mais controlada em comparação com BCNU em NLS não modificadas (KUO e CHENG, 2015).

KUO e CHAO, 2016, em estudo com NLS carregadas com ETP e com anti-metalotransferrina (AM) ligadas à superfície (AM-ETP-NLSs), concluíram que as mesmas foram capazes de aumentar a permeabilidade da droga através de monocamada HBVEC/HA e reduzir a viabilidade celular de células U87MG. Também foi observado o acúmulo de NLS próximo as melanotransferrinas presentes na membrana dessas células, sugerindo uma absorção por endocitose mediada pela presença de AM na formulação. Todos os resultados foram obtidos de forma proporcional ao aumento de concentração de AM. O estudo também mostrou que um aumento na porcentagem de tripalmitina na formulação, aumentou o tamanho das AM-ETP-NLSs e reduziu a eficiência de encapsulação do ETP, a conjugação com AM e o coeficiente de permeabilidade da droga,

consequentemente declinando o efeito antiproliferativo de células U87MG (KUO e CHAO, 2016).

KUO e LEE, 2016, em um estudo com NLS com ETP conjugadas com anticorpo monoclonal 83-14 (8314MAb) e um anti-receptor de fator de crescimento epitelial (AEGFR) (8314MAb-AEGFR-NLSs), demonstraram que as mesmas foram capazes de oferecer uma liberação prolongada da droga, devido obstrução da passagem de ETP na superfície modificada. O coeficiente de permeabilidade do ETP em 8314MAb-NLS através da membrana HBMEC/HA foi ligeiramente maior que em 8314MAb-AEGFR-NLS, possivelmente devido repulsão elétrica com células HBMECs pelo AEGFR, e aumentou com o acréscimo de 814MAb. Redução da viabilidade celular de células U87MG e internalização celular foi maior com 8314MAb-AEGFR-NLS comparada com outras formulações, possivelmente por endocitose devido ligação de 8314MAb com receptores de insulina presentes em células HBMECs e reconhecimento de EGFR por AEGFR em células U87MG. Apesar de ter diminuído, a viabilidade de células HBMEC e HA foi superior a 86%, mostrando um nível de citotoxicidade tolerável para células e tecidos normais (KUO e LEE, 2016).

GARANTI *et al.*, 2016 investigou as propriedades de NLS carregadas com ácido asiático (AA) (AA-NLS) para três diferentes lipídeos sólidos: triesterato de glicerila (TS), diesterato de glicerila (DS) e monoestearato de glicerila (MS), sendo que este último foi o que apresentou melhor perfil de liberação, o que também pode explicar a maior citotoxicidade sobre células U87MG observada com MS em relação ao DS e TS. Todas as formulações apresentaram maior grau de toxicidade em células U87MG em relação a células SVG P12 (não cancerígenas), devido maior captação das NLS pelas mesmas confirmada por microscopia de fluorescência e citometria de fluxo. Maior internalização de NLS foi observada em células tratadas à 37°C que à 4°C, sugerindo uma via endocítica

dependente de energia. O mecanismo de morte celular mostrou envolver tanto apoptose quanto necrose, o que dependeu da concentração e tempo de exposição ao AA (GARANTI *et al.*, 2016).

KUO e LEE, 2016a demonstraram que NLS com doxorubicina (Dox) conjugadas com aprotinina (Apr) e anti-melanotransferrina (MTf) (Apr-Anti MTf-Dox-NLSs), apresentaram uma liberação sustentada do fármaco comparada com a droga livre, além de melhor promover a permeabilidade de Dox por monocamada HBMEC/HA e inibir a proliferação de células U87MG comparada com outras formulações testadas, porém a alta viabilidade de células HBMEC e HA sugere que os lipídeos e surfactantes incorporados não colocariam em risco a integridade da BHE. Maior internalização de Apr-Anti MTf-Dox-NLSs por células HBMEC e U87MG também foi observada, possivelmente devido a ligação de Apr com receptores LDLR e Anti-MTf em receptores de transferrina, já que a distribuição de MTf e MTfR foi coincidente (KUO e LEE, 2016a).

Testes in vitro/in vivo

JOSE *et al.*, 2014, avaliaram a entrega de resveratrol carregado em NLS (resveratrol -NLS) ao SNC. Todas as formulações testadas apresentaram uma rápida liberação inicial seguida de um padrão de liberação sustentada, a qual se tornou mais lenta a medida que se aumentava o conteúdo lipídico da formulação. Resveratrol incorporado em NLS manteve a mesma eficácia da droga livre sobre células da linhagem C6 de gliomas. Em ensaio *in vivo*, ratos Wistar tratados com resveratrol nanoencapsulado demonstraram que o mesmo teve seu tempo de meia vida aumentado e foi capaz de se acumular 6 vezes mais no tecido cerebral em comparação com grupo tratado com a droga livre (JOSE *et al.*, 2014).

BATTAGLIA *et al.*,2017, desenvolveram estudo com metotrexato incorporado em NLS conjugadas com ApoE em sua superfície (ddMTX-loaded SLN). Os resultados demonstraram que NLS tiveram capacidade de reduzir a viabilidade celular de células tumorais F98 de ratos Fischer mantida ou ligeiramente menor que a droga livre, sendo que ambas, em determinadas concentrações, mostraram-se até mais eficazes que TMZ. Ativação de caspase 3 foi maior em células tratadas com metotrexato tanto livre quanto encapsulado em comparação ao tratamento com TMZ e células não tratadas, indicando mecanismo de morte celular por apoptose. Metotrexato teve uma permanência no plasma maior quando em NLS e reduziu o crescimento de volume tumoral, porém este último não mostrou diferença significativa comparada ao controle. Uma baixa concentração da formulação em tecido cerebral foi fator limitante para sucesso terapêutico e novas pesquisas precisam ser realizadas afim de melhorar suas características (BATTAGLIA *et al.*,2017)

Tabela 1: Estudos encontrados e descrição dos resultados.

Formulação	Ano	Tipo de estudo	Fármaco	Fármaco aprovado para GBM pelo FDA	Resultados
5-HT-moduline/ETPCASLNs (Yung-Chih Kuo e Tsu-Yu Hong)	2014	<i>in vitro</i>	ETP	Não	Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ internalização por células HBMEC
AM-ETP-NLSs (Yung-Chih Kuo e In-Wei Chao)	2016	<i>in vitro</i>			↑ permeabilidade pela BHE ↑ internalização por células U87MG e HBMEC ↑ toxicidade em células U87MG
APMP-AF-NLSs (Yung-Chih Kuo e Chia-Hao Lee)	2015	<i>in vitro</i>			Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ internalização, especificidade e toxicidade em células U87MG
AM-TX-ETP-NLSs (Yung-Chih Kuo e I-Hsin Wang)	2015	<i>in vitro</i>			↑ permeabilidade pela BHE ↑ internalização, especificidade e toxicidade em células U87MG
8314MAb-AEFGR-NLSs (Yung-Chih Kuo e Chia-Hao Lee)	2016	<i>in vitro</i>			Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ internalização, especificidade e toxicidade em células U87MG
Dox-AOT-BA-NLS (Luigi Battaglia et al.)	2014	<i>in vitro</i>	Dox	Não	↑ permeabilidade pela BHE ↓ viabilidade celular de glioblastoma em teste de co-cultura
Apr-Anti MTF-Dox-NLSs (Yung-Chih Kuo e I-Hsuan Lee)	2016	<i>in vitro</i>			Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ internalização em células HBMEC e U87MG ↑ toxicidade em células U87MG
S1BRSA/BCNU-CASLNs (Yung-Chih Kuo e Cheng-Chin Wang)	2015	<i>in vitro</i>	BCNU	Sim	Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ especificidade e toxicidade em células U87MG ↑ meia-vida de BCNU
TX-Lf-BCNU-NLSs (Kuo, Yung-Chih e Cheng, Shih-Jue)	2015	<i>in vitro</i>			Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ toxicidade em células U87MG
HNLS (M. Sheikh Mohamed et al.)	2014	<i>in vitro</i>	Curcina	Não	Liberação prolongada da droga ↑ especificidade de absorção e toxicidade para linhagem de gliomas uso de diversos mecanismos para internalização celular
PTX-NLS (Daniela Chirio et al.)	2014	<i>in vitro</i>	PTX	Não	Liberação prolongada da droga ↑ permeabilidade pela BHE ↑ toxicidade em células NO3 ↑ toxicidade em teste de co-cultura com diversas linhagens de GBM
BVZ-NLS (Luigi Battaglia et al.)	2015	<i>in vitro</i>	BVZ	Sim	↑ permeabilidade pela BHE melhora da capacidade antiploriferativa e antiangiogênica
AA-NLSs (Tanem Garanti et al.)	2016	<i>in vitro</i>	AA	Não	↑ especificidade e toxicidade em células U87MG internalização por via endocítica dependente de energia morte celular por apoptose e necrose
resveratrol -NLS (S. Jose et al.)	2014	<i>in vitro/in vivo</i>	Resveratrol	Não	liberação sustentada manteve eficácia sobre linhagem C6 de glioma ↑ tempo de meia-vida e acúmulo em tecido cerebral de ratos Wistar
ddMTX-loaded SLN (Luigi Battaglia et al.)	2017	<i>in vitro/in vivo</i>	MTX	Não	↓ viabilidade celular de células tumorais F98 de ratos Fischer ↑ permanência no plasma baixa concentração em tecido cerebral

DISCUSSÃO

Etoposídeo é um fármaco citotóxico aprovado para uso no tratamento de carcinoma de pequenas células de pulmão, leucemia aguda monocítica e mielomonocítica doença de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin e tumores testiculares (ETOPOSÍDEO, 2014). Contudo, em um estudo de fase dois para o tratamento de tumores cerebrais recorrentes, a BHE foi capaz de inativar e barrar a passagem do medicamento (NEEDLE *et al.*, 1997). Cinco estudos sobre ETP foram encontrados, sendo que em todos eles a incorporação do fármaco em NLS melhorou a permeabilidade através da BHE, induziu citotoxicidade em linhagens celulares de glioblastoma sem contudo afetar de forma significativa células normais, além de permitir uma liberação sustentada da droga, resultados satisfatórios para redução de seus efeitos adversos e entrega ao SNC.

Doxorrubicina é um agente quimioterápico utilizado para tratar diversas neoplasias, porém seu uso é dose limitante, especialmente por seu risco em causar danos a função cardíaca com risco de vida (BATTAGLIA *et al.*, 2014). Dois estudos com NLS carregadas com Dox mostraram que as mesmas foram capazes de aumentar a internalização do fármaco tanto em células endoteliais da microvasculatura cerebral, conseguindo permear a BHE, quanto em diferentes linhagens celulares de glioblastoma, mantendo sua toxicidade sobre as mesmas, aumentando dessa maneira sua especificidade, o que poderia reduzir a dose requerida e seus efeitos indesejáveis em outros tecidos.

A carmustina é um agente que tem seu uso aprovado para o tratamento de tumores cerebrais, incluindo glioblastoma, devido sua capacidade de atravessar a BHE, porém sua aplicabilidade é limitada devido seu tempo de meia vida muito curto (cerca de 15 minutos) no corpo humano e efeitos adversos como toxicidade pulmonar, mielossupressão, e insuficiência renal e hepática (KUO e WANG, 2015; CARMUSTINA, 2016). Nos dois estudos encontrados com BCNU incorporadas em NLS, demonstrou-se maior capacidade

de permeabilidade do fármaco através da BHE, especificidade de toxicidade sobre células cancerígenas de glioblastoma, liberação sustentada do fármaco pelo nanossistema e em um deles aumento do tempo de meia vida, o qual foi proporcional a quantidade de compritol presente na formulação.

Benvacizumabe é um anticorpo monoclonal antiangiogenico, aprovado pelo FDA para tratamento de GBM recorrente em pacientes no qual a terapia inicial não funcionou (RAHMATHULLA *et al.*, 2013). Sua incorporação em NLS é dificultada devido sua natureza hidrofílica e alto peso molecular (BATTAGLIA *et al.*, 2015), o que também podem ser empecilhos para atravessar a BHE. Um estudo encontrado, demonstrou que o BVZ em NLS teve sua atividade antiploriferativa e antiangiogenica melhorada, bem como sua permeabilidade por meio da BHE.

Paclitaxel é um quimioterápico utilizado para tratar diversos tipos de tumores sólidos e tem se mostrado eficaz contra tumores cerebrais, porém esse último uso é limitado devido sua baixa permeabilidade pela BHE e mecanismos de resistência, além de severos efeitos adversos devido componentes presentes em sua formulação (CHIRIO *et al.*, 2014). No estudo encontrado com PTX, conseguiu-se aumentar a permeabilidade pela BHE e bloquear o efluxo da droga pela gp-P, contornando os problemas citados.

Curcina é uma substância encontrada nas sementes de *Jatropha curcas* e possui diversos mecanismos responsáveis por atividade antitumoral (MOHAMED *et al.*, 2014). Um estudo *in vitro* com curcina, demonstrou que a mesma possuiu maior especificidade para linhagens celulares cancerígenas sem alteração de suas características farmacodinâmicas pela formulação e biocompatibilidade com células normais.

O ácido asiático é outra substancia natural, presente na *Centella asiatica* que tem se mostrado efetivo contra diversos tipos de linhagens cancerígenas, incluindo glioblastoma, porém sua baixa solubilidade em água torna difícil sua biodistribuição e internalização nos

tecidos alvo por via oral e parenteral e limita seu uso clínico (GARANTI *et al.*, 2016). Estudo *in vitro* com NLS carregadas com AA, resultou em maior entrega da droga, citotoxicidade e seletividade sobre células cancerígenas.

MTX é um fármaco citotóxico utilizado no tratamento de diversos tumores sólidos e neoplasias hematológicas e também como imunossupressor em transplantes de órgãos e no tratamento de doenças autoimunes como reumatismo e psoríase, porém seu índice terapêutico estreito com alto potencial de toxicidade e não capacidade de atravessar a BHE, torna seu uso limitado para tratar tumores cerebrais (RUBIO, 2015). Um estudo encontrado com MTX, apesar de demonstrar resultados satisfatórios com a formulação, não foi capaz de acumular a droga no tecido cerebral em quantidades suficientes, sendo necessários mais estudos para melhorá-la.

Resveratrol é um composto natural que possui diversas atividades, entre elas antioxidante, anti-inflamatória, cardioprotetora e antitumoral (GOLDBERG *et al.*, 2003). Porém, sua capacidade contra tumores cerebrais é limitada devido seu tempo de meia-vida muito curto, de aproximadamente 8-14 minutos, o que impossibilita o alcance de concentrações adequadas para exercer seu efeito terapêutico (ASENSI *et al.*, 2002; MARIER *et al.*, 2002). Em um estudo *in vivo* encontrado, Resveratrol nanoencapsulado teve seu tempo de meia-vida aumentado e maior capacidade (6 vezes mais que a droga livre) de se acumular no tecido cerebral.

De todas as substâncias descritas acima, apenas BCNU e BVZ tem uso aprovado pelo FDA para tratamento de GBM, sendo que as demais são usadas off label ou estão tendo suas atividades testadas. Esse fato evidencia a importância do uso de nanocarreadores, neste caso, NLS devido o fato de serem capazes de alterar as propriedades físico-químicas do fármaco utilizado de acordo com as necessidades

desejadas e direcioná-los a alvos específicos, permitindo dessa maneira uma amplificação do arsenal terapêutico disponível para o tratamento da doença.

Dos 15 estudos analisados, 11 utilizaram modificações em sua estrutura por conjugação com anticorpos, ligantes de receptores, receptores ou grupos catiônicos na superfície. Em todos os estudos esses ligantes se mostraram responsáveis pela maior capacidade de permeabilidade através da BHE e melhor direcionamento e internalização em células cancerígenas com relação a células normais devido interações dos mesmos com estruturas presentes nas membranas destas células a nível molecular.

Apenas 2 testes *in vivo* foram encontrados no período de busca pesquisado. Geralmente os testes *in vitro* são realizados por método de co-cultura celular, onde uma monocamada de células endoteliais combinadas com outros elementos da unidade neurovascular, que incluem células gliais (astrócitos primários, linhagens astrocíticas ou de glioma C6), pericitos ou neurônios, semeada sobre um suporte de filtro poroso, separa dois compartimentos - um doador que simula o fluxo sanguíneo e um receptor que simula o SNC (Figura 3). Esse sistema melhor mimetiza a BHE, já que as células gliais liberam fatores solúveis que induzem diferenciação fenotípica de células endoteliais, porém sob condições de cultura não fisiológicas nem todos os transportadores biológicos existentes *in vivo* estão presentes, bem como não leva em consideração aspectos farmacocinéticos (biodistribuição e metabolismo) do fármaco estudado, fazendo necessário validação com dados *in vivo* (BLANCO *et al.*, 2016).

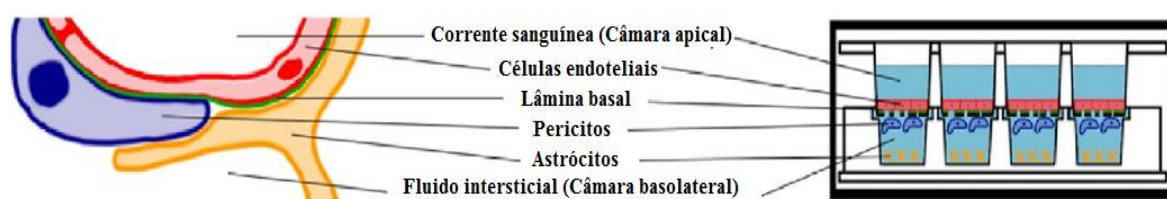


Figura 6: Representação de ensaio *in vitro* com método de co-cultura celular e paralelismo com a BHE (BLANCO *et al.*, 2016).

CONCLUSÃO

As NLS se mostram sistemas promissores para entrega de drogas ao SNC e melhora das características farmacológicas das substâncias de acordo com o que se deseja, bem como permitem aumentar o arsenal terapêutico disponível para o tratamento de GBM, já que a maioria dos estudos encontrados utilizou fármacos não aprovados para tal uso pelo FDA, sendo que apenas o estudo com MTX não mostrou resultados finais satisfatórios. A maioria dos estudos fizeram uso de modificações na superfície dos nanocarreadores por meio de conjugação com diferentes elementos, os quais demonstraram promover maior especificidade e internalização da droga por meio de interações a nível molecular com as células estudadas. Poucos estudos *in vivo* e nenhum estudo clínico foi encontrado no período de busca realizado. Estudos *in vitro* baseados em co-cultura celular, apesar de mimetizar e prever bem a permeabilidade de substâncias pela BHE não substituem os testes *in vivo* e mais estudos precisam ser realizados para validar os dados encontrados.

REFERÊNCIAS

ABBOTT N. J., PATABENDIGE A. A. K., DOLMAN D. E. M., YUSOF S. R., BEGLEY D. J., **Structure and function of the blood-brain barrier**. *Neurobiol. Dis.*, v. 37, p. 13-25. 2010.

AMERICAN BRAIN TUMOR ASSOCIATION (ABTA). **Glioblastoma and Malignant Astrocytoma**. 2017. Acesso em: 16 Abr, 2017. Disponível em: <http://www.abta.org/>. 2017.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Types of brain and spinal cord tumors in adults**. Acesso em: 20 de Fev. 2016. Disponível em: <<http://www.cancer.org/cancer/braincnstumorsinadults/detailedguide/brain-and-spinal-cord-tumors-in-adults-types-of-brain-tumors#top>>. 2016.

ANDRESEN T. L.; JENSEN S. S.; JORGENSEN K. **Advanced strategies in liposomal cancer therapy: Problems and prospects of active and tumor specific drug release**. *Prog Lipid Res*, v. 44, n.1, p. 68–97, 2005.

ASENSI, M., MEDINA, I., ORTEGA, A., CARRETERO, J., BAÑO, M.C., OBRADOR, E., ESTRELA, J.M. **Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability**. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 33, p. 387–398. 2002.

BALABANOV R, BEAUMONT T, DORE-DUFFY P. **Role of central nervous system microvascular pericytes in activation of antigen-primed splenic T-lymphocytes**. *J Neurosci Res*, v. 55, n. 5, p. 578-87. 1999.

BATTAGLIA L., GALLARATE M. **Lipid nanoparticles: state of the art, new preparation methods and challenges in drug delivery**. *Expert Opin. Drug Deliv.*, v. 9, p. 497–508. 2012.

BATTAGLIA L., GALLARATE M., PEIRA E. et al. **Solid Lipid Nanoparticles for Potential Doxorubicin Delivery in Glioblastoma Treatment: Preliminary *In Vitro* Studies**. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 103, p. 2157–2165. 2014.

BATTAGLIA L., GALLARATE M., PEIRA E. et al. **Bevacizumab loaded solid lipid nanoparticles prepared by the coacervation technique: preliminary *in vitro* studies**. *Nanotechnology*, v. 26, p. 1-11. 2015.

BATTAGLIA L., MUNTONI E., CHIRIO D. et al. **Solid lipid nanoparticles by coacervation loaded with a methotrexate prodrug: preliminary study for glioma treatment**. *Nanomedicine (Lond.)*. 2017.

BECEMUN®: carmustina. São Paulo: Biolab Sanus Farmacêutica Ltda. Farm. Resp.: Dr. Dante Alario Junior - CRF-SP nº 5143. Bula de Remédio. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/BularioEletronico/>. 2016.

BEG S. et al. **Advancement in carbon nanotubes: basics, biomedical applications and toxicity**. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 63, n. 2, p. 141–163. 2011.

BEGLEY D. J. **Delivery of therapeutic agents to the central nervous system: the problems and the possibilities.** *Pharmacol Ther*, v. 104, n. 1, p. 29-45. 2004.

BEHIN A., HOANG-XUAN K., CARPENTIER A. F., DELATTRE J. Y. **Primary brain tumours in adults.** *Lancet*, v. 361, n. 9354, p. 323-331. 2003.

BLANCO J. A., SABROSO C. M., SUAREZ A. I. T. **In vitro screening of nanomedicines through the blood brain barrier: A critical review.** *Biomaterials*, v. 103, p. 229-255. 2016.

BLASI P., GLOVAGNOLI S., SCHOUBBEN A., RICCI M., ROSSI C. **Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery.** *Adv. Drug Deliv. Rev*, v. 59, p. 454-477. 2007.

CHARNLEY N., WEST C., PRICE P. **Assessment of Drug Resistance in Anticancer Therapy by Nuclear Imaging, in Drug Resistance in Cancer Cells.** Springer, p. 295-313. 2009.

CHIRIO D., GALLARATE M., PEIRA E. et al. **Positive-charged solid lipid nanoparticles as paclitaxel drug delivery system in glioblastoma treatment.** *Eur. J. Pharm. Biopharm*, p. 1-13. 2014.

CLOUGHESY T., SELCH M.T., LIAU L: Brain. In: Haskell CM: *Cancer Treatment*. 5 ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 2001, p. 1106-42.

CRONE C., OLESEN S.P. **Electrical resistance of brain microvascular endothelium.** *Brain Res*, v. 241, n.1, p. 49-55. 1982.

FERNANDES C, SONI U, PATRAVALE V. **Nano-interventions for neurodegenerative disorders.** *Pharmacol Res*, v. 62, n. 2, p. 166-178. 2010.

GARANTI T., STASIK A., BURROW A. JULIE A, MOHAMED A., WAN KA-WAI. **Anti-Glioma Activity and the Mechanism of Cellular Uptake of Asiatic Acid-Loaded Solid Lipid Nanoparticles.** *International Journal of Pharmaceutics*. 2016.

GARCION E., LAMPRECHT A., HEURTAULT B. et al. **A new generation of anticancer, drug-loaded, colloidal vectors reverses multidrug resistance in glioma and reduces tumor progression in rats.** *Mol. Cancer Ther*, v. 5, p. 1710-1722. 2006.

GHOBRIAL I. M., WITZIG T. E., ADJEI A. **Targeting apoptosis pathways in cancer therapy.** *CA Cancer J Clin*, v. 5, p. 178-194. 2005.

GOLDBERG, D.M., YAN,J., SOLEAS, G.J. **Absorption of threewine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects.** *Clin. Biochem*, v. 36, p. 79-87. 2003.

HUSSEINI, G. A.; PITT, W. G. **Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 60, p. 1137-1152. 2008.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil, 2015.** Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>>. Acesso em: 20 de Fev. 2016.

JOSE S., ANJU S.S., CINU T.A., ALEYKUTTY N.A., THOMAS S., SOUTO E.B. **In vivo pharmacokinetics and biodistribution of resveratrol-loaded solid lipid nanoparticles for brain delivery.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 474, p. 6–13. 2014.

KLEIHUES P et al. **The WHO classification of tumors of the nervous system.** *J Neuropathol Exp Neurol*, v. 61, p. 215–225. 2002.

KOZLOVSKAYA L., STEPENSKY D. **Quantitative analysis of the brain-targeted delivery of drugs and model compounds using nano-delivery systems.** *J. Control Release*, v. 171, p. 17-23. 2013.

KUO YUNG-CHIH E CHAO IN-WEI. **Conjugation of Melanotransferrin Antibody on Solid Lipid Nanoparticles for Mediating Brain Cancer Malignancy.** *Biotechnol. Prog.*, v. 32, n. 2, p. 480-490. 2016.

KUO YUNG-CHIH E CHENG SHIH-JUE. **Brain targeted delivery of carmustine using solid lipid nanoparticles modified with tamoxifen and lectoferrin for antitumor proliferation.** *International Journal of Pharmaceutics*. 2015.

KUO YUNG-CHIH E HONG TSU-YU. **Delivering etoposide to the brain using cationic solid lipid nanoparticles with surface 5-HT-moduline.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 465, p. 132–142. 2014.

KUO YUNG-CHIH E LEE CHIA-HAO. **Inhibition Against Growth of Glioblastoma Multiforme *In Vitro* Using Etoposide-Loaded Solid Lipid Nanoparticles with *p*-Aminophenyl- β -D-Manno-Pyranoside and Folic Acid.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 104, p. 1804–1814. 2015.

KUO YUNG-CHIH E LEE CHIA-HAO. **Dual targeting of solid lipid nanoparticles grafted with 83-14 MAb and anti-EGF receptor for malignant brain tumor therapy.** *Life Sciences*, v. 146, p. 222–231. 2016.

KUO YUNG-CHIH E LEE I-HSUAN. **Delivery of doxorubicin to glioblastoma multiforme in vitro using solid lipid nanoparticles with surface aprotinin and melanotransferrin antibody for enhanced chemotherapy.** *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 61, p. 32–45. 2016a.

KUO YUNG-CHIH E WANG CHENG-CHIN. **Carmustine-loaded cationic solid lipid nanoparticles with serotonergic 1B receptor subtype antagonist for**

in vitro targeted delivery to inhibit brain cancer growth. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, v. 46, p. 1–142. 2015.

KUO YUNG-CHIH E WANG I-HSIN. **Enhanced delivery of etoposide across the blood–brain barrier to restrain brain tumor growth using melanotransferrin antibody- and tamoxifen-conjugated solid lipid nanoparticles.** Journal of Drug Targeting, p. 1-47. 2015a.

LAI F.; SINICO C.; DE LOQU A.; ZARU M. MÜLLER R. H.; FADDA A. M. **SLN as a topical delivery system for Artemisia arborescens essential oil: In vitro antiviral activity and skin permeation study.** Int J Nanomed, v.2, n.3, p. 419–425, 2007.

LAWS E. R., PARNEY I. F., HUANG W., et al.: **Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant glioma: data from the Glioma Outcomes Project.** J Neurosurg, v. 99, n.3, p. 467-473. 2003.

MANJUNATH K.; REDDY J. S.; VENKATESWARLU V. **Solid Lipid nanoparticles as drug delivery systems.** Methods Find. Exp. Clin. Pharmacology, v.27, n.2, p. 127-144, 2005.

MARIER, J.F., VACHON, P., GRITSAS, A., ZHANG, J., MOREAU, J.P., DUCHARME, M.P. **Metabolism and disposition of resveratrol in rats: extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model.** J. Pharmacol. Exp. Ther, v. 302, p. 369–373. 2002.

MASSERINI, M. **Nanoparticles for Brain Drug Delivery.** ISRN Biochemistry, v. 2013, 18 p. 2013.

MENEZES, H.C. **Preparação, caracterização e avaliação de nanoesferas poliméricas contendo o fotossensibilizadores e nano tubo de carbono ferromagnético para aplicação em Terapia Fotodinâmica e Hipertermia contra o câncer.** Ribeirão Preto, 2012. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de São Paulo.

MILLER D. S., BAUER B., HARTZ A. M. S. **Modulation of P-glycoprotein at the blood– brain barrier: opportunities to improve central nervous system pharmacotherapy.** Pharmacol. Rev, v. 60, p. 196–209. 2008.

MIRANDA A.; FIGUEIRAS A. R. R. **Aplicações da nanotecnologia em doenças do foro neurológico: vantagens e desafios.** Boletim Informativo Geum, v.5, n.4, p. 14-30, out./dez. 2014.

MOHAMED M. S., VEERANARAYANAN S., BALIYAN A. **Structurally Distinct Hybrid Polymer/Lipid Nanoconstructs Harboring a Type-I Ribotoxin as Cellular Imaging and Glioblastoma-Directed Therapeutic Vectors.** Macromol. Biosci, p. 1-16. 2014.

MORSHED, R. A.; CHENG, Y.; AUFFINGER, B.; WEGSCHEID, M. L.; LESNIAK, M. S. **The potential of polymeric micelles in the context of glioblastoma therapy.** *Frontiers in Pharmacology*, v. 4. 2013.

NEEDLE M. N., MOLLOY P. T, GEYER J. R., HERMAN-LIU A., BELASCO B. J., GOLDWEIN J. W., SUTTON L., PHILLIPS P. C. **Phase II study of daily oral etoposide in children with recurrent brain tumors and other solid tumors.** *Med. Pediatr. Oncol*, v. 29, p. 28–32. 1997.

NORIYUKI OKONOGI, TAKAHIRO OIKE, KATSUYUKI SHIRAI, TOMOAKI TAMAKI, SHIN-EI NODA, YOSHIYUKI SUZUKI AND TAKASHI NAKANO. **Current Advances in Radiotherapy for Newly Diagnosed Glioblastoma Multiforme.** *J Neurol Neurophysiol*. 2014.

OCHEKPE, N.A.; OLORUNFEMI, P.O.; NGWULUKA, N. C. **Nanotechnology and Drug Delivery Part 1: Background and Applications.** *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, Nigeria, v. 8, n. 3, p. 265-274, 2009.

OHGAKI H, KLEIHUES P. **Population-based studies on incidence, survival rates and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas.** *J Neuropathol Exp Neurol*, v. 64.p. 479–489. 2005.

OLIVEIRA L. C.; TAVEIRA E. J. F.; SOUZA L. G.; MARRETO R. N.; LIMA E. M.; TAVEIRA S. F. **Aplicações das Nanopartículas Lipídicas no Tratamento de Tumores Sólidos: Revisão de Literatura.** *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 58, n. 4, p. 695-701, 2012.

OMURO A, DE ANGELIS LM. **Glioblastoma and other malignant gliomas. A clinical review.** *JAMA*, v. 10, p. 1842–1850. 2013.

OMURO A. M., FAIVRE S., RAYMOND E. **Lessons learned in the development of targeted therapy for malignant gliomas.** *Mol Cancer Ther*, v. 6, p. 1909–1919. 2007.

OSTROM Q. T., GITTLEMAN H., LIAO P., ROUSE C., CHEN Y., DOWLING J., WOLINSKY Y., KRUCHKO C., BARNHOLTS-SLOAN. **CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007–2011.** *Neuro Oncol*, v.16, p. iv1–iv63. 2014.

PARDRIDGE W. M. **Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development.** *Mol Interv*, v. 3, n. 2, p. 90-105; 151. 2003.

PATEL M., SOUTO E. B. E SINGH K. K. **Advances in brain drug targeting and delivery: limitations and challenges of solid lipid nanoparticles.** *Expert Opin. Drug Deliv*. 2013.

PATEL M., VOGELBAUM M. A., BARNETT G. H., JALALI R. E AHLUWALIA M. S. **Molecular targeted therapy in recurrent glioblastoma:**

current challenges and future directions. Expert Opin. Investig. Drugs, v. 21, n. 9, p. 1247–1266. 2012.

PERRY A.; WESSELING P. **Histologic classification of gliomas.** Handbook of Clinical Neurology, v. 134, p. 71-92, 2016.

PIROTH M. D., et al., **Postoperative radiotherapy of glioblastoma multiforme. Strahlenther.** Onkol, v. 183, n. 12, p. 695–702. 2007.

POURGHOLI F., HAJIVALILI M., FARHAD J. N., KAFIL H. S., OUSELFI M. **Nanoparticles: Novel vehicles in treatment of Glioblastoma.** Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 77, p. 98–107. 2016.

RAHMATHULLA G., HOVEY E. J., HASHEMI-SADRAEI N., AHLUWALIA M. S. **Bevacizumab in high-grade gliomas: a review of its uses, toxicity assessment, and future treatment challenges.** Onco. Targ. Ther, v. 6, p. 371–389. 2013.

RAWAT, M.; SINGH, D.; SARAF, S.; SARAF, S. **Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs.** Biological and Pharmaceutical Bulletin, India, v. 29, n. 9, p. 1790-1798, 2006.

ROJAS H., RITTER C., PIZZOLI F. D. **Mecanismos de disfunção da barreira hematoencefálica no paciente criticamente enfermo.** Rev Bras Ter Intensiva, v. 23, n.2, p. 222-227. 2011.

RUBEL N. C. P. **Eficácia Terapêutica de Nanocápsulas de Metotrexato em glioblastoma murinho: estudos *in vivo* e *in vitro*.** São Paulo, 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

SCHIFFER D., ANNOVAZZI L., CALDERA V., MELLAI M. **On the origin and growth of gliomas.** Anticancer Res, v. 30, p. 1977–1998. 2010.

SILVA et al. **Successful Strategy for Targeting the Central Nervous System Using Magnetic Albumin Nanospheres.** Journal of Biomedical Nanotechnology, v.8, p. 182-189. 2012.

SUBEDI R. K.; KANG K. W.; CHOI H. K. **Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with doxorubicin.** Eur J Pharm Sci, v.37, n.3-4, p. 508–513, 2009.

STUPP R, MASON W. P., VAN DEN BENT M. J., et al. **Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.** N Engl J Med, v. 352, n. 10, p.987-996. 2005.

TEDESCO, A. C.; FERNANDES, A. C.; LOPES, T. C. **Aplicabilidade e regulamentação sanitária da nanomedicina em grandes distúrbios do Sistema Nervoso Central (SNC)**. Visa em debate: Sociedade, Ciência e Tecnologia. v. 1, n. 4, novembro. 2013.

TEVAETOPO®: etoposídeo. São Paulo: Teva Farmacêutica Ltda. Farm. Resp.: Mônica Riyoko Nekoziuka - CRF-SP nº: 16.970. Bula de Remédio. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/BularioEletronico/>. 2014.

THE ROYAL SOCIETY & THE ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING. **Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties**. Londres: Royal Society, 2004. 116 p.

TOSI, G.; RUOZI, B.; BELLETTI, D. **Nanomedicine: the future for advancing medicine and neuroscience**. Nanomedicine, v. 7, p. 1113-1116. 2007.

UNIVERSITY OF CAMBRIDGE. Expert reviews in molecular medicine, v. 5. 23 de mai, 2003. Acesso em: 14 de mai, 2017. Disponível em: http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_15/S1462399403006252sup001.pdf

XU S., OLENYUK B. Z., OKAMOTO C. T., HAMM-ALVAREZ S. F. **Targeting receptor-mediated endocytotic pathways with nanoparticles: rationale and advances**. Adv. Drug Deliv. Rev, v. 65, p. 121-138. 2013.

WANG, J. X.; SUN, X.; ZHANG, Z. R. **Enhanced brain targeting by synthesis of 3', 5'-dioctanoyl-5-fluoro-2'-deoxyuridine and incorporation into solid lipid nanoparticles**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 54, n. 3, p. 285-290, nov. 2002.

WISSING S. A.; KAYSER O.; MÜLLER R. H. **Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery**. Adv Drug Deliv Rev, v.56, n.9, p. 1257-1272, 2004.