

Frederico Coelho Marques da Silva

Nanossistemas lipídicos para a administração de fármacos do nariz para o cérebro no
tratamento de tumores cerebrais

Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2020/2021

Frederico Coelho Marques da Silva

Nanossistemas lipídicos para a administração de fármacos do nariz para o cérebro no
tratamento de tumores cerebrais

Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2020/2021

Frederico Coelho Marques da Silva

Nanossistemas lipídicos para a administração de fármacos do nariz para o cérebro no
tratamento de tumores cerebrais

Assinatura

Frederico Coelho Marques da Silva

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Resumo

Os tumores cerebrais afetam grande parte da população e, geralmente, apresentam um mau prognóstico, dependendo da gravidade da condição. As opções de tratamento são limitadas, devido à dificuldade de acesso dos fármacos ao cérebro, visto que existem várias barreiras físicas e fisiológicas, sendo a principal a barreira hematoencefálica (BHE).

Apesar de todos os meios atualmente disponíveis para o tratamento de tumores cerebrais, a qualidade de vida dos doentes é limitada, devido aos efeitos secundários graves, daí que haja necessidade de desenvolver novas formulações que permitam direcionar os fármacos para o cérebro. Neste contexto, surgem os nanossistemas lipídicos para promover o transporte dos fármacos e é explorada a via de administração intranasal como estratégia alternativa de transporte dos fármacos diretamente do nariz para o cérebro, evitando a necessidade de atravessar a BHE. Vários nanossistemas lipídicos intranasais têm sido estudados para o tratamento de gliomas e encontram-se em desenvolvimento pré-clínico, tendo vindo a apresentar resultados promissores, o que aumenta a expectativa em relação ao seu potencial uso clínico.

Abstract

Brain tumors affect a large part of population and generally have a poor prognosis, depending on the severity of the condition. Treatment options are limited due to the difficulty of drugs accessing the brain, as there are several physical and physiological barriers, mainly the blood-brain barrier (BBB).

Even with all the currently available means for treating brain tumors, the quality of life of patients is limited due to the serious side effects, hence the need to develop new formulations that allow drugs to target the brain. In this context lipid nanosystems emerge as a possibility for drug administration and nose-to-brain delivery is explored as an alternative for direct drug administration from the nose to the brain avoiding the need to cross the BBB. Several lipid nanosystems for intranasal administration have been studied for glioma treatment and are in pre-clinical development, although they have been showing promising results, which raises expectations regarding their potential clinical use.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à minha professora orientadora por toda a dedicação e tempo dedicado na ajuda à conclusão deste trabalho assim como a todas as pessoas que percorreram este percurso académico comigo e foram o meu apoio em todos os momentos do percurso académico.

Índice

RESUMO.....	I
ABSTRACT	II
AGRADECIMENTOS	III
ÍNDICE DE IMAGENS	VI
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	VI
1) INTRODUÇÃO	1
2. TIPOS DE TUMORES CEREBRAIS	2
2.1) <i>Meningioma</i>	3
2.2) <i>Adenoma pituitário</i>	4
2.3) <i>Astrocitoma</i>	6
2.4) <i>Oligodendroglioma</i>	6
2.5) <i>Ependimoma</i>	7
2.6) <i>Glioblastoma multiforme</i>	7
3) ANATOMOFISIOLOGIA DA CAVIDADE NASAL	10
3.1) MECANISMOS DE TRANSPORTE DE FÁRMACOS DO NARIZ PARA O CÉREBRO.....	13
3.2) ADMINISTRAÇÃO NASAL DE FÁRMACOS	17
4) NANOSSISTEMAS LIPÍDICOS	20
4.1) LIPOSSOMAS	21
4.2) NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS.....	22
4.3) NANOEMULSÕES	23
4.4) MICROEMULSÕES.....	24
5) TRATAMENTO CONVENCIONAL DE TUMORES CEREBRAIS <i>VERSUS</i> TRATAMENTO COM NANOSSISTEMAS	26
6) EXEMPLOS DA UTILIZAÇÃO DE NANOSSISTEMAS LIPÍDICOS NO TRANSPORTE DE FÁRMACOS DO NARIZ PARA O CÉREBRO	30
6.1) <i>Ecto-5'-nucleotidase (CD73)</i>	31
6.2) <i>Teriflunomida</i>	31
6.3) <i>Kaempferol</i>	33
6.4) <i>Temozolomida</i>	34
6.5) <i>Curcumina</i>	34

6.6) <i>miRNA</i>	35
6.7) <i>Doxorrubicina</i>	36
7) CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

Índice de imagens

Figura 1- Representação esquemática da anatomia da cavidade nasal.....	10
Figura 2- Representação esquemática da localização dos diferentes epitélios e nervos da cavidade nasal.....	12
Figura 3- Representação esquemática dos mecanismos de transporte de fármacos do nariz para o cérebro.....	14

Índice de abreviaturas

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARN – Ácido Ribonucleico

BHE – Barreira hematoencefálica

NLC – Vetores lipídicos nanoestruturados (do inglês *Nanostructured lipid carriers*)

OMS – Organização Mundial da Saúde

SNC – Sistema nervoso central

SLN – Nanopartículas de lípidos sólidos (do inglês *Solid lipid nanoparticles*)

1) Introdução

O fator que me motivou a escrever sobre este tema foi o interesse pelo cérebro que continua a ser um mistério no que toca a possíveis terapias para tratamento de doenças cerebrais e a criatividade e ingenuidade em utilizar a via nasal para ultrapassar os fatores que limitam a terapia do cérebro

A via intranasal constitui uma alternativa promissora para o tratamento de doenças do sistema nervoso central (SNC), tendo em conta as vantagens que apresenta, designadamente a possibilidade de direcionar os fármacos do nariz diretamente para o cérebro (*nose-to-brain delivery*), evitando a necessidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) e aumentando a rapidez da ação terapêutica. Neste contexto, os nanossistemas lipídicos apresentam-se como veículos promissores para o transporte de fármacos usados no tratamento de doenças que afetam o SNC, como os tumores cerebrais. Na primeira parte deste trabalho de revisão bibliográfica é feita uma contextualização do tema e dos conceitos base mais importantes, relacionados com os tumores cerebrais, de modo a facilitar a compreensão dos capítulos seguintes. São ainda focados os aspetos mais relevantes da anatomia e fisiologia da via nasal. Na segunda parte, são apresentadas as características gerais de diferentes tipos de nanossistemas lipídicos, e, de seguida, são indicados exemplos de estudos que visam a sua aplicação no tratamento de tumores cerebrais. Por fim, é apresentada uma perspetiva futura da administração nasal de fármacos veiculados em nanossistemas lipídicos para o tratamento de tumores cerebrais.

Efetuiu-se como metodologia a pesquisa bibliográfica baseada em artigos científicos, livros e outros trabalhos publicados num intervalo temporal entre 2014 até 2021, usando as palavras-chave: “glioma”, “nose-to-brain delivery”, “liposomes”, “nanoemulsion”, “microemulsion”, “lipid nanosystems”, “brain tumors”, “nasal administration”, “lipid nanoparticles e “SLN and NLC formulations”.

Os principais motores de busca utilizados foram a Pubmed e o Science Direct. Estas bases de dados foram escolhidas por reunirem boas condições de pesquisa e possuírem publicações científicas recentes e credíveis. Na seleção, foram usados critérios como o interesse e importância para o tema do trabalho, limitando o idioma da pesquisa apenas aos conteúdos escritos em português e inglês.

2. Tipos de tumores cerebrais

Os tumores cerebrais podem ser divididos em dois grandes grupos: tumores cerebrais primários, que têm origem no tecido cerebral, e os tumores cerebrais secundários, que resultam da metastização de células cancerígenas de outras regiões do organismo. Os tumores cerebrais primários são, por sua vez, classificados em gliomas, linfomas do SNC (ambos têm origem no parênquima cerebral), meningiomas e adenomas pituitários (que são tumores extra parenquimatosos) (Tapeinos *et al.*, 2017).

Os gliomas podem ter origem nas células estaminais neuronais, células progenitoras ou células neuronais diferenciadas e adultas, que se transformam em células cancerígenas, constituindo o tipo de tumor cerebral primário mais prevalente. Histologicamente, os gliomas partilham características das células da glia normais e são normalmente classificados conforme essas semelhanças. A Organização Mundial da saúde (OMS) classifica este tipo de tumores de grau I a grau IV, dependendo da sua gravidade. Os graus I e II são menos graves e classificados como gliomas de baixo grau, enquanto os gliomas de graus III e IV são os mais graves e classificados como gliomas de elevado grau (Chen *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020). Os gliomas de graus III e IV são o tipo de tumor cerebral intrínseco mais comum em adultos, e representam mais de 50% dos casos de todos os tumores cerebrais intrínsecos. Histopatologicamente, os gliomas podem ser classificados de acordo com a sua origem em: astrocitomas, oligodendrogliomas e ependimomas, que constituem um grande espectro de tumores de diferentes tipos, de difícil tratamento e de mau prognóstico. Entre os tumores primários mais comuns temos os astrocitomas de grau III e o glioblastoma de grau IV, em adultos, e o meduloblastoma, em crianças (van Woensel *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2018).

O glioma constitui um tipo de tumor do SNC para o qual são usados três tipos distintos de tratamentos convencionais: remoção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia (Li *et al.*, 2020).

A forma mais maligna de glioma é o glioblastoma, que apresenta uma média de vida de 15 meses, após o diagnóstico, sendo responsável por causar 3-4% de todas as mortes relacionadas com cancro (Carlsson *et al.*, 2014; Lah *et al.*, 2020).

Por vezes, também surgem tumores cerebrais provenientes de metástases do cancro do pulmão, do cancro da mama ou de outros tipos de cancro, ou até metástases de tumores cerebrais primários, embora a abordagem ao tratamento seja diferente, sendo estes considerados tumores secundários (Lah *et al.*, 2020).

2.1) Meningioma

O meningioma é conhecido como sendo o tumor cerebral primário não glial mais comum. A maioria dos meningiomas são benignos, sendo estes também classificados segundo a OMS consoante o seu grau, em: grau I, meningioma típico, grau II, meningioma atípico, ou grau III, meningioma anaplásico (Rogers *et al.*, 2015).

Tal como qualquer outro tumor do SNC, o surgimento de meningiomas depende da sua localização, que pode ser a partir de qualquer superfície intracraniana ou da dura-máter. Os meningiomas não são tipicamente de tumores de rápido crescimento ou infiltrativos. Muitos são descobertos acidentalmente, ao fazer uma imagiologia do cérebro (Buerki *et al.*, 2018).

Os meningiomas ocorrem com maior frequência em doentes que sofrem de doenças genéticas como, por exemplo, a neurofibromatose do tipo 2 ou neoplasia endócrina múltipla do tipo 1. No entanto, não existem provas que os meningiomas associados a estas condições genéticas sejam mais agressivos que os meningiomas sem aparente causa (Rogers *et al.*, 2015; Buerki *et al.*, 2018).

2.2) Adenoma pituitário

Os adenomas pituitários são um tumor cerebral primário não glial, que surge na zona da glândula pituitária. Enquanto uma porção de adenomas pituitários não secretam hormonas (não funcionais), cerca de metade destes tumores secretam hormonas (funcionais). As hormonas libertadas incluem frequentemente: a prolactina, a hormona do crescimento ou a hormona adrenocorticotrópica. Outros casos raros de adenomas pituitários são os que libertam a hormona estimulante da tiroide e que secretam gonadotrofina. Apesar dos adenomas pituitários que secretam hormonas serem benignos, estes representam uma morbidade elevada, devido ao efeito direto da massa tumoral na glândula pituitária/estruturas neuro vasculares e/ou hipersecreção hormonal. As técnicas de tratamento são específicas de cada subtipo de adenoma e podem incluir ressecção cirúrgica, terapia médica e/ou radioterapia. Existem três objetivos principais no tratamento de adenomas pituitários: reduzir a hipersecreção hormonal e as suas manifestações clínicas, reduzir o tamanho do tumor e melhorar os sintomas, e corrigir deficiências hormonais (Mehta e Lonser, 2017).

O adenoma pituitário que liberta prolactina (prolactinoma) é o mais comum. Os prolactinomas ocorrem mais frequentemente em mulheres. De acordo com o sexo do doente, os sintomas mais comuns de prolactinoma são: amenorreia, galactorreia, dores de cabeça, infertilidade, ejaculação precoce, disfunção erétil e/ou hipogonadismo. Porém muitos destes tumores podem ser assintomáticos e, por isso, são descobertos acidentalmente, este tipo de tumor tende a ser diagnosticado em homens quando já têm um tamanho significativo e origina dificuldades de visão (Mehta e Lonser, 2017).

Os adenomas que libertam hormona do crescimento ocorrem com maior frequência em homens. Os adenomas pituitários libertadores de hormona do crescimento causam gigantismo, se ocorrerem antes do fecho das placas de crescimento epifisário ou acromegalia, se ocorrerem depois do fecho das referidas placas. A hipersecreção de hormona do crescimento desencadeia diferentes alterações, tais como: desenvolvimento de características faciais grosseiras, transpiração intensa, síndrome do túnel cárpico, dores de cabeça, osteoartrite, resistência à insulina, doença cardiovascular e morte prematura. Os sintomas podem ser insidiosos, o que leva a um frequente atraso no diagnóstico, o que faz com que os adenomas normalmente já sejam grandes quando descobertos (Mehta e Lonser, 2017).

Os adenomas pituitários que secretam hormona adrenocorticotrópica provocam muitas vezes a chamada de doença de Cushing, que é caracterizada por: ganho de peso, diabetes, hipertensão, mudanças do foro psiquiátrico e neurocognitivo, diminuição da libido e osteoporose. A secreção de hormona adrenocorticotrópica na doença de Cushing causa um aumento da excreção de cortisol por parte das glândulas adrenais. O elevado nível de cortisol em circulação tem efeitos clínicos proeminentes, o que permite a deteção e diagnóstico quando os adenomas ainda são pequenos. A doença de Cushing, se não for tratada eficazmente, resulta em morbilidade associada a problemas cardíacos, cerebrovasculares, imunossupressivos, osteoporose, perturbações psiquiátricas e diabetes (Mehta e Lonser, 2017).

Os tumores que libertam gonadotrofina são raros. As mulheres na pré-menopausa com este tipo de tumor tipicamente apresentam: amenorreia, infertilidade ou galactorreia, enquanto os homens apresentam: aumento do tamanho testicular ou hipogonadismo. O diagnóstico é feito de acordo com a análise das características clínicas referidas e por ressonância magnética. Além disso, tem sido associadas várias descobertas bioquímicas que podem associar também associar o hiperestrogenismo, nas mulheres pré-menopausa, e uma elevada quantidade de hormona folículo estimulante, no soro em homens (Mehta e Lonser, 2017).

Os adenomas que libertam hormona estimulante da tiroide são também raros. Os sintomas que os doentes apresentam quando têm este tipo de tumor são os sintomas que surgem em casos de hipertiroidismo. Este tipo de adenoma pode ser particularmente fibroso, grande e invasivo, quando ocorre o seu diagnóstico, visto que a sua sintomatologia clínica pode ser semelhante à do hipertiroidismo, levando a uma dificuldade de diagnóstico (Mehta e Lonser, 2017).

Os pacientes com adenomas pituitários (funcionais e não funcionais) podem apresentar-se com sintomas clínicos súbitos, devido a hemorragias ou enfarte do tumor, que é conhecido como apoplexia pituitária, podendo resultar em: dor de cabeça repentina, hipopituitarismo, perturbações visuais entre outras anomalias do foro neurológico (Mehta e Lonser, 2017).

2.3) Astrocitoma

Os astrocitomas são uma forma de glioma que tem a sua origem nos astrócitos que vão de gliomas de grau I a grau III. Os astrocitomas de grau I, denominados de astrocitomas pilocíticos, são maioritariamente benignos e tratáveis. Os astrocitomas de grau II são considerados astrocitomas difusos e crescem lentamente, mas adquirem uma natureza mais agressiva ao longo do tempo. Por fim, temos os astrocitomas de grau III (astrocitomas anaplásicos) (Chen *et al.*, 2017; Hirtz e Rech, 2020). Estes astrocitomas têm muito mau prognóstico e representam uma forma de tumor cerebral maligna, em que o tratamento convencional apenas apresenta uma ligeira melhoria nas hipóteses de sobrevivência do doente (Hirtz e Rech, 2020).

2.4) Oligodendroglioma

Os oligodendrogliomas são uma forma de glioma que têm a sua origem nos oligodendrócitos e que vão de gliomas de grau I a grau III. Os tumores oligodendrogliais tem origem mais comum no lóbulo frontal (Wesseling *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2017).

O oligodendroglioma de grau II é um tumor agressivo, o tratamento convencional atual desta forma de tumor permite obter uma esperança média de vida de 12 a 14 anos. Em alguns casos de oligodendroglioma anaplásico de grau III também é possível ver ótimos resultados da terapia convencional. Todavia, mais tarde ou mais cedo, este tipo de tumor progride para uma forma mais agressiva e maligna de glioma. Além disso, o facto de estes tumores surgirem em idades relativamente jovens não ajuda a dar uma boa qualidade de vida ao doente (Wesseling *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2017).

2.5) Ependimoma

Os ependimomas são uma forma de glioma relativamente rara que têm a sua origem nas células ependimárias e que vão de gliomas de grau I a grau III. Geralmente, estes tumores cerebrais afetam mais homens que mulheres. Os subependimomas são classificados como grau I e estão associados a bons resultados clínicos. Enquanto os ependimomas anaplásicos, que têm uma elevada atividade mitótica, proliferação microvascular e necrose tumoral, originam mais complicações no tratamento, sendo usadas terapias mais agressivas. Os ependimomas podem ser encontrados em todo o SNC (espinal medula, zona supratentorial ou zona infratentorial). Os ependimomas que surgem na zona infratentorial normalmente surgem nos ventrículos, enquanto os ependimomas que surgem na zona supratentorial surgem no cérebro e são caracterizados por lesões bem circunscritas de aparência heterogénea (Pajtler *et al.*, 2017; Rudà *et al.*, 2018).

2.6) Glioblastoma multiforme

O glioblastoma multiforme é o tipo de tumor cerebral mais comum e maligno em adultos. Depois do diagnóstico, a esperança média de vida é de 12-15 meses, mesmo com uma abordagem de tratamento agressiva (Jnaidi *et al.*, 2020). Em idosos, o glioblastoma desenvolve-se sem registo prévio de outros tumores, sendo designado glioblastoma primário. Por outro lado, o glioblastoma que se desenvolve a partir de outros gliomas de menor grau é designado por glioblastoma secundário (Lah *et al.*, 2020).

A OMS define o glioblastoma multiforme como um tumor de grau IV, mitoticamente ativo e predisposto a necrose. Este tipo de tumor apresenta um prognóstico desfavorável para o doente, tendo em conta as limitações relacionadas com a idade avançada e a área cerebral onde surge. Embora este tipo de tumores apresente semelhanças ou fenótipos sobrepostos, as diferenças na progressão tumoral e nos mecanismos moleculares requerem mais que um perfil histológico para a sua caracterização. Este facto demonstra ser desvantajoso, porque para se fazer uma caracterização mais extensa é necessária uma biópsia, o que, devido à fragilidade do tecido cerebral e localização, não é fácil de obter (Carlsson *et al.*, 2014). Existem vários subtipos de glioblastoma multiforme primário que foram identificados com base na histologia das células, tais como: gliossarcoma, glioblastoma multiforme de células gigantes e glioblastoma multiforme epitelióide (Chen *et al.*, 2017).

Clinicamente, todos os glioblastomas são semelhantes, sendo caracterizados por uma abundante necrose, pleomorfismo e vascularização. A elevada resistência do glioblastoma à radioterapia e à quimioterapia, aliada ao facto da remoção cirúrgica ser incompleta, devida às complicações e ao carácter invasivo deste tumor, leva a que ocorra uma reincidência rápida. As células do glioblastoma migram para outras partes do cérebro ao longo dos terminais nervosos, meninges e vasos sanguíneos. No entanto, apesar da sua agressividade local, as células tumorais raramente abandonam o SNC. Nesse sentido, devido à sua rápida progressão e aos danos provocados nos centros nervosos, os doentes morrem antes que se consigam detetar metástases sistémicas. Por esse motivo, a incidência estimada de metástases extracranianas de glioblastoma é de 0,5% para todos os doentes (Lah *et al.*, 2020).

O diagnóstico do glioblastoma resulta de um exercício multidisciplinar de avaliação de sintomas clínicos, que podem ser ataques epiléticos, dores de cabeça ou défices neurológicos associados ao local onde está o tumor, ou disfunção cognitiva. Em caso de suspeita de tumor, é imprescindível a realização de uma ressonância magnética, com ou sem contraste, para obter uma avaliação exata da área ocupada pelo tumor (van Woensel *et al.*, 2013).

Um denominador comum da progressão do glioblastoma multiforme é a amplificação do recetor do fator de crescimento epidérmico. A proteína p53, um conhecido supressor tumoral responsável pela apoptose e reparação do ácido desoxirribonucleico (ADN) é também um fator determinante no desenvolvimento e aparecimento de glioblastomas de grau IV. Existe ainda a possibilidade de ocorrer uma mutação no gene que codifica a expressão da isocitrato desidrogenase 1 (IDH1), o que também leva ao aparecimento de glioblastoma de grau IV, porém este tipo de mutação apenas ocorre em 5% dos casos de tumores primários (Carlsson *et al.*, 2014).

O glioblastoma demonstra uma elevada taxa de reincidência, mesmo depois de tratamento que combina cirurgia com quimioterapia. A dificuldade de intervenção cirúrgica deve-se ao facto da localização deste tumor ocorrer em áreas cerebrais funcionais importantes, que incluem o controlo da fala, da função motora ou dos sentidos, e ainda à sua natureza altamente invasiva. Também a dificultar o tratamento temos a BHE que limita a passagem de moléculas para o SNC, incluindo muitos fármacos anticancerígenos, daí que tenham que ser administradas elevadas doses de fármaco para obter a dose terapêutica necessária no cérebro. Para ultrapassar esta dificuldade, várias estratégias terapêuticas foram propostas para facilitar a chegada dos fármacos ao cérebro. No entanto, este continua a ser um desafio da ciência (Bruinsmann *et al.*, 2019).

3) Anatomofisiologia da cavidade nasal

O nariz é responsável pelas funções da respiração e do olfato. A região olfativa da cavidade nasal humana, onde se encontram as terminações nervosas do nervo trigêmeo e dos nervos olfativos, ocupa 1.25-10% da área da superfície total da cavidade. Graças à ligação direta dos nervos olfativo e trigêmeo ao cérebro, que permite a conexão direta entre o epitélio olfativo e o SNC, é possível efetuar uma terapia direcionada, através da administração de formulações na mucosa nasal (Bonferoni *et al.*, 2019).

A absorção de fármacos pelas vias do nervo olfativo ou trigêmeo resulta numa farmacocinética/farmacodinâmica favorável para que estes atuem no SNC. Para entender esta dinâmica, é necessário olhar para a anatomofisiologia da cavidade nasal (Erdő *et al.*, 2018).

A cavidade nasal (Figura 1) é composta por dois compartimentos simétricos independentes, divididos por um septo nasal que está no plano sagital-mediano da face. Estas cavidades estão cobertas por uma camada de mucosa e podem ser ainda divididas em três regiões: o vestíbulo, a região respiratória e a região olfatória (Chen *et al.*, 2018; Erdő *et al.*, 2018).

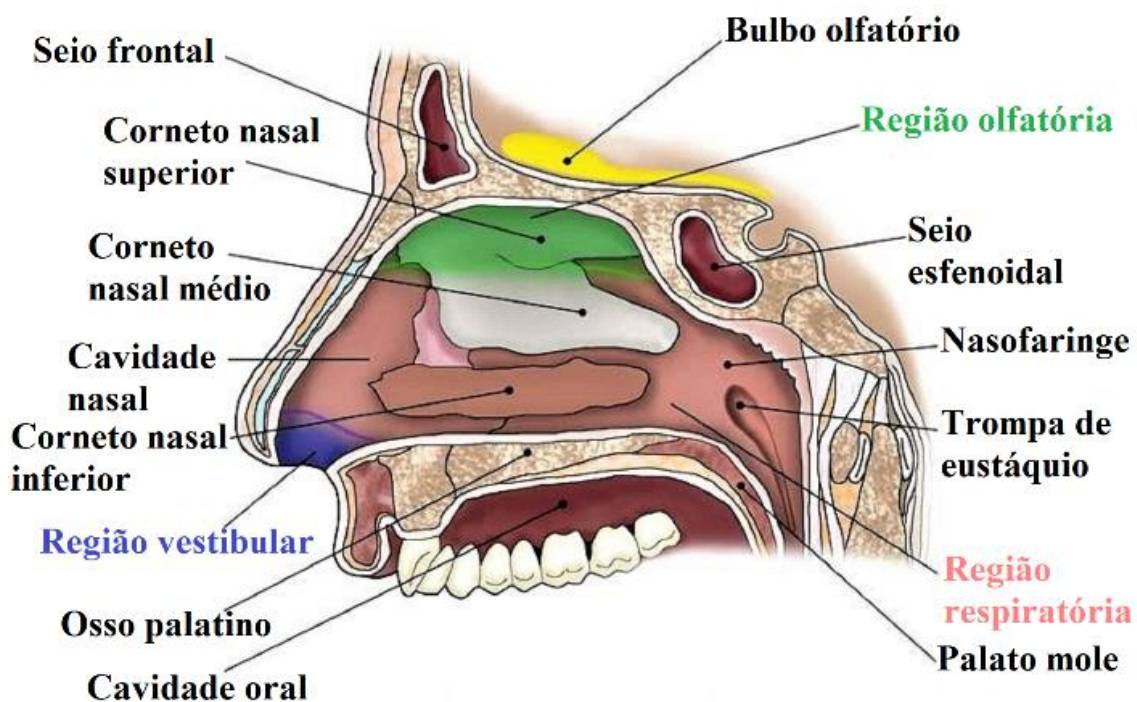


Figura 1- Representação esquemática da anatomia da cavidade nasal.

A primeira região é a vestibular, que está localizada na zona mais anterior da cavidade nasal, logo após a abertura das narinas, apresenta uma área de superfície de cerca de 0.6 cm² e contém os cílios nasais que servem de filtro para partículas inaladas. O tipo principal de células desta região são as células epiteliais escamosas, existindo algumas células ciliadas. Devido à pequena área de superfície, a absorção de fármacos nesta zona é mínima (Erdő *et al.*, 2018).

A região respiratória cobre as paredes laterais da cavidade nasal, que se divide em cornetos inferiores, médios e superiores. Esta é a região com a maior área, de cerca de 130 cm², que corresponde a 80-90% da área total da cavidade nasal humana, sendo também a região mais vascularizada. Na região respiratória existem cinco tipos principais de células: caliciformes, ciliadas, não ciliadas, colunares e basais. As células caliciformes, juntamente com algumas glândulas nasais, secretam mucina para criar a camada mucosa, podendo haver maior ou menor produção, dependendo do ambiente envolvente, como temperatura e humidade, e consoante o ciclo circadiano. As células basais são células chave que, quando necessário, são capazes de crescer e de se diferenciar em todos os outros tipos de células da cavidade nasal. As células ciliadas e colunares contém numerosas microvilosidades, o que aumenta ainda mais a sua área de superfície. Esta grande área de superfície e a enorme vascularização fazem com que este seja um bom local para a absorção de fármacos ao nível sistémico, mas não tão eficaz para o SNC. Além disso, a região respiratória é parcialmente inervada pelo nervo trigémeo, que inerva o epitélio respiratório e olfativo e atinge o SNC, sendo responsável pela transmissão das informações sensoriais da cavidade nasal, da cavidade oral, da córnea e das pálpebras para o SNC, através da divisão oftálmica, da divisão maxilar ou da divisão mandibular (Erdő *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

A última região da cavidade nasal é a região olfativa que nos humanos representa cerca de 10% da área total da superfície da cavidade nasal. Esta região está localizada na parte superior da fossa nasal, abaixo da lâmina crivosa ou cribriforme do osso etmoide e é inervada pelo nervo olfativo. As células olfatórias são neurónios bipolares não mielinizados, que apresentam dendrites que se projetam acima da superfície da mucosa nasal, espaçados entre as células de suporte e um axónio, que se estende através do tecido conjuntivo em direção ao bulbo olfatório localizado no SNC. (Erdő *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

A Figura 2 ilustra a localização dos diferentes epitélios e nervos presentes na cavidade nasal.

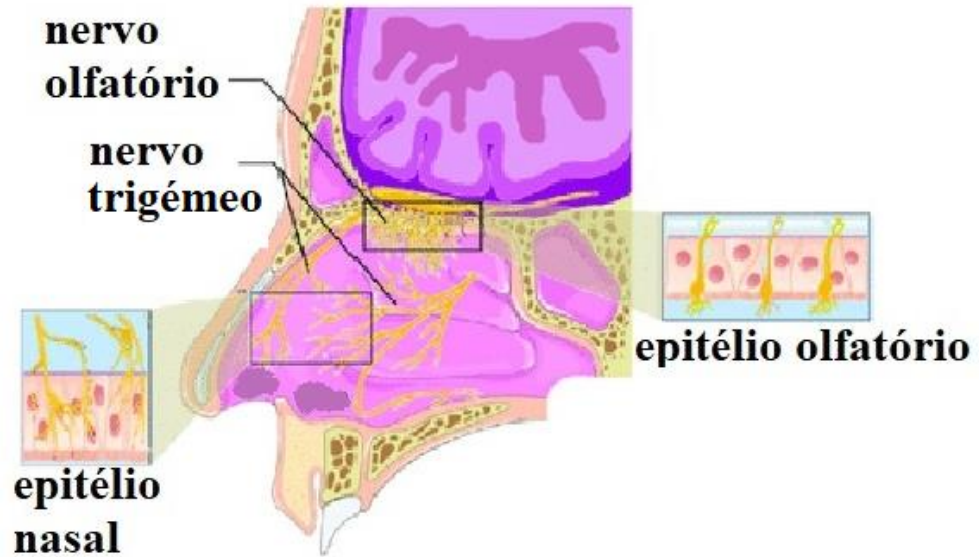


Figura 2- Representação esquemática da localização dos diferentes epitélios e nervos da cavidade nasal.

3.1) Mecanismos de transporte de fármacos do nariz para o cérebro

A microvasculatura do SNC é designada por barreira hematoencefálica (BHE), porque isola o cérebro do resto do corpo. Esta barreira impede a passagem de aproximadamente 98% das moléculas (Chen *et al.*, 2018; Bonferoni *et al.*, 2019).

A BHE protege o SNC através da sua permeabilidade altamente seletiva a substâncias presentes no sangue para poder preservar a homeostasia do cérebro e assegurar um funcionamento neuronal correto. A BHE assegura seletivamente o fornecimento de nutrientes essenciais e oxigénio ao SNC, enquanto previne a passagem de macromoléculas, toxinas e agentes infecciosos, promovendo assim a homeostasia do cérebro. Juntamente com estas funções de defesa, a BHE também previne a passagem de fármacos do sangue para o cérebro, sendo apenas permeável a moléculas pequenas e lipofílicas, com um peso molecular inferior a 400-500 Da (Bruinsmann *et al.*, 2019).

Com efeito, a BHE constitui a principal barreira de entrada dos fármacos no SNC, o que dificulta o tratamento de tumores cerebrais e outras doenças do SNC. É composta por células endoteliais conectadas por junções apertadas, neurónios e células da glia, como astrócitos, microglia, periócitos e macrófagos perivascularares, que também suportam e ajudam a manter a rigidez. Outros dos componentes estruturais que constituem a barreira física da BHE incluem várias enzimas que metabolizam fármacos que formam uma barreira enzimática, como, por exemplo, a γ -glutamyl transpeptidase, a fosfatase alcalina e a descarboxilase de ácidos aromáticos. Também proteínas transportadoras de adenosina trifosfato (ATP), bombas de efluxo e proteínas relacionadas com a resistência a fármacos, são expressas na BHE e contribuem para a resistência à passagem dos fármacos. Por outro lado, os transportadores de glucose, transportadores de aminoácidos, recetores de insulina e recetores de transferrina ajudam no transporte de fármacos para o cérebro (Jnaidi *et al.*, 2020). Os mecanismos exatos de transporte de moléculas da cavidade nasal para o cérebro ainda não são totalmente compreendidos. No entanto, a via de administração intranasal evita a necessidade dos fármacos atravessarem a BHE e aparenta ser uma via alternativa e promissora para a administração de fármacos no SNC (van Woensel *et al.*, 2013; Bruinsmann *et al.*, 2019).

As formulações nasais com o objetivo terapêutico de chegar ao cérebro são direcionadas para a zona posterior da cavidade nasal onde atingem as regiões respiratória e olfativa. Aqui, o transporte dos fármacos para o cérebro pode ocorrer através de diferentes mecanismos que envolvem os nervos olfativos e os nervos trigêmeos, o sistema linfático, o líquido cefalorraquidiano e os vasos sanguíneos (Figura 3). Este transporte pode ocorrer através de uma única via ou através de uma combinação de vias, dependendo da natureza das moléculas de fármaco, das características da formulação e das condições fisiológicas da cavidade nasal (Chen *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

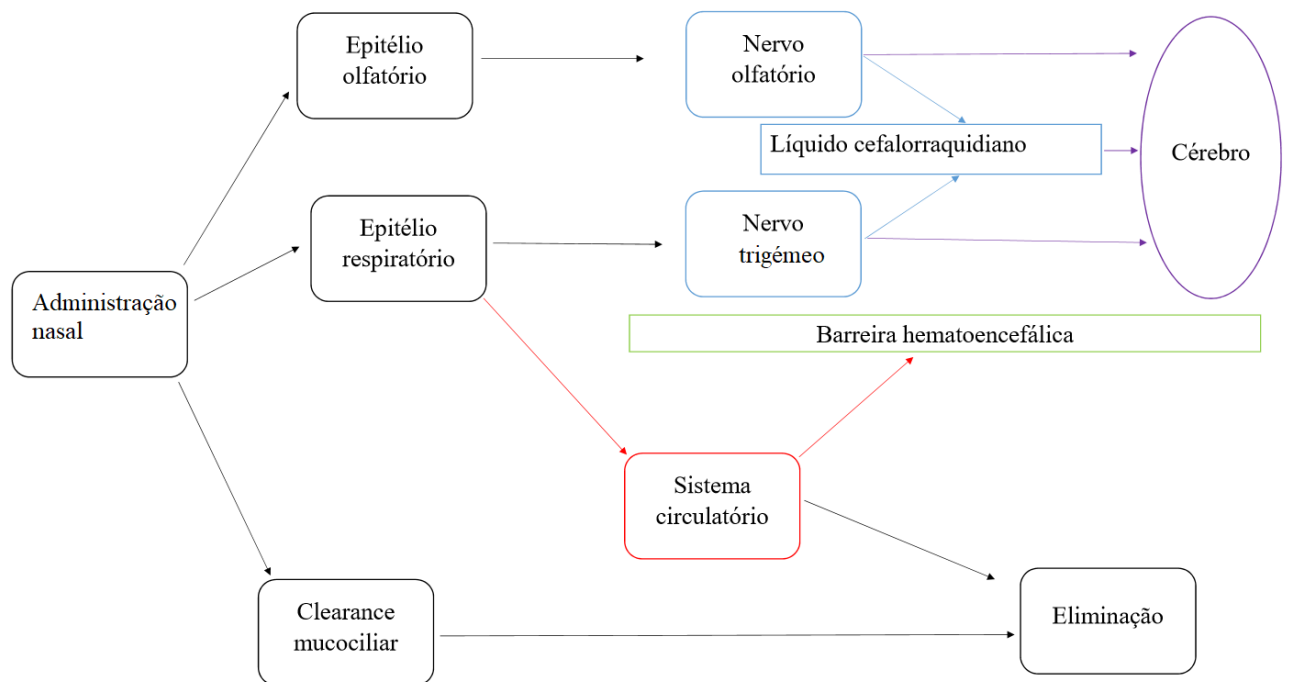


Figura 3- Representação esquemática dos mecanismos de transporte de fármacos do nariz para o cérebro.

O transporte dos fármacos depositados na cavidade nasal pode ocorrer por via direta ou indireta. A via direta envolve o nervo trigêmeo e nervo olfatório que possuem mecanismos de transporte diretos para o cérebro. A via indireta envolve o epitélio respiratório e a passagem do fármaco para a corrente sanguínea (Chen *et al.*, 2018; Jnaidi *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2021).

Quando os fármacos são absorvidos da cavidade nasal para a corrente sanguínea, têm de atravessar a BHE para atingir o cérebro. Uma vez que esta barreira não apresenta canais paracelulares ou transcelulares, os fármacos podem chegar ao cérebro por difusão transmembranar passiva e por transporte mediado por transportadores ou por transporte mediado por recetores. Poucas são as moléculas que conseguem atravessar a BHE por difusão passiva, visto que o seu peso molecular deve ser inferior a 400 Da e têm de ter uma boa solubilidade lipídica. Na passagem mediada por transportadores, as moléculas de fármaco têm de ser reconhecidas pelo sistema de transporte de influxo, ao mesmo tempo que não devem ser reconhecidas por um substrato para transportadores de efluxo, o que faz com que tenham uma elevada permeabilidade através da BHE. Em relação ao transporte mediado por recetores, as grandes moléculas, como péptidos e proteínas, podem atravessar a barreira acopladas a recetores que medeiam a transcitose (Jnaidi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020).

Outra estratégia de transporte de moléculas de fármaco através da BHE é através da transcitose mediada por adsorção, que utiliza a carga negativa de superfície do lúmen das células endoteliais para a captação de moléculas carregadas positivamente, que passam da corrente sanguínea para o cérebro (Bonferoni *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

A via do nervo olfativo tira partido do posicionamento único do recetor olfativo, que está localizado na mucosa olfativa, visto que é uma via de ligação direta entre o SNC e o ambiente exterior. A permeação de compostos para o SNC ocorre ao longo ou no interior dos neurónios presentes no epitélio olfativo. No caso de haver internalização do composto, este passa para ao bulbo olfativo e, de seguida, é distribuído para o resto do cérebro. Este tipo de transporte pode ser bastante demorado, podendo durar entre horas a dias. (Bruinsmann *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

A via utilizada pelo nervo trigêmeo para transporte de fármacos para o cérebro não é inteiramente conhecida, embora se saiba que esta via também tem a capacidade de transportar os fármacos diretamente para o cérebro, via paracelular ou extracelular (Jnaidi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020).

A partir do líquido cefalorraquidiano, os fármacos são distribuídos para o cérebro, depois de serem misturados com o fluido intersticial. São também rapidamente distribuídos pelo SNC através de transporte perivascular (Bruinsmann *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

3.2) Administração nasal de fármacos

As medidas para ultrapassar as barreiras fisiológicas e limitações de acesso ao SNC incluem a exploração de formas que são adequadas à administração direta do fármaco para o cérebro. Isto é possível por administração através das vias intraventricular, intratecal ou nasal (Bruinsmann *et al.*, 2019).

A via nasal tem vindo a despertar o interesse dos investigadores, uma vez que esta vai permite o transporte direto de fármacos para o cérebro. Além disso, a via nasal constitui uma via alternativa de entrada na circulação sistémica dos fármacos que apresentam baixa biodisponibilidade oral, baixa absorção e um início de ação lento (van Woensel *et al.*, 2013; Erdő *et al.*, 2018; Ul Islam *et al.*, 2020).

A via nasal permite que os fármacos atinjam o cérebro rapidamente, em comparação com a via intravenosa. Doentes que sofrem de distúrbios neurológicos requerem administrações crónicas de medicação, o que origina efeitos secundários indesejáveis. É considerado que a maioria dos fármacos para tratamento deste tipo de doenças perdem muito do seu potencial devido à BHE, resultando em opções de tratamento limitadas para doentes com doenças neurodegenerativas e tumores cerebrais. Nesta perspetiva, existe uma necessidade elevada de conseguir o direcionamento dos fármacos para o cérebro em casos de terapia crónica (Bruinsmann *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

Como forma de contornar a BHE, a via de administração nasal aumenta assim a possibilidade das macromoléculas hidrófilas, tais como proteínas, células, ácidos nucleicos e outros compostos, atingirem rapidamente o cérebro após a administração. As vantagens do transporte de substâncias via nariz-cérebro incluem: evasão à circulação sistémica, reduzindo o risco de efeitos secundários e degradação hepática ou renal; facilidade de administração crónica; é uma via não-invasiva, que permite a autoadministração por parte do doente, promovendo a adesão à terapêutica; permite um rápido início de ação, o que faz com que seja uma via de administração a explorar para melhorar o prognóstico de doentes com glioblastoma multiforme. Porém, a resposta obtida por fármacos administrados por via nasal demonstra que apenas uma pequena parte da dose da administrada consegue atingir o cérebro (van Woensel *et al.*, 2013; Ul Islam *et al.*, 2020).

As barreiras fisiológicas protetoras da mucosa nasal limitam a eficiência dos fármacos administrados pelo nariz, e apenas 1% ou menos de fármaco atinge o cérebro após administração nasal. Assim, a natureza e eficácia do fármaco e os excipientes da formulação a administrar têm de ser considerados, uma vez que a via nasal apenas permite a administração de um pequeno volume de formulação em cada administração. Nesse sentido, é necessário um fármaco de elevada potência e excipientes biocompatíveis. Além disso, a tonicidade, viscosidade e pH da formulação também devem ser considerados no processo de desenvolvimento da formulação (Chen *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

Quando a formulação é aplicada na cavidade nasal, o fármaco tem de atravessar diversas barreiras. A primeira barreira é a camada de muco que cobre a mucosa olfativa e respiratória. O muco é uma mistura complexa excretada pelas células caliciformes na mucosa, e contém 95% de água, 2% de mucina, 1% de sais e 1% de albumina, lisozimas, lactoferrina, imunoglobulinas e lípidos. O pH resultante deste muco na cavidade nasal é próximo de neutro ou ligeiramente ácido. Esta camada de muco é impulsionada em direção à faringe pelo movimento dos cílios, num mecanismo designado por *clearance mucociliar*, o que pode levar à eliminação do fármaco para o trato gastrointestinal (van Woensel *et al.*, 2013; Bruinsmann *et al.*, 2019).

No entanto, a constante renovação dos recetores celulares olfativos compromete a integridade de toda a mucosa, o que facilita a permeação de fármacos administrados na região olfativa da cavidade nasal (van Woensel *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2018).

Apesar da administração nasal evitar o efeito de primeira passagem do fígado, também estão presentes na mucosa nasal, enzimas do complexo do citocromo P450, assim como proteases e peptidases que podem induzir uma espécie de efeito de primeira passagem, uma vez que o citocromo P450 nasal pode ter um conteúdo de redutase NADPH-citocromo P450 quatro vezes superior ao do fígado (van Woensel *et al.*, 2013; Erdő *et al.*, 2018).

Têm sido estudadas várias estratégias de promoção da absorção dos fármacos nasais. Entre estas, foi demonstrado que a utilização de formulações com propriedades mucoadesivas ajudam a aumentar o tempo de retenção e reduzir a *clearance* mucociliar, mas a elevada e frequente dose administrada origina uma irritação constante da mucosa nasal (Erdő *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

O último fator chave a considerar na administração nasal é o dispositivo de administração, que deve permitir o depósito do fármaco na região da cavidade nasal apropriada para ocorrer posteriormente a absorção (Bruinsmann *et al.*, 2019).

A administração nasal de fármacos apresenta diversas vantagens em comparação com outras vias de administração, embora existam limitações. Na tabela 1 são resumidas as vantagens e as desvantagens da administração nasal de fármacos (Chen *et al.*, 2018).

Tabela 1- Vantagens e desvantagens da administração nasal (Chen *et al.*, 2018; Erdő *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

Vantagens	Desvantagens
Via não invasiva	Limitado a fármacos com elevada potência
Baixo risco de infecção	Administração de pequenos volumes
Fácil autoadministração	<i>Clearance</i> mucociliar ativa
Área disponível para a absorção relativamente elevada	Degradação pelas enzimas presentes na cavidade nasal
Absorção rápida	Baixa permeabilidade de fármacos hidrófilos
Evita o efeito de primeira passagem no fígado	Variabilidade entre indivíduos
Permite a passagem direta dos fármacos para o cérebro, sem passar pela BHE	A existência de secreções nasais influenciam a absorção dos fármacos

4) Nanossistemas lipídicos

Os lípidos estão presentes em todo o lado e são biodegradáveis, pelo que apresentam baixa toxicidade. Além disso, as moléculas lipídicas são facilmente manipuláveis para utilização na produção de nanossistemas lipídicos, que são sistemas coloidais constituídos por gotículas ou partículas de tamanhos nanométricos e podem ser formados por lípidos naturais ou de síntese (Sguizzato *et al.*, 2021).

Dentro dos nanossistemas lipídicos é possível encontrar diferentes categorias. Na verdade, a estrutura destes nanossistemas pode ser bastante diferente dependendo do tipo de constituinte ou método de produção escolhido. Entre os nanossistemas lipídicos mais comuns temos as nanoemulsões, as microemulsões, os lipossomas e as nanopartículas lipídicas, que incluem as nanopartículas de lípidos sólidos (do inglês *solid lipid nanoparticles* - SLN) e os vetores lipídicos nanoestruturados (do inglês *nanostructured lipid carriers* - NLC). Em nanomedicina nanossistemas podem ser utilizados como ferramenta de diagnóstico ou para promover a ação terapêutica de fármacos (Silva *et al.*, 2019; Sguizzato *et al.*, 2021).

4.1) Lipossomas

Os primeiros nanossistemas lipídicos a serem usados em nanomedicina foram os lipossomas. No entanto, apesar das suas vantagens, tais como uma elevada biocompatibilidade, baixa toxicidade, ausência de imunogenicidade e biodegradabilidade, a sua aplicação clínica era limitada, devido às desvantagens, incluindo a tendência para sofrer oxidações e hidrólises, baixa estabilidade durante o armazenamento, baixa eficiência de encapsulação e elevado custo de produção (Jnaidi *et al.*, 2020).

Lipossomas são vesículas esféricas formadas por uma bicamada fosfolipídica que lhes confere elevada biocompatibilidade e capacidade de atravessar a BHE. O tamanho e a composição lipídica dos lipossomas afetam a sua circulação na corrente sanguínea e distribuição para o cérebro. Dependendo da sua aplicação, os lipossomas podem ter diferentes tamanhos, que variam de valores próximos de 100 nm até valores na gama micrométrica. No entanto, é importante salientar que os lipossomas com tamanhos maiores (aproximadamente 250nm) são eliminados duas vezes mais rápido que os lipossomas com cerca de 100 nm. No entanto, os lipossomas com tamanhos aproximados de 100 nm têm uma capacidade de armazenamento menor levando a uma menor eficiência de encapsulação. Como tal, o tamanho dos lipossomas deve ser considerado em conjunto com a sua aplicação terapêutica, eficiência de encapsulação e estabilidade (Vieira e Gamarra, 2016; Ross *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020).

Os lipossomas podem ser funcionalizados de várias formas para aumentar o seu potencial como vetor terapêutico. Essas modificações podem envolver a adição de moléculas à superfície ou a encapsulação de moléculas internamente tanto no núcleo aquoso como na bicamada lipídica (Vieira e Gamarra, 2016; Li *et al.*, 2020). Por exemplo, de forma a melhorar o seu perfil farmacocinético e aumentar os tempos de circulação, os chamados lipossomas furtivos foram desenvolvidos através da ligação de moléculas de polietilenoglicol (PEG) à sua superfície. Assim, os lipossomas com esta modificação são capazes de permanecer durante mais tempo em circulação, embora não esteja comprovado que este tipo de lipossomas atravessa facilmente a BHE (Ross *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020).

A ligação de moléculas que se ligam especificamente aos recetores da transferrina é outro alvo comum das modificações de superfície dos lipossomas, visto que este recetor está localizado no endotélio da BHE. Existem ainda lipossomas funcionalizados com moléculas que se ligam especificamente aos recetores da lactoferrina, que são expressos em grande quantidade na BHE. Outra modificação usada para que os lipossomas atinjam o SNC é através dos mecanismos de transporte de glucose na BHE, sendo incorporado à superfície do lipossoma moléculas de glucose (Ross *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020).

4.2) Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas, SLN e NLC, foram desenvolvidas devido à necessidade de encontrar uma solução para os problemas apresentados por outros nanossistemas, como a toxicidade, baixa estabilidade durante o armazenamento e a baixa capacidade de carga. As SLN e os NLC têm demonstrado habilidade para conseguir atravessar a BHE, tornando-as assim boas candidatas para utilização no tratamento de doenças do SNC (Jnaidi *et al.*, 2020). Estas nanopartículas promovem a chegada do fármaco às células alvo, através de vários mecanismos que incluem direcionamento ativo ou passivo. No caso dos mecanismos passivos, estas utilizam como vantagem as propriedades específicas do microambiente tumoral para melhorar a ação do fármaco com base no que é chamado efeito de retenção e permeabilidade melhorado. No entanto, no mecanismo ativo, as nanopartículas lipídicas são modificadas na sua superfície para reconhecer um transportador ou recetor que está com uma expressão aumentada na célula alvo, permitindo uma terapia localizada o que origina uma diminuição dos efeitos secundários (Tapeinos *et al.*, 2017; Jnaidi *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020).

As nanopartículas lipídicas têm tamanhos entre 100 e 500 nm; são, geralmente, esféricas; podem ser compostas por vários lípidos com características comuns, tal como baixo ponto de fusão que lhes permite estar no estado sólido à temperatura ambiente e corporal; e uma variedade de tensoativos e/ou co-tensoativos. A seleção adequada destes constituintes permite afetar as propriedades físico-químicas das nanopartículas, tais como o tamanho, o índice de polidispersão, a carga de superfície, dose de fármaco, o perfil de libertação e a estabilidade a longo prazo (Tapeinos *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020).

Apesar de todas as suas vantagens, as nanopartículas lipídicas apresentam algumas desvantagens, incluindo a tendência para formar um gel, baixa eficácia de encapsulação de moléculas hidrófilas e expulsão imprevisível das moléculas encapsuladas devido à recristalização do lípido sólido (Tapeinos *et al.*, 2017; Jnaidi *et al.*, 2020).

As SLN constituem a primeira geração de nanopartículas lipídicas e são formadas por apenas um lípido sólido, enquanto os NLC são compostos por uma mistura binária de lípido sólido e lípido líquido. Os últimos apresentam uma estrutura interna mais desorganizada que lhes confere maior estabilidade ao longo do tempo e maior capacidade de encapsulação das moléculas e foram desenvolvidos para ultrapassar as limitações das SLN (Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020).

4.3) Nanoemulsões

As nanoemulsões são sistemas heterógenos, termodinamicamente instáveis, constituídos por gotículas de tamanhos nanométricos, podendo ser do tipo óleo-em-água (O/A) ou água-em-óleo (A/O). As nanoemulsões O/A apresentam-se como uma opção promissora de veiculação de fármacos lipofílicos, protegendo-os de degradação enzimática, modulando sua liberação e melhorando a biodisponibilidade. As nanoemulsões podem ser produzidas por diferentes métodos usando um lípido, um tensoativo, um co-tensoativo e água (Bonferoni *et al.*, 2019; Bahadur *et al.*, 2020).

Os tensoativos são componentes essenciais das nanoemulsões, impedindo a separação de fases e a aglomeração das gotículas por conferirem estabilidade à formulação e reduzirem a tensão superficial. Estes compostos afetam também a solubilização dos fármacos e podem ajudar na permeação. A integridade estrutural da mucosa nasal é muito afetada devido aos tensoativos presentes nas formulações, daí que seja necessário escolher bem a sua concentração para manter uma mucosa nasal saudável. Geralmente, só um tensoativo não consegue reduzir a tensão superficial da nanoemulsão, pelo que são usados co-tensoativos que permitem atingir o balanço hidrófilo-lipófilo desejado. Estes aumentam a fluidez da formulação e ajudam na emulsificação e estabilidade final da nanoemulsão (Bonferoni *et al.*, 2019; Bahadur *et al.*, 2020).

A preparação de nanoemulsões engloba métodos de elevada energia e métodos de baixa energia. Na preparação de elevada energia, que envolve utilização da energia dos ultrassons ou da homogeneização a elevada pressão, a força gerada é mecânica. Na preparação de baixa energia são utilizados processos físico-químicos, como a inversão de fases, para obter o tamanho de gotículas desejado (Bonferoni *et al.*, 2019; Bahadur *et al.*, 2020).

4.4) Microemulsões

As microemulsões são termodinamicamente estáveis, constituídos por misturas homogêneas de água, óleo, tensioativo e co-tensioativo, que têm a característica de se formarem espontaneamente quando as concentrações destes são adequadas. A transparência ótica das microemulsões implica que a sua microestrutura deve ser caracterizada à escala submicrométrica (normalmente abaixo de 100 nm). Tamanhos tão baixos estão associados a uma enorme área interfacial, que pode ser atingida sem nenhum gasto de energia, porque a tensão interfacial é extremamente baixa. O nome microemulsão pode ser enganador visto que as suas gotículas apresentam tamanhos nanométricos (Li *et al.*, 2020; Tartaro *et al.*, 2020).

Dependendo da composição quantitativa do sistema, podem se formar três diferentes tipos de microemulsões: A/O, sendo o óleo a fase contínua e a água a fase dispersa; O/A, sendo a água a fase contínua e o óleo a fase dispersa e o último tipo é do tipo bicontínuo com a água e o óleo a formarem um domínio tridimensional onde não há possibilidade de distinguir a fase interna da fase externa. É importante salientar que os sistemas bicontínuos apenas são típicos das microemulsões e são formados quando as fases polares e apolares se encontram em quantidades semelhantes (Tartaro *et al.*, 2020; Ul Islam *et al.*, 2020).

As microemulsões são sistemas de incorporação de fármacos em cuja fase lipídica pode aumentar a afinidade dos fármacos para as células endoteliais da BHE e os seus tensioativos/co-tensioativos podem inibir ou reduzir o efluxo da glicoproteína-P (Li *et al.*, 2020; Froelich *et al.*, 2021).

As microemulsões e as nanoemulsões partilham semelhanças em termos de tamanho das gotículas, no entanto, são diferentes uma da outra no que diz respeito ao método de preparação, composição e concentração dos componentes (Ul Islam *et al.*, 2020; Froelich *et al.*, 2021).

5) Tratamento convencional de tumores cerebrais *versus* tratamento com nanossistemas

Para a maioria dos tumores cerebrais o tratamento convencional de intervenção cirúrgica para remoção da massa em conjunto com radioterapia quando a remoção total não é possível resulta isto é o caso para: adenomas pituitários, que se forem libertadores de hormonas apenas precisam de posterior terapia médica para tratar do desequilíbrio hormonal, meningiomas e gliomas de baixo grau, graus I e II (Rogers *et al.*, 2015; Mehta e Lonser, 2017; Rudà *et al.*, 2018; Mair *et al.*, 2021).

No entanto, este prognóstico favorável não é o caso para todos os tipos de tumores cerebrais. Os gliomas de elevado grau, em particular o glioblastoma, exigem outro tipo de terapias e os seus prognósticos são muito piores para o doente (Carlsson *et al.*, 2014; Wesseling *et al.*, 2015; Rudà *et al.*, 2018; Hirtz e Rech, 2020).

O tratamento convencional do glioblastoma multiforme consiste na máxima ressecção cirúrgica tumoral seguida de uma combinação de radioterapia e quimioterapia (Carlsson *et al.*, 2014; Vieira e Gamarra, 2016).

A máxima ressecção tumoral é específica para cada tumor, sendo baseada no seu tamanho, forma e localização dos vasos sanguíneos, artérias ou regiões sensíveis do cérebro. A ressecção cirúrgica pode ser classificada em ressecção total bruta e ressecção subtotal quando a remoção completa do tumor não é possível. Não é surpreendente que doentes com mais de 90% de ressecção tenham uma maior esperança média de sobrevivência, daí que o aumento da sobrevivência do doente esteja correlacionado com a capacidade de remover o mais possível do tumor (Carlsson *et al.*, 2014; Jnaidi *et al.*, 2020).

Quando a ressecção total não é possível, a radioterapia em conjunto com a ressecção parcial tem sido utilizada. A terapia de radiação induz danos severo no ADN causando a apoptose das células devido à quebra da dupla hélice. O convencional é aplicação de um feixe de radiação externo cinco vezes por semana, durante seis semanas. Apesar de este ser o tratamento convencional, algumas técnicas de radiocirurgia têm sido desenvolvidas para aumentar a eficácia da radioterapia em doentes que têm recorrência de glioblastoma multiforme. A terapia com Gamma Knife permite usar doses elevadas de radiação estereotáxicas que confinam o tratamento à área do glioblastoma, sendo esta técnica considerada ineficaz para o tratamento de tumores primários devido ao grande volume tumoral (Carlsson *et al.*, 2014; Jnaidi *et al.*, 2020).

A quimioterapia convencional atual para tratamento de glioblastoma multiforme é a temozolida. Conjuntamente com a radioterapia, aumenta a esperança média de vida em cerca de 26,5%, durante o primeiro ano, apresentando uma melhoria em relação aos 10,4%, quando utilizada apenas radioterapia. A temozolida é um agente alcalino que metila as purinas no ADN e induz apoptose. A desvantagem do uso da temozolida é o risco significativo para as células saudáveis. Este risco combinado com a possível resistência das células cancerígenas à temozolida indica que existe a necessidade de encontrar quimioterapia adicional para melhorar o tratamento (Carlsson *et al.*, 2014; Jnaidi *et al.*, 2020).

O que dificulta o tratamento direcionado do glioblastoma multiforme é a sua heterogeneidade tumoral, característica essa que aumenta a incidência de casos incuráveis e a recorrência tumoral após ter recebido terapia com citotóxicos. Isto ocorre devido à heterogeneidade intertumoral e intratumoral do glioblastoma multiforme que cria subpopulações de células resistentes. Contudo, avanços nas ferramentas de proteómica e genómica revelaram novos alvos moleculares e tipos de células envolvidos na progressão tumoral (Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

A heterogeneidade intertumoral do glioblastoma é gerada por vários fatores, incluindo diferenças nas células de origem do tumor, que se assume que são células estaminais da glia. No entanto, astrócitos e neurónios também são aceites como possíveis células de origem do glioblastoma multiforme. Os outros fatores envolvem alterações genéticas e epigenéticas a que as células tumorais estão sujeitas, e levam a centenas de mutações. De acordo com a sequenciação e caracterização do genoma, epigenoma e transcriptoma glioblastoma multiforme pode ser classificado em 3 subtipos: proneural, comum em jovens adultos com mutações do gene *tp53* que codifica o supressor tumoral *p53*; mesenquimal, que contém uma alteração no gene que codifica a neurofibromina; e clássico, que tem um elevado nível do recetor do fator de crescimento epidérmico. Isto tudo demonstra que a quimioterapia com um único fármaco pode não ser eficiente no tratamento do glioblastoma multiforme (Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

Compreender a heterogeneidade intratumoral é crítico para compreender o porquê de certas terapias não terem sucesso, tendo esta sido detetada após se fazer o genótipo de amostras de um tumor recorrente. Esta heterogeneidade pode ocorrer devido a diversos fatores, tais como mutações na isocitrato desidrogenase, mutações no recetor do fator de crescimento epidérmico, entre outros. Todas estas anomalias criaram múltiplas subpopulações, demonstrando a importância do tratamento personalizado para se obter o melhor resultado possível (Jnaidi *et al.*, 2020).

Outros fatores que tornam a terapia de glioblastoma multiforme complicada incluem as células estaminais de glioblastoma, efluxo de fármacos e hipoxia (Jnaidi *et al.*, 2020).

As células estaminais de glioblastoma são células de divisão lenta, que têm a capacidade de se autorrenovar. São reconhecidas como potenciais fontes de resistência a quimioterapia e recorrência tumoral. Este tipo de células confere ao glioblastoma uma certa capacidade de evasão ao sistema imune, inibindo a proliferação de células T e a ativação e indução da apoptose (Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

Os fármacos são normalmente transportados para as células tumorais através de proteínas dependentes de ATP, de acordo com o gradiente de concentração. Este tipo de transporte é reconhecido como um dos maiores fatores de resistência aos fármacos (Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

O grau acelerado de proliferação celular do glioblastoma multiforme resulta na criação de regiões do tumor com insuficiente fornecimento de sangue. Sendo assim, os quimioterápicos conseguem atingir as células na parte exterior da massa tumoral, enquanto o núcleo da massa tumoral contém células inativas em ambiente de hipoxia acídica que irão sobreviver à quimioterapia. Além disso, a maioria de fármacos para cancro têm como alvo células em estado altamente proliferativo, enquanto as células da região que estão em hipoxia estão num estado de baixa divisão (Silva *et al.*, 2019; Jnaidi *et al.*, 2020).

Todos os fatores mencionados contribuíram para fazer do tratamento de glioblastoma multiforme um verdadeiro desafio. Mas um fator em particular a ultrapassar é a BHE que bloqueia a passagem dos fármacos para o SNC, havendo uma necessidade urgente de desenvolver sistemas de transporte de fármacos eficientes que sejam capazes de melhorar a concentração de fármaco no cérebro e, conseqüentemente, o tratamento de tumores. Uma das abordagens promissoras é a utilização de nanossistemas lipídicos (Carlsson *et al.*, 2014; Vieira e Gamarra, 2016).

Os nanossistemas lipídicos permitem direcionar os fármacos para as células tumorais, o que permite ultrapassar os fatores de resistência do glioblastoma multiforme. Assim, o seu estudo é prioritário para que se possa adquirir novas formas de tratamento, promovendo o aumento da esperança média de vida dos doentes com glioblastoma multiforme (Carlsson *et al.*, 2014; Vieira e Gamarra, 2016).

6) Exemplos da utilização de nanossistemas lipídicos no transporte de fármacos do nariz para o cérebro

Várias terapias que usam nanossistemas para o transporte de fármacos estão sob investigação para o tratamento do glioblastoma multiforme (Bruinsmann *et al.*, 2019). A Tabela 2 apresenta exemplos da utilização de nanossistemas lipídicos para promover o transporte direto de fármacos do nariz ao cérebro.

Tabela 2 – Exemplos de estudos com nanossistemas lipídicos para promover o transporte direto de fármacos do nariz ao cérebro no tratamento do glioblastoma multiforme.

Fármaco	Tipo de nanossistema lipídico	Referência
Ecto-5'-nucleotidase (CD73)	Nanoemulsão	Azambuja <i>et al.</i> , 2020
Teriflunomida	Microemulsão NLC	Gadhve <i>et al.</i> , 2019 Gadhve <i>et al.</i> , 2021
Kaempferol	Nanoemulsão	Colombo <i>et al.</i> , 2018
Temozolomida	Nanoemulsão	Khan <i>et al.</i> , 2018
Curcumina	Microemulsão NLC	Shinde e Devarajan, 2017 Madane e Mahajan, 2016
miRNA	SNA-Lipossoma-ApoE SNA-Lipossoma-RVG	Grafals-Ruiz <i>et al.</i> , 2020
Doxorrubicina	CTX-IgG-Lipossoma	Mahmud <i>et al.</i> , 2018

6.1) Ecto-5'-nucleotidase (CD73)

A estratégia da imunoterapia revolucionou o tratamento de muitos tumores sólidos, tais como os gliomas (Bruinsmann *et al.*, 2019; Goswami *et al.*, 2020).

O CD73 é uma ectonucleotidase que converte o ATP extracelular em adenosina, o CD73 promove progressão tumoral, induz uma imunossupressão e é ainda um fator de resistência a fármacos, no caso de glioblastoma multiforme a expressão de CD73 está exacerbada. Deste modo, o uso de uma nanoemulsão catiónica para libertação de ARN interferente com o CD73 para tratamento de glioblastoma através de administração nasal seja uma ideia promissora (Bruinsmann *et al.*, 2019; Goswami *et al.*, 2020). Foi desenvolvida uma formulação de nanoemulsão catiónica para transporte de siRNA (do inglês *small interfering RNA*) CD73 onde os estudos *in vitro*, em que se utilizaram células de glioma de rato C6, comprovaram uma diminuição da viabilidade celular após 48 horas de exposição, enquanto a formulação usada como controlo não induziu qualquer alteração na viabilidade celular. Os resultados do estudo *in vivo*, em ratos com glioblastoma, demonstraram que a nanoemulsão incorporada com siRNA CD73, quando administrada via nasal, diminui significativamente o crescimento do glioma em 60%, quando comparado com o grupo de controlo. Além disso, também se verificou que esta formulação não apresenta citotoxicidade sistémica, quando administrada pela via nasal (Bruinsmann *et al.*, 2019).

6.2) Teriflunomida

A teriflunomida é um inibidor seletivo e reversível da enzima mitocondrial dehidroorotato desidrogenase, que é necessária para a nova síntese de pirimidinas. Deste modo, o desenvolvimento de uma microemulsão para aumentar a libertação de teriflunomida no cérebro através de administração nasal foi investigado. Apesar dos resultados obtidos no estudo *in vitro* terem demonstrado uma redução da viabilidade celular, também se verificou que a teriflunomida é altamente tóxica para o fígado. Perante estes resultados, foi sugerido que a possibilidade da administração nasal de uma microemulsão de teriflunomida ainda tem de ser submetida a mais estudos para avaliar o seu perfil toxicológico (Bruinsmann *et al.*, 2019).

Os ensaios de citotoxicidade realizados em linhas celulares U-87 de glioblastoma humano, que usaram com o controlo positivo a carmustina, demonstraram, que, após 48 horas, a viabilidade celular diminuiu 38,5% e 37,8%, respetivamente, o que indica que os perfis citotóxicos são comparáveis. Quando efetuada a distribuição *in vivo* da microemulsão de teriflunomida verificou-se uma acumulação no cérebro, comparativamente à administração intravenosa. Foi ainda feita uma análise toxicológica, em ratos Wistar administrados diariamente durante 28 dias via nasal com a microemulsão de teriflunomida, onde não se verificaram grandes efeitos secundários provando a sua eficácia em tratamento prolongado (Bruinsmann *et al.*, 2019).

Os NLC também foram estudados para promover o transporte direto nariz-cérebro da teriflunomida. Neste estudo, foi preparado um hidrogel *in situ* e foi avaliada a sua citotoxicidade em células de glioma humano U-87, tendo-se verificado que o hidrogel *in situ* foi comparativamente mais citotóxico que a teriflunomida pura e apenas os NLC contendo teriflunomida. Onde os resultados da concentração do fármaco que induz metade do efeito (do inglês *half-maximal inhibitory concentration* - IC50) foram 78,5 µg/mL para a NLC com teriflunomina, 7 µg/mL para o hidrogel *in situ* com NLC-teriflunomida e de 4,8 µg/mL para a teriflunomida pura, o que demonstrou a maior citotoxicidade da teriflunomida pura ou do hidrogel *in situ* (Costa *et al.*, 2021).

6.3) Kaempferol

O kaempferol é um flavonol natural presente em diferentes espécies de plantas, encontrado abundantemente em plantas comestíveis e plantas medicinais comuns. O kaempferol foi descrito como tendo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, neuroprotetoras e antitumorais, inclusive no caso de gliomas. No entanto, a sua pouca solubilidade em água e baixa biodisponibilidade limitam a sua aplicação clínica (Colombo *et al.*, 2018; Silva dos Santos *et al.*, 2021).

O efeito do kaempferol observado em culturas celulares de glioblastoma multiforme foi a inibição da atividade das metaloproteinases, que estão associadas à agressividade destes tumores, em adição ao seu efeito de promoção de apoptose através de modificações celulares morfológicas (Colombo *et al.*, 2018; Silva dos Santos *et al.*, 2021). Nesse sentido, foi desenvolvida uma nanoemulsão revestida de quitosano para administração de kaempferol via nasal com o objetivo de promover a biodisponibilidade do fármaco no tratamento de gliomas (Colombo *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

Os resultados dos estudos *in vitro* revelaram que nanoemulsão de kaempferol reduziu a viabilidade das células de glioma C6, através da indução de apoptose, em comparação com o kaempferol não encapsulado. Estudos *in vivo* em ratos Wistar indicaram um aumento da captação do composto pelo cérebro, após a administração intranasal, em comparação com uma solução controlo de kaempferol (Colombo *et al.*, 2018).

6.4) Temozolomida

A temozolomida é o fármaco de eleição para o tratamento de qualquer forma agressiva de tumor cerebral. No entanto, a sua administração é feita via oral e os efeitos secundários observados são vários, reduzindo assim a qualidade de vida dos doentes (Karachi *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

Este fármaco é um indutor da linfopenia, que é dependente da dosagem administrada e promove a atividade antitumoral associada à imunoterapia celular (Karachi *et al.*, 2018).

Quando feitas nanoemulsões deste fármaco para administração nasal houve um aumento da permeabilidade da temozolomida, cerca de 2.5 vezes superior, em conjunto com um aumento da citotoxicidade da mesma. Esta mesma formulação aumentou a citotoxicidade *in vitro* para a linhagem de células do glioma C6 (Bruinsmann *et al.*, 2019).

6.5) Curcumina

A curcumina tem vários alvos moleculares daí que tenha diversos e complexos mecanismos de ação. O seu efeito antitumoral atua nas diferentes vias, tais como proliferação celular, apoptose, imunomodulação e metastização (Klinger e Mittal, 2016). Nesse sentido, foram desenvolvidas formulações de curcumina encapsulada em NLC para o tratamento de tumores cerebrais (Bruinsmann *et al.*, 2019).

Os estudos *in vitro* com NLC-curcumina revelaram maior citotoxicidade, comparativamente ao controlo positivo (adrenomicina), em células humanas U-373 de astrocitoma-glioblastoma, que revelaram um IC50 de 9,8 ng/mL e 13,6 ng/mL, respetivamente. Os estudos de biodistribuição realizados em ratos Wistar, aos quais foi administrada a formulação de NLC-curcumina via intranasal, demonstrou uma maior concentração de composto no cérebro dos animais, em comparação à quantidade encontrada no cérebro dos animais administrados com uma suspensão oral de curcumina (Bruinsmann *et al.*, 2019).

Num outro de estudo, em que foi usada uma microemulsão de curcumina, os resultados obtidos *in vitro*, em células humanas U-87 de glioblastoma, demonstraram um IC50 de 24,6 ng/mL, enquanto para uma solução de curcumina o IC50 foi de 747,8 ng/mL.

Seguidamente, fez-se um estudo *in vivo*, em ratos saudáveis para comparação da administração nasal e intravenosa, e verificou-se que a concentração de curcumina no cérebro foi superior quando administrada via nasal (Bruinsmann *et al.*, 2019).

6.6) miRNA

O miRNA são pequenos ARN (ácido ribonucleico do inglês *ribonucleic acid* – RNA) endógenos que regulam a expressão de genes a nível pós-transcricional, daí que sejam estudados para potencial adjuvante no tratamento de tumores cerebrais. No entanto, a sua resposta *in vivo* não é a ideal, pelo que a sua encapsulação em lipossomas seja uma forma de administração desejável (Grafals-Ruiz *et al.*, 2020).

A apolipoproteína E (ApoE) e a glicoproteína do vírus da raiva são ligandos específicos que permitem a passagem de moléculas da corrente sanguínea para o cérebro. Nesse sentido, os lipossomas que tenham na sua superfície estes ligandos constituem bons vetores para o transporte de miRNAs, que vão depois atuar no tumor cerebral (Grafals-Ruiz *et al.*, 2020).

Este tipo de nanossistema foi estudado *in vitro*, em células humanas U-87 de glioblastoma, tendo-se verificado haver um aumento da sua acumulação nas células, podendo assim o miRNA encapsulado exercer efeito no tumor cerebral, através da redução da viabilidade celular (Grafals-Ruiz *et al.*, 2020).

6.7) Doxorubicina

A doxorubicina é um potente quimioterápico que apresenta atividade contra diferentes tipos de cancro incluindo os tumores cerebrais (MacDiarmid *et al.*, 2016).

Mahmud *et al.* desenvolveram lipossomas revestidos com clorotoxina, um composto derivado do veneno do escorpião, que apresenta uma elevada seletividade para o glioma e outros tumores. Este lipossoma foi concebido com a fusão da IgG humana e a clorotoxina para ter uma maior especificidade para tumores cerebrais, podendo administrar mais eficazmente a doxorubicina (Mahmud *et al.*, 2018).

Foram feitos estudos *in vitro* em células U251 MG-P1 com doxorubicina livre em comparação com os lipossomas revestidos com clorotoxina contendo o fármaco encapsulado. Verificou-se que os lipossomas demonstraram uma citotoxicidade mais elevada e menor IC50, igual a 0,7 μ M. Em estudos *in vivo* com ratos BALB, aos quais foi transplantado o tumor U251 MG-P1, verificou-se que, quando comparado com a doxorubicina pura, a formulação lipossomal demonstrou uma diminuição do crescimento tumoral. O estudo foi realizado durante 20 dias, tendo sido avaliado o volume tumoral, em comparação com o volume inicial, e também os efeitos secundários, comparativamente com a doxorubicina pura. Os resultados demonstraram que a formulação lipossomal originou efeitos secundários muito menores aos observados com a solução de doxorubicina pura, assim como uma redução significativa do volume tumoral foi mais proeminente na administração do lipossoma com doxorubicina (Mahmud *et al.*, 2018).

7) Conclusão

Os tumores cerebrais mais agressivos apresentam, na sua maioria, um mau prognóstico para o doente. Para que os fármacos exerçam efeito no local de ação, é necessário que atinjam o cérebro.

No entanto, os fármacos administrados pela via oral e pelas vias parentéricas têm de ultrapassar muitas barreiras (por exemplo, a degradação enzimática, o efeito de primeira passagem e a BHE) para exercer o efeito terapêutico desejado. Neste contexto, o tratamento dos tumores cerebrais através da via intranasal apresenta diversas vantagens face à via oral e às vias parentéricas. Nesta área, o uso de nanossistemas lipídicos como transportadores de fármacos tem sido estudado por diversos investigadores para promover a entrega direta dos fármacos ao cérebro, evitando a necessidade de atravessar a BHE. A maioria destes nanossistemas lipídicos tem sido estudada para o tratamento de gliomas e encontra-se em desenvolvimento pré-clínico, embora tenham vindo a apresentar resultados promissores, o que aumenta a expectativa em relação ao seu potencial uso clínico.

Referências

- Azambuja, J. H. *et al.* (2020). Nasal Administration of Cationic Nanoemulsions as CD73-siRNA Delivery System for Glioblastoma Treatment: a New Therapeutical Approach. *Molecular Neurobiology*, 57(2), pp. 635–649.
- Bahadur, S. *et al.* (2020). Intranasal nanoemulsions for direct nose-to-brain delivery of actives for cns disorders. *Pharmaceutics*, 12(12), pp. 1–27.
- Bonferoni, M. C. *et al.* (2019). Nanoemulsions for «nose-to-brain» drug delivery. *Pharmaceutics*, 11(2), pp. 1–17.
- Bruinsmann, F. A. *et al.* (2019). Nasal drug delivery of anticancer drugs for the treatment of glioblastoma: Preclinical and clinical trials. *Molecules*, 24(23).
- Buerki, R. A. *et al.* (2018). An overview of meningiomas. *Future Oncology*, 14(21), pp. 2161–2177.
- Carlsson, S. K., Brothers, S. P. e Wahlestedt, C. (2014). Emerging treatment strategies for glioblastoma multiforme. *EMBO Molecular Medicine*, 6(11), pp. 1359–1370.
- Chen, R. *et al.* (2017). Glioma Subclassifications and Their Clinical Significance. *Neurotherapeutics*. *Neurotherapeutics*, 14(2), pp. 284–297.
- Chen, T. C., da Fonseca, C. O. e Schönthal, A. H. (2018). Intranasal perillyl alcohol for glioma therapy: Molecular mechanisms and clinical development. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), pp. 1–21.
- Colombo, M. *et al.* (2018). Kaempferol-loaded mucoadhesive nanoemulsion for intranasal administration reduces glioma growth in vitro. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier, 543(1–2), pp. 214–223.
- Costa, C. P. *et al.* (2021). In vitro studies on nasal formulations of nanostructured lipid carriers (NLC) and solid lipid nanoparticles (SLN). *Pharmaceutics*, 14(8), pp. 1–23.
- Cunha, S. *et al.* (2021). Improving drug delivery for alzheimer’s disease through nose-to-brain delivery using nanoemulsions, nanostructured lipid carriers (NLC) and in situ hydrogels. *International Journal of Nanomedicine*, 16, pp. 4373–4390.

Erdő, F. *et al.* (2018). Evaluation of intranasal delivery route of drug administration for brain targeting. *Brain Research Bulletin*, 143(October), pp. 155–170.

Froelich, A. *et al.* (2021). Microemulsion-based media in nose-to-brain drug delivery. *Pharmaceutics*, 13(2), pp. 1–37.

Gadhve, D. *et al.* (2019). Intranasal teriflunomide microemulsion: An improved chemotherapeutic approach in glioblastoma. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, pp. 276–289.

Gadhve, D. *et al.* (2021). Nose-to-brain delivery of teriflunomide-loaded lipid-based carbopol-gellan gum nanogel for glioma: Pharmacological and in vitro cytotoxicity studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, pp. 906–920.

Goswami, S. *et al.* (2020). James Allison-HHS Public Access, 26(1), pp. 39–46.

Grafals-Ruiz, N. *et al.* (2020). Brain targeted gold liposomes improve rnai delivery for glioblastoma. *International Journal of Nanomedicine*, 15, pp. 2809–2828.

Hirtz, A. e Rech, F. (2020). Astrocytoma : A Hormone-Sensitive Tumor ?, (Table 1).

Jnaidi, R., Almeida, A. J. e Gonçalves, L. M. (2020). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as smart drug delivery systems in the treatment of glioblastoma multiforme. *Pharmaceutics*, 12(9), pp. 1–19.

Karachi, A. *et al.* (2018). Temozolomide for immunomodulation in the treatment of glioblastoma. *Neuro-Oncology*, 20(12), pp. 1566–1572.

Khan, A. *et al.* (2018). Temozolomide loaded nano lipid based chitosan hydrogel for nose to brain delivery: Characterization, nasal absorption, histopathology and cell line study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, pp. 1260–1267.

Klinger, N. V. e Mittal, S. (2016). Therapeutic Potential of Curcumin for the Treatment of Brain Tumors. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Publishing Corporation, 2016.

Lah, T. T., Novak, M. e Breznik, B. (2020). Brain malignancies: Glioblastoma and brain metastases. *Seminars in Cancer Biology*, 60(July 2019), pp. 262–273.

Li, J. *et al.* (2020). Nanoparticle drug delivery system for glioma and its efficacy improvement strategies: A comprehensive review. *International Journal of Nanomedicine*, 15, pp. 2563–2582.

MacDiarmid, J. A. *et al.* (2016). Targeted doxorubicin delivery to brain tumors via minicells: Proof of principle using dogs with spontaneously occurring tumors as a model. *PLoS ONE*, 11(4), pp. 1–23.

Madane, R. G. e Mahajan, H. S. (2016). Curcumin-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) for nasal administration: design, characterization, and in vivo study. *Drug Delivery*. Taylor & Francis, 23(4), pp. 1326–1334.

Mahmud, H. *et al.* (2018). Targeting glioblastoma cells expressing CD44 with liposomes encapsulating doxorubicin and displaying chlorotoxin-IgG Fc fusion protein. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), pp. 1–15.

Mair, M. J. *et al.* (2021). A basic review on systemic treatment options in WHO grade II-III gliomas. *Cancer Treatment Reviews*. Elsevier Ltd, 92, p. 102124.

Mehta, G. U. e Lonser, R. R. (2017). Management of hormone-secreting pituitary adenomas. *Neuro-Oncology*, 19(6), pp. 762–773.

Pajtler, K. W. *et al.* (2017). The current consensus on the clinical management of intracranial ependymoma and its distinct molecular variants. *Acta Neuropathologica*. Springer Berlin Heidelberg, 133(1), pp. 5–12.

Rogers, L. *et al.* (2015). Meningiomas: Knowledge base, treatment outcomes, and uncertainties. A RANO review. *Journal of Neurosurgery*, 122(1), pp. 4–23.

Ross, C. *et al.* (2018). Liposome delivery systems for the treatment of Alzheimer's disease. *International Journal of Nanomedicine*, 13, pp. 8507–8522.

Rudà, R. *et al.* (2018). EANO guidelines for the diagnosis and treatment of ependymal tumors. *Neuro-Oncology*, 20(4), pp. 445–456.

Sguizzato, M., Esposito, E. e Cortesi, R. (2021). Lipid-based nanosystems as a tool to overcome skin barrier. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), pp. 1–16.

Shinde, R. L. e Devarajan, P. V. (2017). Docosaheaxaenoic acid-mediated, targeted and sustained brain delivery of curcumin microemulsion. *Drug Delivery*, 24(1), pp. 152–161.

Silva, C. O. *et al.* (2019). Current trends in cancer nanotheranostics: Metallic, polymeric, and lipid-based systems. *Pharmaceutics*, 11(1).

Silva dos Santos, J. *et al.* (2021). The Pharmacological Action of Kaempferol in Central Nervous System Diseases: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11(January).

Tapeinos, C., Battaglini, M. e Ciofani, G. (2017). Advances in the design of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for targeting brain diseases. *Journal of Controlled Release*, 264, pp. 306–332.

Tartaro, G. *et al.* (2020). Microemulsion microstructure(s): A tutorial review. *Nanomaterials*, 10(9), pp. 1–40.

Ul Islam, S. *et al.* (2020). Intranasal delivery of nanoformulations: A potential way of treatment for neurological disorders. *Molecules*, 25(8), pp. 1–27.

Vieira, D. B. e Gamarra, L. F. (2016). Getting into the brain: Liposome-based strategies for effective drug delivery across the blood–brain barrier. *International Journal of Nanomedicine*, 11, pp. 5381–5414.

Wesseling, P., van den Bent, M. e Perry, A. (2015). Oligodendroglioma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathologica*. Springer Berlin Heidelberg, 129(6), pp. 809–827.

van Woensel, M. *et al.* (2013). Formulations for intranasal delivery of pharmacological agents to combat brain disease: A new opportunity to tackle GBM? *Cancers*, 5(3), pp. 1020–1048.

Zhao, M. *et al.* (2020). Nanocarrier-based drug combination therapy for glioblastoma. *Theranostics*, 10(3), pp. 1355–1372.