



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Maria Carolina Simões Costa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nanotechnologies to overcome the Blood Brain Barrier and the Blood Retinal Barrier” referente à unidade curricular “Estágio”, sob orientação, do Dr. Diogo Luxo, Dra. Sofia Lourenço e da Professora Doutora Eliana Souto, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Maria Carolina Simões Costa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nanotechnologies to overcome the Blood Brain Barrier and the Blood Retinal Barrier” referente à unidade curricular “Estágio”, sob orientação, do Dr. Diogo Luxo, Dra. Sofia Lourenço e da Professora Doutora Eliana Souto, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Eu, Maria Carolina Simões Costa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016219101, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nanotechnologies to overcome the Blood Brain Barrier and the Blood Retinal Barrier” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 8 de setembro de 2021

Maria Carolina Simões Costa

(Maria Carolina Simões Costa)

O trabalho referente a esta monografia será integrado na seguinte publicação: Costa, C.; Silva, A.M., Shegokar, R., Souto, E.B Nanotechnologies for targeted drug delivery, in: “*Nanotechnology and Regenerative Medicine: History, Techniques, Frontiers and Applications*”, M. H. A. Santana, E. B. Souto (editors), Amsterdam, The Netherlands, Elsevier (2021) Chapter 3, accepted.

## **AGRADECIMENTOS**

Com o terminar desta etapa tão importante da minha vida, fica os agradecimentos a todos que de alguma forma contribuíram para que estes últimos 5 anos fossem incríveis;

À Faculdade de Farmácia e a todo o corpo docente que pelos conhecimentos e valores transmitidos me fizeram a farmacêutica que a partir de agora sou.

À Professora Doutora Eliana Souto pelo apoio e orientações dadas na escrita desta monografia.

À equipa da Farmácia Miranda pelos ensinamentos, experiências partilhadas e por serem um exemplo de excelentes profissionais. Mostraram-me o importante papel do farmacêutico na sociedade e fizeram-me apaixonar ainda mais por esta profissão.

À equipa das Tecnologias Diferenciadas da Bluepharma por terem me facultado um estágio inesquecível, pela amizade e por todos os conhecimentos transmitidos.

À minha Aleixinho e Duque que sempre estiveram presentes desde o início, que a nossa amizade perdure mesmo seguindo caminhos diferentes, sem vocês estes últimos anos não seriam tão felizes.

À Elisa, Maria Bea, Ju, Marçal, Piçarrinha e Eires, um grupo que se foi criando ao longo da faculdade e que eu levo no meu coração, por todas as risadas, jantares na casa da Maria Bea, chouriças assadas no banquito. É com muito orgulho que eu nos vejo crescer.

Aos meus amigos da Pampi que sempre estiveram presentes e mostraram-se orgulhosos no meu percurso.

À minha família, e em especial aos meus avôs que sei que têm muito orgulho em mim, tento ser a neta que eles merecem.

Ao meu irmão que, apesar de me chatear grande parte dos dias, o adoro e tenho o imenso orgulho nele e em tudo o que faz.

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado, fizeram sacrifícios para que eu pudesse ser feliz e seguir os meus sonhos e que são um grande exemplo para mim.

Ao meu namorado Diogo que me apoia em tudo, que me incentiva a correr riscos e a acreditar mais em mim, que ouve as minhas indecisões e frustrações.

A Coimbra por me ter proporcionado esta grande experiência.

**Obrigada a todos!**

# ÍNDICE

## Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

LISTA DE ABREVIATURAS .....	9
1. INTRODUÇÃO .....	10
2. ANÁLISE SWOT .....	11
2.1. PONTOS FORTES .....	11
2.1.1 Localização e horário de funcionamento.....	11
2.1.2 Equipa de trabalho.....	11
2.1.3 Utentes da farmácia .....	12
2.1.4 Plano de estágio .....	12
2.1.5. <i>Robot e Cash Guard</i> .....	15
2.2 PONTOS FRACOS.....	16
2.2.1 Preparação de medicamentos manipulados .....	16
2.3 OPORTUNIDADES.....	16
2.3.1 Participação em formações .....	16
2.4. AMEAÇAS .....	17
2.4.1. Informação de preços nas guias de tratamento .....	17
2.4.2. Interpretação das receitas manuais.....	17
3. CASOS PRÁTICOS .....	18
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	20
5. BIBLIOGRAFIA .....	21

## Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

LISTA DE ABREVIATURAS .....	23
1. INTRODUÇÃO .....	24
2. ANÁLISE SWOT .....	25
2.1 PONTOS FORTES .....	25
2.1.1. Plano de integração.....	25
2.1.2. Equipa de trabalho.....	25
2.1.3. Formações internas.....	25
2.1.4. Aquisição de conhecimentos sobre o desenvolvimento de formulações lipossomais.....	26
2.1.5. Autonomia e espírito crítico.....	26
2.2 PONTOS FRACOS.....	27
2.2.1 Duração do estágio .....	27
2.3. OPORTUNIDADES.....	27
2.3.1 Desenvolvimento de competências extracurriculares .....	27
2.3.2 Metodologia Kaizen.....	28
2.3.3 Conhecimentos em <i>Microsoft Excel</i> <sup>®</sup> .....	28
2.4. AMEAÇAS .....	29
2.4.1. COVID-19.....	29
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
4. BIBLIOGRAFIA .....	31

### **Parte III – Nanotechnologies to overcome the blood brain barrier and the blood retinal barrier**

LIST OF ABBREVIATIONS.....	33
RESUMO .....	35
ABSTRACT .....	36
INTRODUCTION .....	37
BLOOD BRAIN BARRIER.....	39
NANOMEDICINES.....	43
Lipid base nanoparticles .....	44
Polymeric nanoparticles .....	45
Inorganic nanoparticles .....	46
NASAL DRUG DELIVERY .....	49
BLOOD RETINAL BARRIER.....	50
OCULAR DELIVERY .....	51
NANOMEDICINES.....	52
Inorganic nanoparticles .....	52
Polymeric nanoparticles .....	53
Liposomes.....	54
Photo-targeted nanoparticles .....	55
BBB AND BRB MODULATION .....	56
CONCLUSIONS.....	58
BIBLIOGRAPHY .....	59

## **PARTE I**

### RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia Miranda



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**FM** – Farmácia Miranda

**GAU** – Gabinete de apoio ao utente

**MNSRM** – Medicamento não sujeito a receita médica

**MSRM** – Medicamento sujeito a receita médica

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## I. INTRODUÇÃO

O estágio curricular constitui a última etapa do plano de estudo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Nesta unidade curricular, somos desafiados a aplicar os conhecimentos adquiridos na nossa formação académica, e a ganhar as competências necessárias para sermos futuros farmacêuticos.

O farmacêutico é o especialista do medicamento e, é muitas vezes o último profissional que contacta com o utente antes da toma da medicação, cabendo ao farmacêutico dar todas as indicações para promover uma correta adesão à terapêutica. Para além disso é, também o farmacêutico a quem muitas vezes os utentes recorrem para aconselhamento, sendo este o único profissional em indicação farmacêutica.

Realizei o meu estágio curricular em farmácia comunitária de 11 de janeiro a 30 de abril na Farmácia Miranda. Escolhi esta farmácia porque, além da localização próxima à minha área de residência, também era do meu conhecimento a enorme adesão por parte de uma grande diversidade de utentes, e o profissionalismo e excelente aconselhamento dado pelos profissionais desta farmácia, que pude verificar durante um estágio de verão realizado no ano anterior.

O presente relatório consiste numa análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) que permite fazer uma análise crítica de todo o meu estágio.

## **2. ANÁLISE SWOT**

Através da análise SWOT farei uma análise interna dos pontos fortes e fracos que marcaram o meu estágio, bem como uma análise externa das oportunidades conferidas pelo estágio e, dos aspetos que considero terem afetado o meu desempenho.

### **2.1. PONTOS FORTES**

#### **2.1.1 Localização e horário de funcionamento**

A Farmácia Miranda (FM) localiza-se na Rua Dr. José Cerveira Lebre, na Mealhada. Localizando-se no centro desta cidade, encontra-se junto de diversas clínicas dentárias, um centro médico com diferentes especialidades, um hospital privado e uma extensão de saúde. Para além dos espaços de saúde em redor, a existência de um forte comércio e restauração, bem como de escolas desde o ensino pré-escolar ao secundário contribui para a enorme afluência de utentes à FM.

Durante o meu estágio contactei com uma população de utentes bastante heterogénea com diferentes idades e grau de literacia, contribuindo assim para a minha capacidade de adequar o discurso consoante o utente presente.

A FM tem um horário de funcionamento bastante alargado, funcionando uma semana das 8h15-22h e outra das 8h15-00h30. Encontra-se também aberta sábado e domingo, com horário das 8h15-20h (sábado) e 9h-19h (domingo), alargando o horário na semana de serviço para 8h15-00h30. Este horário alargado permitiu-me estagiar também ao fim de semana, contactando com utentes mais jovens, que se deslocam à farmácia para aconselhamento farmacêutico.

#### **2.1.2 Equipa de trabalho**

A equipa da FM é liderada pelo Diretor técnico, Dr. Diogo Luxo, e é constituída por sete farmacêuticos, uma técnica de farmácia, duas auxiliares de farmácia e um responsável pelo *backoffice* da farmácia.

Cada elemento da farmácia tem tarefas distintas e individualizadas, permitindo uma melhor gestão da farmácia e rentabilidade de cada área.

Toda a equipa contribuiu para a minha integração e aprendizagem, ajudando-me a consolidar e colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos na faculdade, bem como a aperfeiçoar o meu atendimento ao público.

No início do meu estágio, um elemento da equipa acompanhava os meus atendimentos ensinando-me a prestar um atendimento com maior rigor, a adequar a minha linguagem para um nível de entendimento simples e a trabalhar de forma mais autónoma com o *software* SIFARMA 2000® e com o novo módulo de atendimento SIFARMA®.

Esta equipa ensinou-me a importância de trabalhar de uma forma organizada, a nunca me conformar e procurar sempre aprender mais.

Levo deste estágio exemplos de profissionais de saúde de excelência, muito competentes e que exercem as suas funções em prol do bem-estar dos utentes.

### **2.1.3 Utentes da farmácia**

A FM é conhecida pelos seus profissionais experientes e empáticos e pela diversidade de produtos e serviços que oferece, razões estas que contribuem para o elevado fluxo de utentes.

A população que frequenta a FM é bastante heterogénea, no entanto ainda uma percentagem considerável diz respeito à população idosa. Tendo em conta o contexto pandémico que atravessamos, é de notar que muitos dos utentes idosos que se deslocam à FM encontram-se isolados dos seus familiares, sendo nós muitas vezes os únicos com quem estes conversam. Assim os atendimentos destes utentes eram ainda mais satisfatórios e gratificantes.

Com vista à satisfação dos utentes, a FM tem um cartão de fidelização, onde é acumulado dinheiro, que pode ser posteriormente descontado em todos os produtos da farmácia, exceto medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM).

Tive a oportunidade de criar vários cartões e aplicar descontos, permitindo-me contactar com uma diferente plataforma.

### **2.1.4 Plano de estágio**

A FM recebe estagiários há vários anos, por isso tem já definido um plano de estágio com o objetivo de maximizar a diversidade de tarefas desempenhadas pelo estagiário. A finalidade é proporcionar ao estagiário um plano completo, de forma que este fique a conhecer o circuito do medicamento dentro da farmácia e a atividade quotidiana do farmacêutico.

Ao longo do estágio realizei tarefas de gestão e aprovisionamento dos medicamentos, receção de encomendas, gestão de devoluções, preparação individualizada da medicação, medição de parâmetros bioquímicos e atendimento ao público e aconselhamento.

### Atividades de gestão e organização da farmácia

No início do meu estágio, tive a oportunidade de rececionar encomendas e de executar encomendas diárias, instantâneas e diretas ao laboratório, bem como realizar transferências para a outra farmácia do mesmo grupo. Durante a gestão de encomendas aprendi a importância de gestão de *stocks*, de estabelecer *stocks* mínimos e máximos de forma a assegurar *stock* necessário para satisfazer as necessidades dos utentes da farmácia e garantir a rentabilidade desta. Contactei com termos como preço de venda à farmácia, preço de venda ao público e margens de lucro.

Durante o armazenamento de produtos e aliada à tarefa gestão de prazos de validade, percebi a importância de armazenar os produtos segundo o princípio “*first expire, first out*”, de forma a escoar primeiro os produtos com prazo de validade mais curto. Na FM, a existência de um *robot* permite armazenar uma grande percentagem de MSRM e medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), sendo apenas necessário arrumar produtos com dimensões não compatíveis com o *robot* e produtos de frio.

Tive oportunidade de participar na gestão de psicotrópicos, na conferência de receituário e tratamento de dados de temperatura e humidade dos frigoríficos e armazém.

A realização destas tarefas permitiu-me compreender a importância do *backoffice* no suporte ao atendimento e deu-me oportunidade de me familiarizar com alguns nomes comerciais e correlacioná-los com os respetivos princípios ativos.

### Preparação individualizada da medicação

Ao longo do estágio tive a oportunidade de preparar semanalmente as caixas de medicação para os utentes que recorriam a esse serviço, contribuindo para uma melhoria da adesão do utente à terapêutica.

### Prestação de outros serviços farmacêuticos

O trabalho prestado na farmácia comunitária é mais do que dispensar medicamentos, passa também por prestar serviços farmacêuticos de promoção da saúde e bem-estar dos utentes.

A FM oferece vários serviços, tais como medição de parâmetros bioquímicos, medição da tensão arterial, determinação do índice de massa corporal, consultas de nutrição e massagens.

Durante o estágio realizei medições de glicémia, colesterol, perfil lipídico e tensão arterial no gabinete de apoio ao utente (GAU), onde além de praticar as técnicas de medição

destes parâmetros pude estabelecer um contacto mais próximo com os utentes da FM. Contactei com utentes que se deslocavam diariamente à farmácia para medição de tensão arterial e glicémia, sendo para mim bastante satisfatório observar o impacto da medicação e da alteração de estilo de vida nos valores dessas medições.

#### Dispensa de medicamentos para lares

A FM dispensa medicamentos para dois lares de freguesias em redor, permitindo numa fase inicial do estágio o contacto com o SIFARMA 2000® sem a pressão de estar perante o utente.

#### Atendimento

O atendimento foi sem dúvida a tarefa mais desafiante e enriquecedora, onde tive a oportunidade de colocar em prática e aprofundar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso. Durante o atendimento temos que manter um sentido crítico perante as queixas do utente e, mesmo perante as receitas apresentadas, temos que ser capazes de estabelecer um diálogo claro, adequado ao utente e empático.

Numa fase inicial do estágio, comecei por assistir aos atendimentos efetuados pelos elementos da equipa, começando a contactar com as diversas funcionalidades do SIFARMA 2000® e do novo módulo de atendimento SIFARMA®, foi-me também transmitida a melhor forma de abordar os utentes e as questões mais pertinentes que devemos colocar. Aprendi também a interpretar corretamente as diferentes receitas médicas.

Quando comecei a sentir mais confiança passei a realizar os atendimentos, inicialmente acompanhada e depois sozinha, sendo que sempre que precisava de ajuda a equipa estava pronta a auxiliar-me.

Durante os atendimentos tomei consciência que muitas vezes os utentes não cumprem as indicações prestadas pelo médico ou farmacêutico, sendo necessário aquando da dispensa da medicação alertar o utente para a toma correta da medicação, passando muitas vezes pelo simples ato de escrever nas caixas a posologia.

Muitas vezes os utentes deslocam-se à farmácia procurando aconselhamento farmacêutico. Na indicação farmacêutica é importante abordar o utente relativamente ao motivo da consulta, sintomas, duração, outros problemas de saúde e existência de episódios semelhantes no passado. Após reunir toda a informação, procurava o melhor caminho a seguir: aconselhamento de medidas não farmacológicas, cedência de MNSRM ou referência para o médico ou outro profissional de saúde especializado.

Na cedência de um MNSRM é importante explicar ao utente a posologia e a forma correta de administração do medicamento e alertá-los para a necessidade de consultarem um médico caso os sintomas não melhorassem.

#### Organização do espaço da farmácia

O espaço da farmácia encontra-se dividido em 6 grandes secções: dermocosmética, puericultura, higiene oral, suplementos alimentares, veterinária e produtos ortopédicos. Estes espaços encontram-se devidamente identificados para que o utente rapidamente os identifique, nomeadamente a secção de dermocosmética encontra-se dividida por marcas, cada uma identificada com o seu logo. Além destas secções, também existe uma secção de lineares reservados a artigos sazonais, tendo participado diversas vezes na sua organização, adequando os produtos à estação.

A montra da farmácia era frequentemente alterada de modo a atualizar os utentes face às promoções em vigor, assim como as prateleiras destinadas aos produtos em campanha.

A organização das montras e lineares permitiu-me aplicar os conhecimentos adquiridos em unidades curriculares como *marketing* e organização e gestão farmacêutica.

#### **2.1.5. Robot e Cash Guard**

A FM possui dois sistemas de tecnologia, o *robot* e o *Cash Guard*.

O *robot* permite armazenar uma grande quantidade de MSRM e MNSRM e encontra-se ligado ao SIFARMA 2000®, permitindo a gestão dos medicamentos através deste programa. A entrada no *robot* é efetuada por um elemento da equipa e a sua saída é feita de acordo com o prazo de validade.

Este sistema além de permitir uma melhor gestão do espaço e dos prazos de validade, permite diminuir a probabilidade de seleção errónea de medicamento com dosagens, nomes ou embalagens semelhantes.

Considero que o *robot* permite um atendimento mais focado no utente, em que o tempo gasto na procura do medicamento no armazém pode ser utilizado em conversa com o utente.

O sistema *Cash Guard* permite armazenar todos os lucros e movimentos diários de cada colaborador da farmácia, facilitando os trocos e fechos de caixa.

Considero estes dois sistemas um ponto forte no meu estágio, pois auxiliou-me bastante nos meus atendimentos, permitindo-me focar mais no utente. O *Cash guard* facilitou-

me os trocos e devoluções, diminuindo a probabilidade de erros de caixa, e é sem dúvida um aliado na altura do fecho de caixa diário.

## **2.2 PONTOS FRACOS**

### **2.2.1 Preparação de medicamentos manipulados**

Com a evolução da indústria farmacêutica, o número de pedidos de medicamentos manipulados diminuiu bastante. Ao longo do meu estágio, apenas tive a oportunidade de participar na preparação de um manipulado, solução alcoólica a 70° de ácido bórico à saturação, utilizado para o tratamento de otites externas.

Durante essa preparação, foi-me explicado todo o procedimento de preparação, o cálculo do PVP e os dados a inserir no rótulo, tendo por base a Portaria n.º769/2004 de 1 de julho [1] e a Portaria n.º594/2004 de 2 de julho [2].

Considero, então, um ponto fraco não ter tido a oportunidade de preparar mais medicamentos manipulados.

## **2.3 OPORTUNIDADES**

### **2.3.1 Participação em formações**

Devido ao constante lançamento de novos produtos e ao rigor subjacente ao atendimento em farmácia, a profissão farmacêutica exige uma atualização constante. A FM promove formações individuais e, em grupo com o objetivo de manter a sua equipa devidamente informada e atualizada.

Ao longo do meu estágio participei em diversas formações, nomeadamente Laboratoire Native® (gama completa da Phyto®), ISDIN® (gama fotoproteção), Bayer® (gama Canesten®), Fresenius Kabi® (Fresubin®: “terapêutica nutricional adaptada a cada doente”), Bioderma®, Uriage® (gama Bariéderm®).

Tive também oportunidade de me inscrever na plataforma *online* Cosmética Activa, que oferece formações das marcas Vichy®, La Roche-Posay®, Skinceuticals® e Cerave®.

Para mim a participação nestas formações foi muito proveitosa e enriquecedora, pois tive oportunidade de conhecer e/ou recordar novos produtos de diferentes de marcas e os seus mecanismos de ação e indicações terapêuticas. Contribuíram assim para o sucesso dos meus atendimentos, permitindo um aconselhamento com maior rigor.



## **2.4. AMEAÇAS**

### **2.4.1. Informação de preços nas guias de tratamento**

Na guia de tratamento, encontra-se a informação relativa ao preço máximo que o medicamento deverá custar, no entanto esse valor refere-se ao medicamento mais barato que muitas vezes nem se encontra comercializado.

Ao longo do meu estágio, deparei-me com várias situações, em que o utente mostrou desagrado por estar a pagar mais do que o preço mencionado na guia.

Muitas vezes, após a minha explicação o utente compreendia, no entanto, senti que alguns utentes ficavam desconfiados.

### **2.4.2. Interpretação das receitas manuais**

Apesar de a grande maioria das receitas prescritas serem eletrónicas, ainda chegam à farmácia receitas manuais.

As receitas eletrónicas permitem minimizar os erros durante o atendimento, pois após a inserção dos códigos de acesso da receita, obtemos a informação dos medicamentos prescritos, do número de embalagens, do prazo de validade da prescrição, informação do utente e prescriptor e planos de comparticipação associados a essa receita.

No caso da receita manual todos os dados têm de ser verificados e inseridos pelo farmacêutico, sendo da sua responsabilidade verificar se todos os campos estão devidamente bem preenchidos.

Numa fase inicial do estágio, a interpretação destas receitas era bastante desafiante, não só pela quantidade de detalhes a ter em atenção, mas também pela caligrafia das mesmas. No entanto, após contactar com algumas receitas manuais, tornou-se mais fácil e ganhei mais confiança.

### 3. CASOS PRÁTICOS

**Caso 1:** Utente sexo feminino, com cerca de 30 anos, dirige-se à farmácia com queixas de infeção urinária, solicitando um antibiótico.

Questionei a utente em relação aos sintomas que tinha, e esta referiu que sentia uma sensação de peso e desconforto na zona da bexiga, vontade constante de urinar e sensação de ardor, sintomas que começaram a manifestar-se na noite anterior. Quando questionada acerca da presença de sangue na urina, a utente disse que não.

Após análise da sintomatologia da utente e explicando a impossibilidade de ceder um antibiótico, aconselhei a toma de Cistisil<sup>®</sup>, duas vezes ao dia. O Cistisil<sup>®</sup> é um suplemento alimentar composto por complexo de arando vermelho, uva-ursina, cavalinha e fruto-oligossacáridos (FOS) [3]. O arando-vermelho tem demonstrado efeitos benéficos no tratamento e prevenção da infeção urinária ao impedir a adesão de bactérias às paredes da bexiga.

Reforcei a importância da ingestão abundante de água, não retardar o ato de urinar, evitar o uso de roupas justas e uma correta higienização da zona íntima, inclusive após relações sexuais.

Alertei para que caso os sintomas persistissem ou piorassem para se deslocar ao médico.

**Caso 2:** Utente sexo feminino, 76 anos, aflita, queixa-se de obstipação há cerca de 5 dias, sentindo desconforto na região abdominal e dor na região anal ao tentar defecar. Dada a sua indisposição a utente pedia algo que atuasse rapidamente. Aconselhei a administração de 1 bisnaga de Microlax<sup>®</sup> [4], um laxante de contacto, que pelo facto de ser uma bisnaga que se insere diretamente no ânus, atua amolecendo as fezes que se encontram na zona do cólon e reto, e tem um efeito rápido de 5 a 20 minutos após administração. Dado que a utente se queixa que a obstipação é recorrente, aconselhei a toma de Laevolac<sup>®</sup> [5] uma saqueta por dia até terminar a caixa. O Laevolac<sup>®</sup> é um laxante osmótico constituído por lactulose, e é por isso menos irritante para o intestino, podendo ser usado de forma prolongada.

Para além das medidas farmacológicas aconselhadas, reforcei a importância de uma dieta rica em fibras, ingestão de água e, ainda aconselhei que a utente tenta-se defecar sempre à mesma hora para “reeducar” o intestino.

**Caso 3:** Utente sexo masculino, cerca de 30 anos, queixa-se de corrimento nasal, nariz entupido e espirros, referiu ainda que já é costume ter estes sintomas na altura da Primavera. Aconselhei a toma de HeperPoll® [6] 1 vez por dia, composto por cetirizina, um anti-histamínico oral de segunda geração, que por não atravessar a barreira hematoencefálica não causa sonolência, no entanto aconselhei na mesma a sua toma à noite. Aconselhei juntamente o *spray* nasal Vibrocil® [7] anti-alergias, constituído por um corticosteroide, o propionato de fluticasona, que exerce uma ação anti-inflamatória local, o que vai diminuir a inflamação da mucosa nasal e, conseqüentemente, melhorar os sintomas de nariz entupido e congestão nasal.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estágio curricular em farmácia comunitária foi uma experiência muito enriquecedora, que sem dúvida teve um papel crucial no meu desenvolvimento enquanto futura farmacêutica. Ao longo do estágio pude aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos durante os quatro anos e meio de formação académica.

A minha experiência na farmácia fez-me admirar ainda mais o papel do farmacêutico na sociedade. O trabalho do farmacêutico vai muito além da dispensa de medicamentos, este é também agente promotor da saúde e, é muitas vezes o primeiro profissional de saúde a quem o utente recorre para esclarecimento de dúvidas e aconselhamento. O papel multidisciplinar do farmacêutico foi-me transmitido durante o estágio, pois além de o farmacêutico ser o especialista do medicamento, também desempenha na farmácia tarefas de gestão.

Neste tempo de pandemia, o farmacêutico viu o seu papel enaltecido: as farmácias mantiveram-se abertas; foram adotadas medidas para entrega de medicamentos e produtos ao domicílio; muitos utentes, principalmente idosos, que viviam sozinhos deslocavam-se à farmácia e viam no farmacêutico um ouvinte para conversarem.

O sucesso do meu estágio deve-se à excelente equipa da FM, a quem eu deixo um enorme agradecimento, fizeram-me sentir integrada, deram-me autonomia para realizar as tarefas e sempre se mostraram disponíveis para esclarecimento de dúvidas. Com esta equipa aprendi a importância de investirmos continuamente na nossa formação, tendo como principal foco o utente.

Graças a este estágio, sinto-me mais preparada para o futuro enquanto farmacêutica e profissional de saúde.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. **Portaria n.º 769/2004**, de 1 de julho. Diário da República: Série I-B, n.º 153. [Acedido a 15 de agosto de 2021]. Disponível na internet: <https://dre.pt/application/conteudo/517633>
2. **Portaria n.º 504/2004**, de 2 de julho. Diária da República: Série I-B, n.º 124. [Acedido a 15 de agosto de 2021]. Disponível na internet: <https://dre.pt/application/conteudo/261875>
3. SILFARMA - **Cistisil**. [Acedido a 16 de agosto de 2021]. Disponível em: <https://silfarmaplus.pt/produto/cistisil/>
4. INFARMED, I.P. - **Resumo das Caraterísticas do Microlax®**. [Acedido a 16 de agosto de 2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
5. INFARMED, I.P. – **Resumo das Características do Laevolac®**. [Acedido a 16 de agosto de 2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
6. INFARMED, I.P. – **Resumo das Características do HeperPoll®**. [Acedido a 16 de agosto de 2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
7. INFARMED, I.P. – **Resumo das Características do Vibrocil® anti-alergias**. [Acedido a 16 de agosto de 2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>

## **PARTE II**

### **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**

**Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S.A**

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**API** – Princípio ativo

**DG** – Desenvolvimento galénico

**FFUC** – Faculdade de farmácia da Universidade de Coimbra

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## INTRODUÇÃO

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas constitui o contacto do estudante com o mercado de trabalho, permitindo a este desenvolver competências necessárias para o seu futuro enquanto mestre em ciências farmacêuticas.

Ao longo do meu percurso académico percebi que o farmacêutico pode intervir em diversas áreas do ciclo do medicamento, não se restringindo apenas a farmácia comunitária, como tipicamente associado.

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) permite ao estudante explorar as diversas saídas profissionais, criando oportunidades de estágio não só em farmácia comunitária e farmácia hospitalar, mas também estabelecendo protocolos com diversas entidades permitindo aos seus estudantes a realização de estágios em diversos setores.

Sendo do meu interesse e curiosidade em aprofundar os meus conhecimentos na área da indústria, decidi realizar um estágio na Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S.A. Este estágio decorreu de 5 de maio a 30 de julho, estando enquadrada no departamento de desenvolvimento galénico (DG), mais especificamente na área de Tecnologias Diferenciadas.

A Bluepharma é uma indústria farmacêutica que iniciou a sua atividade em 2001 após aquisição das instalações pertencentes à multinacional Bayer, encontra-se sediada em São Martinho do Bispo, Coimbra. A sua atividade passa pela produção de medicamentos próprios e para terceiros, investigação, desenvolvimento e registo de medicamentos e comercialização de medicamentos genéricos. [1]

A missão da Bluepharma visa a inovação e internalização, com isto em mente, o desenvolvimento galénico é crucial na formulação de novos medicamentos genéricos, contribuindo para a expansão do portfólio da Bluepharma. [2]

No presente relatório irei fazer uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), onde irei analisar os pontos críticos do meu estágio.



## **ANÁLISE SWOT**

Através de uma análise SWOT fundamentada irei analisar os pontos fortes e fracos que marcaram o meu estágio e a minha prestação, bem como as oportunidades que este me conferiu e os aspetos extrínsecos que ameaçaram o meu desempenho.

### **2.1 PONTOS FORTES**

#### **2.1.1. Plano de integração**

A Bluepharma elabora planos de integração individuais tanto para estagiários como novos colaboradores, o objetivo é de enquadrar os novos elementos dentro da empresa, transmitir a missão e valores da Bluepharma e, a nível mais particular, abordar certos conceitos que serão necessários às futuras funções que o colaborador irá desempenhar.

No início do estágio, fui recebida por um elemento dos recursos humanos que fez uma breve apresentação relativa à história da Bluepharma, sendo de seguida encaminhada para a minha mentora, Dra. Ana Cidália Martins. O facto de cada estagiário ter o seu mentor ajuda bastante no processo de integração, pois é este quem nos faz a visita às instalações e aos vários departamentos, apresenta-nos aos membros de diferentes equipas e nos orienta nas primeiras tarefas.

O plano de integração visou um conjunto de formações sobre conceitos importantes para o meu desempenho dentro da empresa.

#### **2.1.2. Equipa de trabalho**

Desde o dia em que ingressei na Bluepharma senti-me integrada na equipa, todos os colaboradores proporcionaram um ambiente de compreensão, entreaajuda, cumplicidade e partilha de conhecimentos.

O sucesso do meu estágio devo-o a toda a equipa, além de me facultarem todo o conhecimento científico, com eles aprendi a trabalhar em equipa, a adotar medidas que possibilitem um ambiente de trabalho mais organizado e com um máximo de rigor.

#### **2.1.3. Formações internas**

Ao longo do estágio tive oportunidade de assistir a diversas formações, para além das formações inerentes ao plano de integração. Destaco as formações “Melhoria contínua”, “Regras e procedimentos laboratoriais” e “Ambiente, saúde e segurança no trabalho”.

Tive também oportunidade de assistir a uma formação de *R Studio*, ministrada por um aluno do mestrado em estatística médica, onde foi abordado os métodos estatísticos que se utilizam para demonstração de bioequivalência entre um medicamento genérico e um inovador, nomeadamente o *bootstrap*.

Assisti também a um conjunto de participações, ministradas por elementos da equipa de Investigação e Desenvolvimento da Bluepharma, que tinham como suporte apresentações da *12th PBP World Meeting*.

É de realçar a oportunidade que me foi dada de fazer uma apresentação intitulada “*Introduction of generic liposome formulations: Differences between the EMA regulation and FDA regulation*”.

#### **2.1.4. Aquisição de conhecimentos sobre o desenvolvimento de formulações lipossomais**

Na Bluepharma os projetos são denominados por “Blue” por uma questão de confidencialidade.

Ao longo do meu estágio pude participar no desenvolvimento de duas formulações lipossomais com características muito diferentes.

O BlueCI02 é uma formulação constituída por vesículas multilamelares, preparado por *ethanol injection*, em que a entrada do princípio ativo (API) ocorre depois da formação das vesículas por diferenças de gradiente de pH. Pude também contactar com um extrusor de membranas, utilizado para homogeneizar o tamanho de partículas. Ao longo desta preparação tive oportunidade de manusear o API dentro de uma *glove box* e de adotar as medidas de segurança inerentes à sua manipulação.

O BlueCI04 é uma formulação constituída por lipossomas multivesiculares, cuja preparação consiste numa dupla-emulsão, seguida de evaporação do solvente, terminando com o processo de filtração tangencial. Neste procedimento tive oportunidade de utilizar um homogeneizador de alta velocidade, nomeadamente o Politron®.

#### **2.1.5. Autonomia e espírito crítico**

Após a semana de integração, em que tive oportunidade de compreender os procedimentos internos da Bluepharma, as regras básicas de segurança no laboratório e os fundamentos teóricos dos projetos em desenvolvimento, comecei a contactar com a prática laboratorial.

Fui sempre incentivada a trabalhar de forma autónoma e proativa, com certeza de que tinha o apoio da equipa para qualquer esclarecimento. Durante as primeiras semanas, sempre que íamos trabalhar na produção de determinada formulação era-me feito um resumo de todos os passos, de forma a consolidar o processo e puder contribuir durante a sua realização.

Desde cedo percebi a importância de desenvolver espírito crítico, nomeadamente no setor de desenvolvimento galénico, é muito importante saber interpretar os resultados e investigar eventuais problemas e soluções para obter os resultados pretendidos.

Tive oportunidade de auxiliar na preparação de métodos de investigação de determinadas características da formulação. Ressalvo, o método desenvolvido para determinação de pH interno da formulação de BlueCI04 e do seu correspondente medicamento inovador.

## **2.2 PONTOS FRACOS**

### **2.2.1 Duração do estágio**

A curta duração do estágio é sem dúvida um ponto fraco, embora compreensível considerando a duração obrigatória do estágio em farmácia comunitária.

Considero que um estágio de 3 meses em indústria limita uma aprendizagem mais aprofundada, pois as primeiras semanas são de integração à empresa e ao respetivo departamento, e não sobra muito tempo para consolidarmos as nossas aprendizagens e colocá-las em prática no nosso trabalho.

## **2.3. OPORTUNIDADES**

### **2.3.1 Desenvolvimento de competências extracurriculares**

Além dos conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do estágio, constatei que existem *soft-skills* que são muito importantes para o desenvolvimento do nosso trabalho em indústria.

Sendo a indústria farmacêutica constituída por diferentes departamentos que trabalham em conjunto, é muito importante a comunicação, entreaajuda e espírito de equipa. Trabalhando num ambiente partilhado por várias pessoas, percebi a importância de organização e colaboração para garantir o sucesso do nosso trabalho.

A indústria farmacêutica depende muito de prazos, por isso é crucial uma boa gestão do tempo, para que o nosso horário de trabalho renda ao máximo, e não deixemos outros departamentos que dependem do nosso trabalho em espera.

Compreendi a importância do domínio do inglês, principalmente na área do desenvolvimento galénico, pois uma componente do trabalho consiste na pesquisa de artigos, além disso muito dos clientes e parceiros da Bluepharma são estrangeiros.

Durante o estágio percebi a importância de desenvolver estas características e aprendi a valorizá-las ainda mais.

### **2.3.2 Metodologia Kaizen**

A Bluepharma tem implementado a metodologia *Kaizen*, uma filosofia de melhoria contínua de origem japonesa desenvolvida por Masaaki Imai, cuja missão é mudar (“*Kai*”) para melhor (“*Zen*”). [3]

No DG, as reuniões ocorriam diariamente às 14h, via *Microsoft Teams*<sup>®</sup> (adaptação face ao contexto pandémico COVID-19) juntamente com a equipa do desenvolvimento analítico alocada aos nossos projetos. Nessas reuniões os vários elementos da equipa exponham o seu trabalho, possíveis problemas e constrangimentos, e a equipa debatia soluções e próximos passos a seguir. As reuniões eram de curta duração, 15 minutos, mas eram muito importantes, para que toda a equipa do galénico e analítico pudessem estar informados e contribuir no desenvolvimento dos projetos.

Estas reuniões permitiram-me ficar a conhecer os diferentes projetos, assimilar os conhecimentos que me iam sendo transmitidos e puder contribuir com possíveis soluções.

### **2.3.3 Conhecimentos em *Microsoft Excel*<sup>®</sup>**

No decorrer do estágio utilizei diversas vezes o *Microsoft Excel*<sup>®</sup> para tratamento de dados decorrentes dos nossos ensaios, pelo que compreendi a importância desta ferramenta, tendo constatado algumas lacunas da minha parte, no manuseamento de uma folha de cálculo excel.

Aprendi diversas funcionalidades, tais como construção de gráficos e sua manipulação, introdução de fórmulas e aplicação de filtros para seleção de informações específicas.

As competências adquiridas serão certamente necessárias para o meu futuro profissional.

## **2.4. AMEAÇAS**

### **2.4.1. COVID-19**

Devido ao contexto pandémico, era dada preferência ao teletrabalho sempre que as atividades não exigissem a permanência nas instalações na Bluepharma. Com o aumento dos casos de COVID-19 na região de Coimbra e dentro da Bluepharma, após sensivelmente 1 mês de estágio, foi necessário tomar novas medidas para evitar o cruzamento de turnos, com isso acabei por não contactar com vários colegas, para além de ter de realizar parte do estágio em casa.

Atividades de *team building* acabaram sendo canceladas devido à evolução negativa do número de casos.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estágio curricular em indústria farmacêutica na Bluepharma permitiu-me compreender o papel do farmacêutico dentro da indústria, e conhecer diferentes possíveis saídas profissionais.

A minha experiência no departamento de desenvolvimento galénico foi bastante enriquecedora e desafiante. Pude aplicar conhecimentos adquiridos ao longo da minha formação académica, bem como aprofundar e adquirir novos conhecimentos e competências.

É de realçar que a confiança depositada em mim pelos elementos da equipa do DG, contribui para desenvolver o meu espírito crítico e autonomia. Graças a esta equipa, percebi o quão importante um bom ambiente de trabalho é para o desempenho e motivação de cada um.

Levo deste estágio aprendizagens e conselhos que contribuíram para o meu enriquecimento pessoal e profissional, e que certamente me tornarão melhor farmacêutica.

Deixo o meu agradecimento à FFUC por me ter proporcionado um estágio nesta área e também à equipa do DG pelo constante apoio, partilha de conhecimentos e confiança depositada em mim e no meu trabalho, culminando num estágio inesquecível.

#### 4. BIBLIOGRAFIA

1. BLUEPHARMA – **Quem Somos**. [Acedido a 25 de agosto 2021] – Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>
2. BLUEPHARMA – **Missão, Visão e Valores**. [Acedido a 25 de agosto 2021] – Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-mvv.php>
3. KAIZEN INSTITUTE – **Sobre nós**. [Acedido a 29 de agosto de 2021] – Disponível em: [https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen.html#definition\\_kaizen](https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen.html#definition_kaizen)

## **PARTE III**

“Nanotechnologies to overcome the Blood Brain Barrier  
and the Blood Retinal Barrier”



## LIST OF ABBREVIATIONS

**AMD** - Age-related macular degeneration

**ApoE** - Apolipoprotein E

**BBB** - Blood brain barrier

**BOB** - Blood ocular barrier

**BRB** - Blood retinal barrier

**cGMP** - Cyclic guanosine- 3',5'-monophosphate

**CNS** - Central nervous system

**CNV** - Choroidal neovascularization

**CPP** - Cell penetrating peptide

**CSF** - Cerebrospinal fluid

**DEACM** - 7-(diethylamino) coumarin-4-yl] methyl carboxyl

**DOX** - Doxorubicin

**DR** - Diabetic retinopathy

**EBD** - Evans blue dye

**GA** - Gambogic acid

**GBM** - Glioblastoma multiforme

**GLUTs** - Glucose transporters

**InR** - Insulin receptor

**LDLR** - Low density lipoprotein receptor

**MMP-9** - Matrix metalloproteinase-9

**MNP** - Magnetic nanoparticles

**MPS** - Mononuclear phagocyte system

**MPSI** - Mucopolysaccharidosis Type I

**NaF** - Sodium fluorescein

**NP** - Nanoparticle

**P2Ns** - Precision-polyester nanoparticles

**PAMAM** - Poly(amidoamine)

**PEG** - Polyethylene glycol

**Pg-p** - P-glycoprotein

**PKG** - Protein kinase G

**RGD** - Arginine–glycine–aspartic acid

**RP** - Retinitis pigmentosa

**SGLTs** - Sodium-dependent glucose transporters

**Tf** - Transferrin

**TfR** - Transferrin receptor

**TRH** - Thyrotropin-releasing hormone

**VEGF** - Vascular endothelial growth factor

## RESUMO

O aumento da prevalência de doenças relacionadas com o envelhecimento da população, tal como doenças neurodegenerativas e doenças degenerativas da retina levou a um crescente interesse em otimizar o tratamento destas.

No entanto, a entrega de fármacos no cérebro e no olho não é assim tão linear, devido à presença de barreiras que protegem estes órgãos.

Tornou-se, portanto, necessário desenvolver estratégias para a formulação de fármacos eficazes no tratamento destas doenças.

A utilização de nanotecnologia para o tratamento de doenças tem crescido nos últimos anos. O uso de nanopartículas tem provado um enorme potencial em melhorar a farmacocinética do fármaco e a sua veiculação.

Devido às suas características, o uso de nanopartículas para o tratamento de doenças do sistema nervoso central e da retina tem sido imensamente estudado.

Esta revisão pretende abordar as dificuldades em ultrapassar as barreiras que protegem o cérebro e o olho, bem como os vários estudos de desenvolvimento de nanopartículas com o objetivo de formular estratégias terapêuticas para o tratamento de doenças neurodegenerativas e doenças degenerativas da retina.

**Palavras-chave:** Barreira hematoencefálica, barreira hemato-retiniana, nanopartículas.

## **ABSTRACT**

The increasing prevalence of diseases related to an aging population, such as neurodegenerative diseases and retinal degenerative diseases, has led to a growing interest in optimizing their treatment.

However, drug delivery to the brain and eye is not that easy, due to the presence of barriers that protect these organs. Therefore, it became necessary to develop strategies for the formulation of effective drugs in the treatment of these diseases.

The use of nanotechnology to treat diseases has grown interest in recent years. The use of nanoparticles has proven an enormous potential in improving drug pharmacokinetics and its delivery.

Due to their characteristics, the use of nanoparticles for the treatment of diseases of the central nervous system and the retina has been extensively studied.

This review intends to address the difficulties in overcoming the barriers that protect the brain and the eye, as well as the various studies on the development of nanoparticles with the aim to formulate therapeutic strategies for the treatment of neurodegenerative diseases and retinal degenerative diseases.

**Keywords:** Blood brain barrier, blood retinal barrier, nanoparticles.

## INTRODUCTION

The administration of pharmacologic molecules involves crossing one or more biological barrier. These barriers have different characteristics, therefore, the mechanism to overcome them varies from tissue to tissue.[1]

Towards these difficulties, the idea to create more efficient drug delivery systems became necessary to improve the therapeutic effect of molecules.

The development of drug delivery systems aims to improve the ability of the drug to reach the target, diminishing the side effects and allowing the transport across biological barriers.

When developing a successful drug delivery system, some aspects must be taken in account, such as the drug, vehicle, physiological barriers, biomarkers and pathophysiology of the disease.[2]

Nanomedicine as a drug delivery system has started to grown interest in the early 2000s, with the Doxil<sup>®</sup> approval in 1995. In the present day, over 20 nanomedicines are in the market and over 40 are in ongoing clinical trials, being the cancer the most attracted area.[3,4]

Nanotechnology has been used to enhance poor soluble drug, control drug release, enable transport across biological barriers and combined therapy.[5] Nanoparticles have proven to be a successful drug delivery system, due to their small size and high surface ratio.[6,7] Besides improving delivery of current drugs, nanotechnology has enable the development of new classes of bioactive macromolecules and with applications in diagnostic.[2]

Apart from the NP small size, NP have the capability to enhance the performance of a drug using different approaches: the drug molecule can be trapped inside the NP, protecting the molecule from environment degradation; the surface can be modified with specific receptors to increase the ability to reach the target.[7]

The NP formulations are complex, and because of that, during the development some aspects need to be taken in account: physicochemical properties, sterility, stability, and drug release.[8]

The evaluation of these aspects is important to assess the toxicity of these nanoparticles, therefore the development of qualified characterization methods is crucial.[9] With the exponential growth of the nanotechnology, several studies had been focusing on

their safety. The major issue regarding toxicity is the accumulation of the NPs in organs, such as spleen, kidneys, liver, and lungs. This toxicity seems to be dependent on the size, shape, surface charge and aggregation state of the NP.[10]

When the nanoparticle enters the body contacts with the biological fluids and forms a layer with the biomacromolecules present in the fluids, called protein corona. This protein layer modifies the physicochemical characteristics of the NP and can induce changes in the endogenous biomolecules that contacts with the NP. Also, the protein corona can induce protein aggregation, therefore these aspects can pose safety problems. However, there is evidence that shows correlation between the density of the protein corona and the decrease in toxicity, the interaction between the NP and the circulant proteins limits the interaction between the NP and tissue.[11]

Several NPs showed ability to induce oxidative stress with the production of reactive oxygen species, epigenetic modifications, and production of inflammatory mediators.[12]

Some strategies can be used when developing a NP formulation to minimize the toxicity: surface protection (eg. PEGylation) and conjugation with targeting moieties.[9]

Besides the safety issues, NPs offers multiple benefits in allowing a site-specific delivery with subsequent decrease in side effects. Some of the NPs in use are polymeric NPs, liposomes, and solid NPs.

With the aging of the population, the prevalence of age-related disorders has increase, such as Alzheimer's and Parkinson's diseases. The problem is not only with central nervous system (CNS) diseases but also with ocular diseases, like age-related macular degeneration and glaucoma.[13]

The treatment of these diseases presents some issues regarding the ability to target the affected cells, due to the presence of the biological barriers.

The brain is protected from the blood circulation due to the blood brain barrier (BBB). This barrier is important to protect the brain from toxic substances, however, consequently this barrier limits the delivery of drugs.[14]

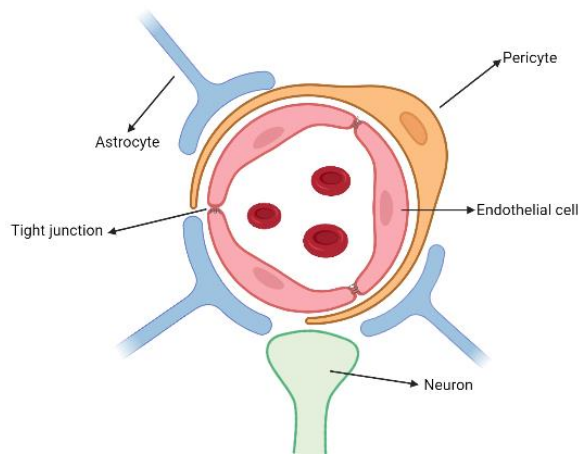
In the eye, the existence of a similar barrier, the blood retinal barrier poses the similar delivery problems.

To overcome these problems, the development of nanoparticles presents an attractive approach to delivery drugs to these organs.

## BLOOD BRAIN BARRIER

The Blood Brain Barrier is an important structure that contributes to homeostasis and protection of the brain. [15] The barrier is formed by capillary endothelial cells, pericytes, astrocytes, neuronal cells, and perivascular macrophages.[16]

The endothelial cells are connected by tight junctions forming continuous nonfenestrated vessels. This strong system limits the diffusion of molecules and ions, by limiting the paracellular transports.[17]

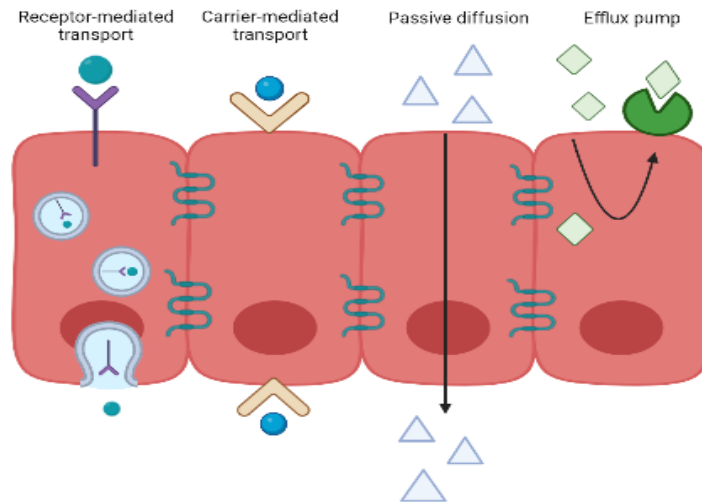


**Figure 1** - Schematic representation of the BBB. In blue is represented the astrocytes; green is a neuron; orange is the pericyte; the endothelial cells are in pink with tight junctions between them. Created in biorender.

The transport between the blood and the brain involves passive diffusion, transporters, and receptors.

There are carrier-mediated transporters, receptor-mediated transporters, and efflux transporters.[14]

The carrier-mediated transporters are responsible for the transportation of glucose, aminoacids, hormones, fatty acids, nucleotides, ions and vitamins.



**Figure II** - Schematic representation of the type of transporters in the BBB. Created in Biorender.

Some of the main explored receptors and transporters include the transferrin receptor, insulin receptor, low density lipoprotein receptor and the glucose transporter.[18]

#### Transferrin receptor

The Transferrin's receptor-mediated transcytosis has been intensively investigated due to its higher expression on BBB.[19]

Transferrin (Tf) is a glycoprotein responsible for the transport of ferric iron, each protein can bind to two iron atoms. [20] This binding is pH dependent, at a pH of 7.4 the iron-transferrin binding is almost irreversible, however at a pH lower than 6.5 the transferrin releases the iron.[21]

The Tf-receptor (TfR) can bind to two molecules of Tf, so in total the TfR can internalize four ferric iron.

Davis *et al.* conducted a study where they demonstrate that Tf containing gold particles are capable to pass through the BBB, [22] further in another study conducted by the same group, they verify that by incorporating a pH sensitive linker between the Tf and the AuNP core the transport of the gold nanoparticles into the brain would increase. This linker will permit high-avidity interaction with TfR on the blood side and once within endothelium the linker will cleave, dissociating the Tf from the nanoparticle core.[19]

However, under physiological conditions the TfR is almost saturated, so to overcome this problem, some studies are being conducted using monoclonal antibodies, like OX26, an antibody that recognize a binding site different from the natural ligand Tf.[21]



### Glucose transporter

The brain depends on glucose as an energy source, using around 100-150 g of glucose per day.[23]

Glucose reaches the brain by two types of transporters: uniporter glucose transporters (GLUTs) and sodium-dependent glucose transporters (SGLTs).

In the brain, the transporters GLUT1 and GLUT3 play a major role in the glucose uptake via facilitated diffusion.[24]

Using endogenous transporters has a problem since they are generally highly stereospecific for their natural substrate. To overcome this problem certain modifications must be made: pro-drug approach.[23]

Some strategies have been developed like synthesis of liposomes from glucose derivatives of cholesterol to encapsulate drugs targeting GLUT1 in the BBB. Using this strategy, a study was conducted using these liposomes loaded with docetaxel, and results showed significantly increase in docetaxel when compared with uncoupled liposomes and naked docetaxel.[25]

### Insulin receptor

To reach the brain, insulin interact with insulin receptor (InR), expressed at luminal side of BBB endothelial cells. However, the use of insulin as a targeting ligand is not viable due to side effects related to physiological effects of this hormone, like hypoglycemia.[18] Similarly to what happened with TfR, monoclonal antibody strategy was explored and one HIRMAb bound with InR with high affinity and was rapidly transported to all parts of the brain.[26]

Using this monoclonal antibody, experiments were made with the aim to develop a strategy to use in Mucopolysaccharidosis Type I (MPSI), a disease caused by mutations in IDUA gene,[27] whose responsible for provide instructions for the synthesis of alpha-L-iduronidase enzyme that hydrolyzes large sugar molecules.[28]

In the experiment, the HIRBMAb was fused with this enzyme and successfully delivered IDUA to brain cells.[29]

### Low density lipoprotein receptor

The cholesterol homeostasis in the brain is controlled by a receptor in the BBB called low density lipoprotein receptor (LDLR). This receptor is responsible for the uptake of cholesterol through binding to apolipoprotein B and E.[18]

Although these apolipoproteins are effective targeting agents, angiopep-2, a LDLR targeting peptide has been investigated and demonstrated better results compared with apo B and apo E. This peptide has been used to transport a variety of nanocarriers with ranges between 7 and 200 nm into the brain.[30]

### ATP-binding cassette (ABC) transporters

This family is responsible for the efflux of substance through the cellular membrane, including therapeutics one.

In the BBB, P-glycoprotein I (Pg-p) is expressed in the endothelial cells, astrocytes and microglia.[18]

To minimize the efflux of therapeutic molecules, strategies using an inhibitor of the Pg-p co-administered with the drug are being developed. In the brain, the inhibitor can act by competitively or allosterically blocking the drug binding site or by interfering with the ATPase binding site in the efflux pump, impeding the production of energy required to the transport.

The problem with this strategy is the increase uptake of toxic substances into the brain, so the use as a long-term therapy as to be carefully thought out.[31]

Besides the use of receptors and transporters of the BBB to drug delivery to the brain, the altered expression profiles and molecules modifications, characteristics of certain diseases can be used as a marker. For example, the use of nanomedicines developed with components that respond to specific stimulus (pH, temperature, enzymes). Cell-mediated transport is also a strategy, where a specific cell (e.g., leucocytes and stem cells) involved in the physiological response of that disease can be used to carrier our formulation.[32]

## **NANOMEDICINES**

According to the definition given by the European Commission, a nanomaterial contains particles in the size range 1nm-100nm.[33]

Free drugs like peptides, proteins and genes have been explored as a therapeutic approach to CNS diseases, however due to the complexity of the BBB, these drugs showed poor stability, inadequate release profiles, difficulty reaching the brain and rapid enzymatic degradation.

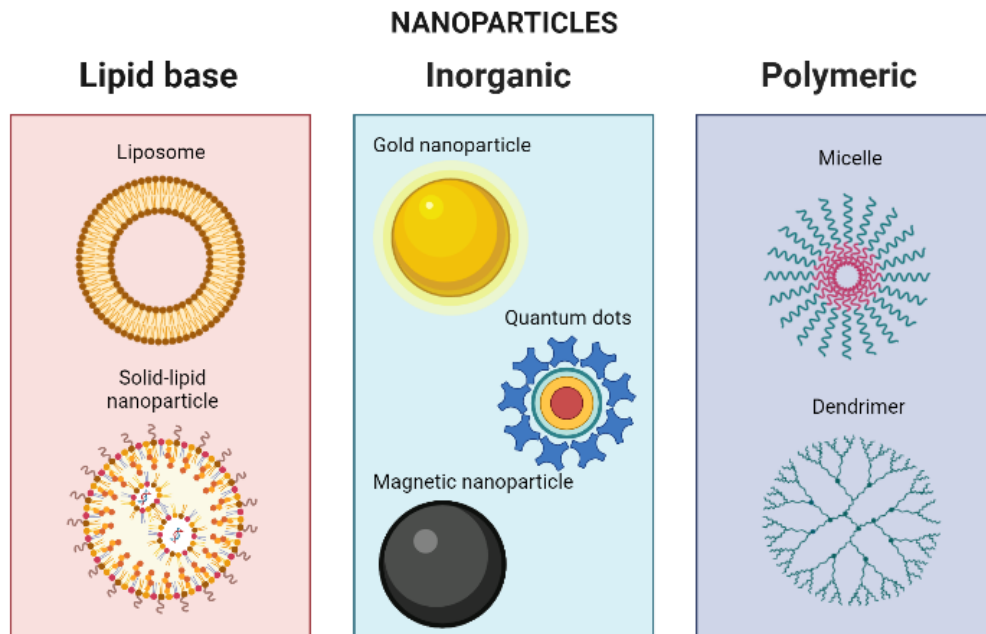
So, to defeat these obstacles, nanocarriers are being developed to protect and deliver these free drugs.[34]

The brain accumulation of these nanoparticles depends primary on their size, surface charge and shape.

Regarding the size, an ideal size for brain delivery is between 10nm and 100nm, small particles (<10nm) are rapidly removed via renal clearance and large particles (>200nm) accumulate in the liver, spleen, and bone marrow.

Cationic nanoparticles interact better with the brain capillary endothelium due to its negative charge cells, however they are susceptible of being attacked by the mononuclear phagocyte system (MPS).[32]

When entering the body, nanoparticles contact with biological fluids and absorb their proteins forming a protein layer, called protein corona. The formation of the protein corona depends on the size, shape and surface of the NP and can alter the NP biological response, like cellular uptake, toxicity, and clearance.[15,35] A way to escape the MPS and to mitigate the formation of the protein corona, is using PEGylation as a strategy - coating or conjugation polyethylene glycol (PEG) with nanocarrier systems.



**Figure III** – Schematic representation of different types of nanoparticles. Created in biorender.

### Lipid base nanoparticles

- Liposomes

Spherical vesicles composed by uni or multi-lamellar phospholipid bilayers with an aqueous core.[36] Cholesterol is frequent included in the formulation, he gives stability and modulates the membrane permeability.[37]

They can be loaded with hydrophobic, hydrophilic and amphiphilic drugs, and also they are non-toxic, biocompatible and biodegradable, making them a very versatile drug-delivery system.[36,38]

However, liposomes are not able to cross the BBB, so to overcome this problem, specific ligands are attached to their surface.

Chen *et al.* conducted a study where they use dual-ligand liposomes loaded with two different drugs, paclitaxel, and doxorubicin, to target a glioma tumor. To overcome the BBB, they use as ligand transferrin, however, the use of TfR is sometimes unavailable due to its saturation. To tackle this issue they used TAT, a well-studied cell-penetrating peptide.

In this formulation, liposome enables the use of a combine therapy with hydrophobic paclitaxel and hydrophilic doxorubicin. The study was conducted in glioma mouse models, and as result this dual targeting delivery improved the cellular uptake, stronger BBB permeation

and glioma targeting. The chemotherapeutic effect was higher when compared with other formulations.[38]

- Solid lipid nanoparticles

Composed by a solid lipid core dispersed in aqueous solution containing a surfactant.

These nanoparticles can be loaded with hydrophilic and hydrophobic molecules, and they can carry different types of drugs: small molecules, large biomacromolecules, DNA and siRNA.

Solid lipid nanoparticles (SLN) improve drug stability and control of drug release, however they pose some limitations such as insufficient drug loading capacity and unexpected phase transition.[39]

These nanoparticles seems to cross the BBB through receptor-mediated endocytosis, so some studies around SLN surface functionalization have been made.[40]

One study conducted by the University of Porto, used SLNs functionalized with apolipoprotein E (ApoE). As mentioned before, BBB has LDL receptors that can bind with ApoE, so this study took advantage from this interaction.

In this study they use hCMEC/D3 cell line as a model of the human BBB, in the end they successfully validate their ApoE-functionalized SLNs.[41]

### **Polymeric nanoparticles**

- Micelles

Solid colloidal systems formed in solution by self-assembling of amphiphilic polymers, in which the drug can be incorporated during their formation.[42]

This nanoparticle is special attractive due to the ability to incorporate low water-soluble drugs, high drug-loading capacity, prolonged blood circulation and potential to be used for controlled drug release.[14,43]

Miura *et al.* used these nanoparticles to develop a strategy with therapeutic utility to reach glioblastoma multiforme (GBM). In the study, cyclic Arg-Gly-Asp (cRGD) was used as ligand due to this peptide affinity for the Rv $\beta$ 3 and Rv $\beta$ 5, integrins overexpressed in the cells of tumor angiogenic vessel and GBM cells. The cRGD-linked polymeric micelles loaded with an antitumor drug achieved the GBM cells and induced potent antitumor effects in a mouse model of GBM.[44]

- Dendrimers

Dendrimers are nanosized macromolecules with symmetric branching units coming out of a core.[45]

The end groups of these nanoparticles can be modified allowing drugs, antibodies, and peptides to be attached. Small molecules can also be encapsulated, allowing the improvement in solubility, bioavailability, and control drug release.

Dendrimers with positive charged functional groups in the surface usually cause hemolysis and low compatibility. To mitigate this problem, surface functionalization with PEG is often performed.

PEGylation is also used to overcome the problem of low water solubility complexes due to conjugation of many drug molecules.[46]

Liu et al. developed a study using a dual targeting drug delivery dendrimer to target glioma cells. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimer loaded with doxorubicin and conjugated with angioprep-2 and EP-1 (peptide targeting epidermal growth factor receptor).

Results showed improvement in BBB permeability and increase in doxorubicin (DOX) anti-glioma effect.[47]

### **Inorganic nanoparticles**

Nanoparticles with easily modified physiochemical properties and high stability. Their unique electrical, magnetic, and optical properties make them interesting nanoparticle for theragnostic purpose.[14]

- Gold nanoparticles

Nanoparticles with gold in the core, mainly synthesized by reduction of a gold salt and can be produced in defined size ranges.

These particles have several characteristics like high surface-area-to-volume ratio, ability to deliver several therapeutics like drugs, proteins, nucleic acids or enzymes and higher drug loading capacity. AuNP have plasmonic properties, which is useful for gold detection, measuring gold concentration and characterization of these nanoparticles.[48]

The smaller AuNPs can cross the BBB through the spaces between astrocytes and the capillary endothelium, the ability to modified AuNPs surface allows active targeting and limits the off-target toxicity.[49]

Ruan *et al.* developed a study where they use doxorubicin in AuNPs covered with PEG and Angiopep 2 to target glioma cells.

The An-PEG-DOZ-AuNPs system showed higher cellular uptake and accumulation in glioma cells. The angiopep 2 ligand showed increase in glioma targeting capacity when compared with AuNPs without angiopep 2 and free doxorubicin, probably due to the interaction with low density lipoprotein receptor in the BBB.[50]

- Magnetic nanoparticles

Consisted of an iron oxide core coated by a biocompatible surface. This surface can attach different ligands specific to the target receptor.

To reach the target, these nanoparticles use an external magnet that generates magnetic force which in turn will increase the movement of the magnetic nanoparticle (MNP) in the systemic circulation.[51]

One of the limitations of these NPs is the risk of forming aggregates due to their large hydrophobic surface. This has several safety implications due to the risk of blood clotting. A way to overcome this is using superparamagnetic nanoparticles.

Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) and maghemite ( $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) are superparamagnetic, meaning that at certain temperatures they do not retain any magnetization in the absence of an external magnetic field, make them ideal to drug delivery because their response can be modulate with an external magnetic field and their activity ceases when the field is turned off, so the risk of agglomeration is lower.[52,53]

A study conducted in 2016, demonstrated an increase in the permeability of the vascular endothelium by using iron oxide nanoparticles with an external magnetic field. That increased in permeability seemed to be due to the temporarily disrupt in the endothelial junctions caused by these NPs.[54]

Ling *et al.* developed a study using Polysorbate 80 coated temozolomide-loaded PLGA-based superparamagnetic nanoparticles (P80-TMZ/SPIO-NPs) for cancer therapy in brain glioma C6 cells. P80-TMZ/SPIO-NPs exhibited excellent sustained drug release, almost 21 days, high drug loading and great encapsulation efficiency.[55]

- Quantum dots

Semiconductor nanocrystals with diameter less than 10 nm and generally composed of cadmium, lead, and mercury.[56]

This strategy has been investigated as a therapy option for HIV-associated encephalopathy. HIV infection leads to an upregulation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), causing proteolytic degradation of endothelial cells matrix, disruption of tight junctions and increase in BBB permeability.

Inhibition of MMP-9 is possible by using siRNA to silence the expression of MMP-9 gene in the brain endothelial cells. A study where quantum dots complexed with MMP-9-siRNA was used, showed decrease in endothelial permeability.

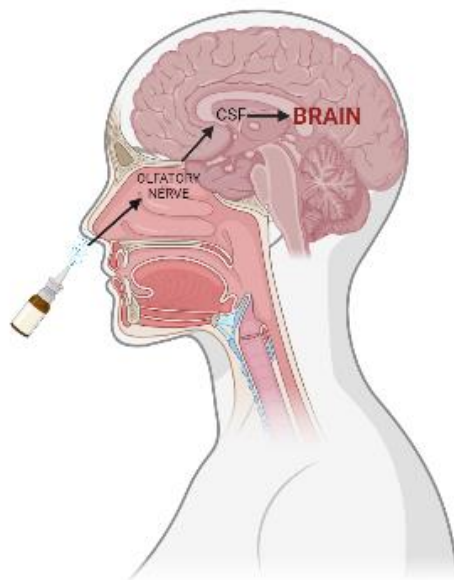
Following this study, quantum dots with targeting molecule transferrin and Saquinavir, a protease inhibitor, were evaluated and the results showed an increase in drug solubility, distribution, and accumulation in the brain. This study and another with the same principle but instead of using Saquinavir was used Amprenavir, showed significantly inhibition of HIV-1 replication in infected cells.[57]



## NASAL DRUG DELIVERY

In the past years, the nasal route has been explored to target drugs to bypass the blood brain barrier. This transport seems to be possible due to the olfactory nerves existing in the olfactory epithelium, that transports the drug to the cerebrospinal fluid (CSF) and therefore into the BBB.

The nasal route is a high-vascularity area, characterized by a rapid absorption and high permeability. However, the absorption in this area is sometimes compromised by the rapid mucociliary movement and diseases affecting the nasal mucous membrane (e.g., cold).[58]



**Figure IV** - Schematic representation of nasal drug delivery to the CNS. Created in biorender.

## BLOOD RETINAL BARRIER

Our eyes are divided into two segments: the anterior segment composed by the aqueous humor, conjunctiva, cornea, iris, ciliary body and lens; the posterior segment composed by the vitreous humor, sclera, choroid, retina, macula and optic nerve.[59]

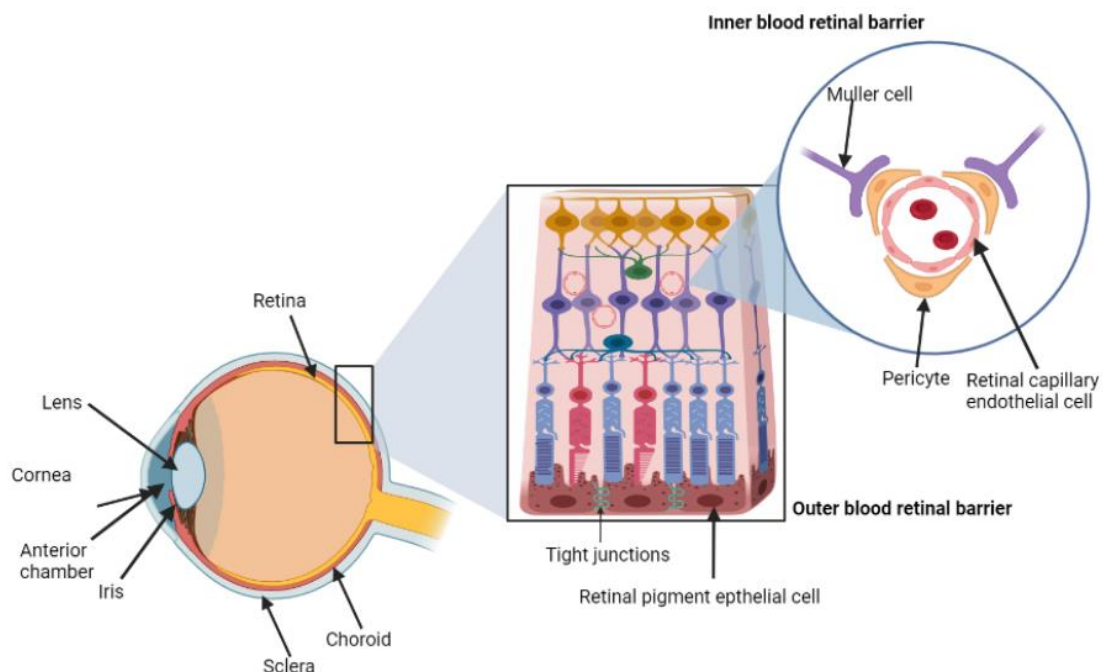
The drug delivery to the eye has several challenges due to the physical and physiological barriers.[60]

The primary defense mechanisms of the eye include the blinking reflex, tear turnover and nasolacrimal drainage.[61]

The cornea also functions as a barrier to pathogens due to the multilayer epithelium with tight junctions.[62] To protect the eye from the circulatory system, there are two barriers: blood-aqueous barrier and blood-retinal barrier.[63]

This review will focus on the blood-retinal barrier (BRB) and the impact in the drug delivery to the eye.

The BRB is divided into inner BRB and outer BRB. The inner is formed by the tight junctions between the retinal capillary endothelial cells and the outer BRB is formed by the retinal pigment epithelial cells and is responsible for regulating the transport of solutes and nutrients from the choroid to the retina.[64] These tight junctions limit the substances diffusion, only allowing small molecules, like  $O_2$  and  $CO_2$  and lipophilic molecules to diffuse.[65]



**Figure V** - Schematic representation of the eye and the blood retinal barrier. Created in biorender.

The transport across the BRB involves:

- **Paracellular diffusion:** Substance's diffusion is regulated by the tight junctions.
- **Transcellular diffusion:**
  - ⇒ Facilitated diffusion: Transport in favor of the concentration gradient, one example is the transport of glucose via glucose transporter (GLUT1).
  - ⇒ Active transport: Transport against the concentration gradient with ATP consumption.
  - ⇒ Transcytosis: Vesicles transport through the invagination of the membrane. This method is not so relevant in a normal BRB.[66]
  - ⇒ Efflux transport: The BRB has transports capable of removing xenobiotics and anionic drugs.[67] One example is the ABC transporter superfamily.[68]

Breakdown of the BRB occurs in many ocular diseases and leads to a macular edema.[69] This edema is responsible for visual loss in retinopathies, such as diabetic retinopathy and age-related macular degeneration.[70]

The breakdown is caused by disruption of the tight junctions, changes in the vascular endothelial cells, loss of pericytes and increases capillary pressure.[71]

## **OCULAR DELIVERY**

Most of the drugs used to treat eye diseases are for topical administration, such as eye drops. Although, problems like poor bioavailability, rapid clearance, and difficult patient compliance limits the use of the drops to anterior segment conditions.[61] These problems are mostly due to the fact that the cul-de-sac of the eye can only hold 30 $\mu$ L of volume so when applying an eye drop, which is about 25-50 $\mu$ L, the volume increases and the blinking reflex removes the majority.[61,72]The cornea barrier also explains this ineffectiveness.

The intravitreal delivery is the most efficient to drug delivery to the posterior segment of the eye, however, this administration is invasive, leading to safety issues.[72] Due to high drug elimination rate associated, frequent injections are required, increasing the risk of retinal detachment, cataract ad glaucoma.[64]

Although the systemic route is less invasive, the existence of the BRB significantly decreases the bioavailability. Higher doses are required, leading to significant systemic side effects.[72]

## NANOMEDICINES

### Inorganic nanoparticles

▪ Gold nanoparticles: Kim *et al.* conducted a study addressing the use of gold nanoparticles as potential nanocarriers to drug delivery across the BRB. In their study, they evaluated the gold nanoparticle's ability to cross the BRB and their toxicity. To do that, they used two sizes of gold nanoparticles (20nm and 100nm), that were administered by intravenous injection to C57BL/6 mice. The toxicity evaluation was also performed in human retina microvascular endothelial cells. The results showed that the 20nm nanoparticles were able to cross the BRB and were found in the retina bound with retinal neurons, endothelial cells, and peri-endothelial glial cells membrane. These nanoparticles seemed to cross the BRB through transcytosis. No retinal toxicity effect was found when evaluating cellular viability of retinoblastoma cells, retinal endothelial cells and astrocytes.[73]

Diabetic retinopathy (DR) is one of the common causes for visual impairment [74] and is characterized by an increase in vascular endothelial growth factor (VEGF) that causes neovascularization and increase in vascular permeability, resulting in vision loss.[75] Gold nanoparticles showed ability to suppress VEGF and inhibit angiogenesis in retinal cells.[76]

Dong *et al.* developed an AuNP produced with resveratrol in eco-friendly synthetic mechanism. The administration was performed in Wistar male rats by oral gavage, diabetes was induced in these rats. Results showed a higher permeability of the BRB, measured by Evans blue dye (EBD) injection technique, and decrease in VEGF.[77]

▪ Magnetic nanoparticles: Tabatabaei *et al.* performed a study to assess the increase in permeability of the BRB using hyperthermia induced by MNPs. The MNPs were coated with human transferrin glycoproteins (Tf), since Tf receptors are expressed in the endothelium. After the local injection of the MNPs, they applied a magnetic field to induce hyperthermia. To evaluate the permeability of the BRB, they systemically injected two dyes: sodium fluorescein (NaF) and EBD.

The results showed increase in the dye penetration, and a recovery of the BRB after 2 h.[78]

## Polymeric nanoparticles

- PLGA nanoparticles: Singh *et al.* successfully performed a study where they used PLGA nanoparticles functionalized with arginine–glycine–aspartic acid (RGD) peptide, transferrin or both and loaded with VEGF to manage choroidal neovascularization (CNV) present in age-related macular degeneration. (AMD).[79]

AMD is a disease that affects the macula and is the leading cause for severe vision loss. It can be divided in neo vascular (wet AMD) and non-neo vascular (dry AMD). The current treatment for wet AMD is the intravitreal injection of anti-VEGF intrareceptor plasmid, however, despite the effectiveness of this treatment, the need for repeated intravitreal injections has is downside.[80]

In this study, they used RGD because it binds integrin  $\alpha_v\beta_3$ , this integrin is overexpressed in age-related macular degeneration (AMD).

They used Brown Norway rats and the lesions were induced in the right eye through laser.

The results showed increased in the retinal delivery of this functionalized nanoparticle and the consequent delivery of anti-VEGF intrareceptor plasmid to CNV lesions, leading to a reduction in these lesions areas.[79]

- Dendrimers: AMD, diabetic retinopathy and glaucoma are the most prevalent retinal disorders. Associated with them is the increase in microglia activity, which leads to the progression of these diseases.[81] The microglia cells can be potential target to limit the development of damaging effects in the retina.[82] Kambhampati *et al.* evaluated the PAMAM dendrimers uptake in microglia cells. To perform this study, they worked with BALB/c albino mice. An ischemia/reperfusion (I/R) injury was inflicted in the mouse left eye; the other eye served as control. Fluorescent labelled dendrimer with cyanine dye (Cy5) were injected intravitreally or intravenously.

The dendrimers targeted and stayed in the microglia cells during approximately 21 days in the diseased retina, either when administered via intravitreal or systemic. The dendrimers were rapidly eliminated from the healthy eyes (24h-72h) and from off-target organs. Given these results, these dendrimers could be a possible carrier to use in retinal diseases treatment.[83]

- Precision-Polyester nanoparticles: The transport of precision-polyester nanoparticles (P2Ns) conjugated with gambogic acid (GA) across the BRB was evaluated. The principle behind this study consists in using the TfR present in the inner BRB, ganglion cell layer, inner nuclear layer, outer plexiform layer, photoreceptor inner segment, RPE, and choroid by using the ligand GA. The experiment was performed using an ex vivo rat eyeball model. The results indicate the presence of P2Ns-GA in the ganglion cells, the same not occurred with P2Ns without GA.[84]

### **Liposomes**

- Cationic liposome: This type of liposomes proved in previous studies to be efficient in target angiogenic vessels [85], make them a potential carrier to target choroidal neovascularization in AMD. With this premise, Gross *et al.* developed cationic liposomes loaded with paclitaxel and succinyl-paclitaxel. The experiment was performed in C57BL/6J mice with laser induced CNV, and as control they use non-loaded cationic liposomes, free paclitaxel, and trehalose buffer. The results showed a significant decrease in CNV areas in paclitaxel and succinyl paclitaxel liposomes in comparison with the control groups.

The authors concluded that the systemic intravenous injection of this loaded cationic liposomes had a significant antiangiogenic effect and could be a potential strategy to management of AMD.[86]

- PEGylated liposome: Vighi *et al.* used PEGylated liposome as drugs delivery carrier in hereditary retinal degeneration.

Hereditary retinal diseases are characterized by mutations that lead to progressive photoreceptor cell death.[87]The cGMP (cyclic guanosine- 3',5'-monophosphate)-dependent activation of protein kinase G (PKG) and cyclic nucleotide-gated channel (CNGP) seems to be responsible for the apoptosis of these cells.[88] In the previous mentioned study, they loaded the liposomes with an inhibitory analog (CN03). The aim was to use an inhibitory cGMP capable of inhibit PKG and CNGP.[89]

They used glutathione-targeted PEGylated (GSH-PEG) liposomes (LP-CN03) and compared their effect with empty GSH-PEG liposomes and free CN03.

The results showed that LP-CN03 were capable to cease the photoreceptor degeneration and preserved the retina. The encapsulation with GSH-PEG liposomes showed higher in vivo half-life in the bloodstream when compared with free CN03.[89]

### **Photo-targeted nanoparticles**

To target CNV in AMD, Wang *et al* developed a nanoparticle capable to be administered intravenously and reach the CNV lesion via light-triggered targeting. The nanoparticles were functionalized with a cell penetrating peptide (CPP) binding to a photocleavable caging group, 7-(diethylamino) coumarin-4-yl] methyl carboxyl (DEACM). DEACM allows the nanoparticle to accumulate in the lesions and minimizes the off-target effects by protecting the CPP. When the NP reaches the target, irradiation with blue light cleaves DEACM from the CPP.

The experiment was conducted using an induced CNV mouse model. The results showed higher fluorescence intensity, leading to a conclusion that these NPs can accumulate in CNV areas.

After these promising results, the group loaded NPs with doxorubicin, a drug used in AMD. These irradiating NPs were capable to significantly reduce the CNV lesion when compared with free doxorubicin and NPs loaded with doxorubicin without irradiation.[90]

## **BBB AND BRB MODULATION**

Between the endothelial cells of the BBB and BRB exists tight junctions that limit the paracellular transport.[91] These tight junctions consists of at least three different types of membrane proteins – occludin, members of the junctional adhesion molecule family of proteins and claudin protein.[92]

Campbell *et al.* developed a study to modulate the tight junctions in the BBB by using a siRNA targeting claudin-5.[93] Claudin-5 is specific for endothelial cell's tight junctions.[94]

To evaluate the permeability of the BBB, the group used EZ-Link™ Sulfo-NHS-Biotin (443 Da), Hoechst H33342 (562 Da) and FITC-labelled dextran FD-4 (4400 Da), molecules that are not able to cross normal BBB. The EZ-Link™ Sulfo-NHS-Biotin and Hoechst H33342 were able to cross the BBB for 1 week and 72 hours, respectively. FITC-labelled dextran FD-4 was not able to cross the BBB, which shows that the modulation of the BBB using this approach is time-dependent and size-dependent. In this study, they also evaluated the delivery of small neuropeptide thyrotropin-releasing hormone (TRH), the results showed an increase in TRH delivery to the brain, when the claudin-5 is suppressed.[93]

After this study, Campbell *et al.* performed a study to evaluate the impact in suppressing the claudin-5 in the permeability of the BRB. They used the same approach used in the previous study and a mouse model of autosomal recessive retinitis pigmentosa (RP) and a mouse model of light-induced retinal degeneration.

To evaluate the permeability of the BRB, before the procedures they administered claudin-5 siRNA. After, in the mouse model of RP, they injected GTP, a mediator of visual phototransduction. To evaluate this approach, they performed an electroretinography, the results showed an improve in visual enhancement. In the group submitted to light ablation, they injected an apoptosis inhibitor, and the results showed less photoreceptor cell death.[95]

### **Temporary hypotony and ocular inflammation**

The major obstacle of the systemic administration is the presence of blood ocular barriers (BOB), with that in mind Occhiutto *et al.* reflected on the hypothesis of temporary breakdown the BOB to drug delivery via systemic administration. There are three possible ways to disrupt the BOB: intraocular surgery, induced ocular hypotony and pharmacologically induced ocular inflammation.



Temporary hypotony doesn't cause irreversible damage to the eye and is a current practice in some ophthalmic procedures. Since there are no current topical hypotensive drug capable to achieve the satisfactory drop in the intraocular pressure, the only option is to proceed with a paracentesis, which is an invasive procedure.

Ocular inflammation could be induced using specific drugs, epinephrine and bradykinin showed ability to increase the permeability of the BOB.

Although these strategies seem promising, their use requires not only a topical drug to induce the breakdown but also a drug to reverse it.[96]

## **CONCLUSIONS**

Nowadays an urge in developing medicines to treat diseases related with the aging population leads to find new technologies. Some of the most prominent diseases related with the increase in life expectancy are the neurodegenerative and the retinal degenerative diseases. In these diseases the difficulty to reach the target poses a significant problem and new approaches are being considered.

The use of nanoparticles to treat neurodegenerative and retinal degenerative diseases seems promising and it has been extensively studied. However, most of these nanoparticles had only been studied in in vitro and animal models. Although these models pretend to mimic the interaction in human body and the drug performance, sometimes they can't predict the human response.

Some extensive studies should be performed to access the efficacy and safety of the nanoparticles as a drug delivery system.

## BIBLIOGRAPHY

1. YANG, R.; WEI, T.; GOLDBERG, H.; WANG, W.; CULLION, K.; KOHANE, D. S. - **Getting Drugs Across Biological Barriers.** *Adv Mater.* Vol. 29. n.° 37 (2017). ISSN: 1521-4095.
2. FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. - **Impact of nanotechnology on drug delivery.** *ACS Nano.* Vol. 3. n.° 1 (2009). ISSN: 1936-086X
3. ANSELMO, AARON C.; MITRAGOTRI, SAMIR - **Nanoparticles in the clinic: An update.** *Bioengineering & translational medicine.* Vol. 4. n.° 3 (2019). ISSN: 2380-6761.
4. HAVEL, H. A. - **Where Are the Nanodrugs? An Industry Perspective on Development of Drug Products Containing Nanomaterials.** *AAPS J.* Vol. 18. n.° 6 (2016). ISSN: 1550-7416.
5. SINGH, NARINDER; JOSHI, ANJALI; TOOR, AMRIT; VERMA, GAURAV- 2017.ISBN: 9780323461436.
6. SURI, S. S.; FENNIRI, H.; SINGH, B. - **Nanotechnology-based drug delivery systems.** *J Occup Med Toxicol.* Vol. 2. (2007). ISSN: 1745-6673.
7. VENTOLA, C. LEE - **Progress in Nanomedicine: Approved and Investigational Nanodrugs.** *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management.* Vol. 42. n.° 12 (2017). ISSN: 1052-1372.
8. SWIERCZEWSKA, M.; CRIST, R. M.; MCNEIL, S. E. - **Evaluating Nanomedicines: Obstacles and Advancements.** *Methods Mol Biol.* Vol. 1682. (2018). ISSN: 1064-3745
9. SHARMA, A.; MADHUNAPANTULA, S. V.; ROBERTSON, G. P. - **Toxicological considerations when creating nanoparticle-based drugs and drug delivery systems.** *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* Vol. 8. n.° 1 (2012). ISSN: 1742-5255.
10. NAJAH-MISSAOUI, WIDED; ARNOLD, ROBERT D.; CUMMINGS, BRIAN S. - **Safe Nanoparticles: Are We There Yet?** *International journal of molecular sciences.* Vol. 22. n.° 1 (2020). ISSN: 1422-0067.
11. WOLFRAM, J; ZHU, M; YANG, Y; SHEN, J; GENTILE, E; PAOLINO, D; FRESTA, M; NIE, G; CHEN, C; SHEN, H; FERRARI, M; ZHAO, Y - **Safety of Nanoparticles in Medicine.** *Current drug targets.* Vol. 16. n.° 14 (2015). ISSN: 1873-5592.

12. MISSAOUI, W. N.; ARNOLD, R. D.; CUMMINGS, B. S. - **Toxicological status of nanoparticles: What we know and what we don't know.** *Chem Biol Interact.* Vol. 295. (2018). ISSN: 0009-2797.
13. MARINO, M. J.; WILLIAMS, M.- **Comprehensive Medicinal Chemistry II.** Oxford: Elsevier, (2007).ISBN: 978-0-08-045044-5.
14. GARCIA-CHICA, J.; WK, D. PARAISO; TANABE, S.; SERRA, D.; HERRERO, L.; CASALS, N.; GARCIA, J.; ARIZA, X.; QUADER, S.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, R. - **An overview of nanomedicines for neuron targeting.** *Nanomedicine (Lond).* Vol. 15. n.º 16 (2020). ISSN: 1748-6963.
15. KHARAZIAN, B.; HADIPOUR, N. L.; EJTEHADI, M. R. - **Understanding the nanoparticle-protein corona complexes using computational and experimental methods.** *Int J Biochem Cell Biol.* Vol. 75. (2016). ISSN: 1878-5875
16. GAJBHIYE, K. R.; PAWAR, A.; MAHADIK, K. R.; GAJBHIYE, V. - **PEGylated nanocarriers: A promising tool for targeted delivery to the brain.** *Colloids Surf B Biointerfaces.* Vol. 187. (2020). ISSN: 1873-4367.
17. DANEMAN, R.; PRAT, A. - **The blood-brain barrier.** *Cold Spring Harb Perspect Biol.* Vol. 7. n.º 1 (2015). ISSN: 1943-0264.
18. MOURA, R. P.; MARTINS, C.; PINTO, S.; SOUSA, F.; SARMENTO, B. - **Blood-brain barrier receptors and transporters: an insight on their function and how to exploit them through nanotechnology.** *Expert Opin Drug Deliv.* Vol. 16. n.º 3 (2019). ISSN: 1744-7593.
19. CLARK, A. J.; DAVIS, M. E. - **Increased brain uptake of targeted nanoparticles by adding an acid-cleavable linkage between transferrin and the nanoparticle core.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* Vol. 112. n.º 40 (2015). ISSN: 1091-6490.
20. OGUN, A. S.; ADEYINKA, A.- **Biochemistry, Heme Synthesis.** *StatPearls.* Treasure Island (FL): (2021).
21. JOHNSEN, K. B.; BURKHART, A.; THOMSEN, L. B.; ANDRESEN, T. L.; MOOS, T. - **Targeting the transferrin receptor for brain drug delivery.** *Prog Neurobiol.* Vol. 181. (2019). ISSN: 1873-5118.

22. WILEY, D. T.; WEBSTER, P.; GALE, A.; DAVIS, M. E. - **Transcytosis and brain uptake of transferrin-containing nanoparticles by tuning avidity to transferrin receptor.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* Vol. 110. n.º 21 (2013). ISSN: 1091-6490.
23. PATCHING, S. G. - **Glucose Transporters at the Blood-Brain Barrier: Function, Regulation and Gateways for Drug Delivery.** *Mol Neurobiol.* Vol. 54. n.º 2 (2017). ISSN: 1559-1182.
24. SZABLEWSKI, L. - **Glucose Transporters in Brain: In Health and in Alzheimer's Disease.** *J Alzheimers Dis.* Vol. 55. n.º 4 (2017). ISSN: 1875-8908.
25. QU, B.; LI, X.; GUAN, M.; LI, X.; HAI, L.; WU, Y. - **Design, synthesis and biological evaluation of multivalent glucosides with high affinity as ligands for brain targeting liposomes.** *Eur J Med Chem.* Vol. 72. (2014). ISSN: 1768-3254.
26. PARDRIDGE, W. M. - **Delivery of Biologics Across the Blood-Brain Barrier with Molecular Trojan Horse Technology.** *BioDrugs.* Vol. 31. n.º 6 (2017). ISSN: 1179-190X
27. GENETIC AND RARE DISEASES INFORMATION CENTER -**Mucopolysaccharidosis type I** 2021 [Acedido em 3 maio 2021]. Disponível na internet em <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/10335/mucopolysaccharidosis-type-i/>
28. MEDLINE PLUS - **IDUA gene** 2020 [Acedido em 3 maio 2021]. Disponível na internet em <https://medlineplus.gov/genetics/gene/idua/>
29. BOADO, R. J.; PARDRIDGE, W. M. - **Brain and Organ Uptake in the Rhesus Monkey in Vivo of Recombinant Iduronidase Compared to an Insulin Receptor Antibody-Iduronidase Fusion Protein.** *Mol Pharm.* Vol. 14. n.º 4
30. OLLER-SALVIA, B.; SANCHEZ-NAVARRO, M.; GIRALT, E.; TEIXIDO, M. - **Blood-brain barrier shuttle peptides: an emerging paradigm for brain delivery.** *Chem Soc Rev.* Vol. 45. n.º 17 (2016). ISSN: 1460-4744.
31. ABDUL RAZZAK, R.; FLORENCE, G. J.; GUNN-MOORE, F. J. - **Approaches to CNS Drug Delivery with a Focus on Transporter-Mediated Transcytosis.** *Int J Mol Sci.* Vol. 20. n.º 12 (2019). ISSN: 1422-0067.
32. LUO, Y.; YANG, H.; ZHOU, Y. F.; HU, B. - **Dual and multi-targeted nanoparticles for site-specific brain drug delivery.** *J Control Release.* Vol. 317. (2020). ISSN: 1873-4995.

33. COMISSION, EUROPEAN - **Official Journal of the European Union** 2021. [Acedido em 06 de junho de 2021].Disponível na internet em [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm)
34. FURTADO, D.; BJORNMALM, M.; AYTON, S.; BUSH, A. I.; KEMPE, K.; CARUSO, F. - **Overcoming the Blood-Brain Barrier: The Role of Nanomaterials in Treating Neurological Diseases**. *Adv Mater*. Vol. 30. n.º 46 (2018). ISSN: 1521-4095.
35. PAREEK, V.; BHARGAVA, A.; BHANOT, V.; GUPTA, R.; JAIN, N.; PANWAR, J. - **Formation and Characterization of Protein Corona Around Nanoparticles: A Review**. *J Nanosci Nanotechnol*. Vol. 18. n.º 10 (2018). ISSN: 1533-4880.
36. PATEL, M. M.; PATEL, B. M. - **Crossing the Blood-Brain Barrier: Recent Advances in Drug Delivery to the Brain**. *CNS Drugs*. Vol. 31. n.º 2 (2017). ISSN: 1179-1934.
37. JAIN, K. K. - **Role of Nanobiotechnology in Drug Delivery**. *Methods Mol Biol*. Vol. 2059. (2020). ISSN: 1940-6029.
38. CHEN, X.; YUAN, M.; ZHANG, Q.; TING YANG, Y.; GAO, H.; HE, Q. - **Synergistic Combination of Doxorubicin and Paclitaxel Delivered by Blood Brain Barrier and Glioma Cells Dual Targeting Liposomes for Chemotherapy of Brain Glioma**. *Curr Pharm Biotechnol*. Vol. 17. n.º 7 (2016). ISSN: 1873-4316.
39. PALIWAL, R.; PALIWAL, S. R.; KENWAT, R.; KURMI, B. D.; SAHU, M. K. - **Solid lipid nanoparticles: a review on recent perspectives and patents**. *Expert Opin Ther Pat*. Vol. 30. n.º 3 (2020). ISSN: 1744-7674.
40. SCIOLI MONTOTO, S.; MURACA, G.; RUIZ, M. E. - **Solid Lipid Nanoparticles for Drug Delivery: Pharmacological and Biopharmaceutical Aspects**. *Front Mol Biosci*. Vol. 7. (2020). ISSN: 2296-889X.
41. NEVES, A. R.; QUEIROZ, J. F.; LIMA, S. A. C.; REIS, S. - **Apo E-Functionalization of Solid Lipid Nanoparticles Enhances Brain Drug Delivery: Uptake Mechanism and Transport Pathways**. *Bioconjug Chem*. Vol. 28. n.º 4 (2017). ISSN: 1520-4812.
42. GHEZZI, M.; PESCHINA, S.; PADULA, C.; SANTI, P.; DEL FAVERO, E.; CANTU, L.; NICOLI, S. - **Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions**. *J Control Release*. Vol. 332. (2021). ISSN: 1873-4995.

43. ZIELINSKA, A.; CARREIRO, F.; OLIVEIRA, A. M.; NEVES, A.; PIRES, B.; VENKATESH, D. N.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; EDER, P.; SILVA, A. M.; SANTINI, A.; SOUTO, E. B. - **Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology**. *Molecules*. Vol. 25. n.º 16 (2020). ISSN: 1420-3049.
44. MIURA, Y.; TAKENAKA, T.; TOH, K.; WU, S.; NISHIHARA, H.; KANO, M. R.; INO, Y.; NOMOTO, T.; MATSUMOTO, Y.; KOYAMA, H.; CABRAL, H.; NISHIYAMA, N.; KATAOKA, K. - **Cyclic RGD-linked polymeric micelles for targeted delivery of platinum anticancer drugs to glioblastoma through the blood-brain tumor barrier**. *ACS Nano*. Vol. 7. n.º 10 (2013). ISSN: 1936-086X.
45. ABBASI, E.; AVAL, S. F.; AKBARZADEH, A.; MILANI, M.; NASRABADI, H. T.; JOO, S. W.; HANIFEHPOUR, Y.; NEJATI-KOSHKI, K.; PASHAEI-ASL, R. - **Dendrimers: synthesis, applications, and properties**. *Nanoscale Res Lett*. Vol. 9. n.º 1 (2014). ISSN: 1931-7573.
46. ZHU, Y.; LIU, C.; PANG, Z. - **Dendrimer-Based Drug Delivery Systems for Brain Targeting**. *Biomolecules*. Vol. 9. n.º 12 (2019). ISSN: 2218-273X.
47. LIU, C.; ZHAO, Z.; GAO, H.; ROSTAMI, I.; YOU, Q.; JIA, X.; WANG, C.; ZHU, L.; YANG, Y. - **Enhanced blood-brain-barrier penetrability and tumor-targeting efficiency by peptide-functionalized poly(amidoamine) dendrimer for the therapy of gliomas**. *Nanotheranostics*. Vol. 3. n.º 4 (2019). ISSN: 2206-7418.
48. MALE, D.; GROMNICOVA, R.; MCQUAID, C. - **Gold Nanoparticles for Imaging and Drug Transport to the CNS**. *Int Rev Neurobiol*. Vol. 130. (2016). ISSN: 2162-5514.
49. NOROUZI, M. - **Gold Nanoparticles in Glioma Theranostics**. *Pharmacol Res*. Vol. 156. (2020). ISSN: 1096-1186.
50. RUAN, S.; YUAN, M.; ZHANG, L.; HU, G.; CHEN, J.; CUN, X.; ZHANG, Q.; YANG, Y.; HE, Q.; GAO, H. - **Tumor microenvironment sensitive doxorubicin delivery and release to glioma using angiopep-2 decorated gold nanoparticles**. *Biomaterials*. Vol. 37. (2015). ISSN: 1878-5905.
51. GANDHI, H.; SHARMA, A. K.; MAHANT, S.; KAPOOR, D. N. - **Recent advancements in brain tumor targeting using magnetic nanoparticles**. *Ther Deliv*. Vol. 11. n.º 2 (2020). ISSN: 2041-6008.
52. D'AGATA, F.; RUFFINATTI, F. A.; BOSCHI, S.; STURA, I.; RAINERO, I.; ABOLLINO, O.; CAVALLI, R.; GUIOT, C. - **Magnetic Nanoparticles in the Central Nervous System:**

- Targeting Principles, Applications and Safety Issues.** *Molecules*. Vol. 23. n.º 1 (2017). ISSN: 1420-3049.
53. ISRAEL, L. L.; GALSTYAN, A.; HOLLER, E.; LJUBIMOVA, J. Y. - **Magnetic iron oxide nanoparticles for imaging, targeting and treatment of primary and metastatic tumors of the brain.** *J Control Release*. Vol. 320. (2020). ISSN: 1873-4995.
54. QIU, Y.; TONG, S.; ZHANG, L.; SAKURAI, Y.; MYERS, D. R.; HONG, L.; LAM, W. A.; BAO, G. - **Magnetic forces enable controlled drug delivery by disrupting endothelial cell-cell junctions.** *Nat Commun*. Vol. 8. (2017). ISSN: 2041-1723.
55. LING, Y.; WEI, K.; ZOU, F.; ZHONG, S. - **Temozolomide loaded PLGA-based superparamagnetic nanoparticles for magnetic resonance imaging and treatment of malignant glioma.** *Int J Pharm*. Vol. 430. n.º 1-2 (2012). ISSN: 1873-3476.
56. MATEA, C. T.; MOCAN, T.; TABARAN, F.; POP, T.; MOSTEANU, O.; PUIA, C.; IANCU, C.; MOCAN, L. - **Quantum dots in imaging, drug delivery and sensor applications.** *Int J Nanomedicine*. Vol. 12. (2017). ISSN: 1178-2013.
57. XU, G.; MAHAJAN, S.; ROY, I.; YONG, K. T. - **Theranostic quantum dots for crossing blood-brain barrier in vitro and providing therapy of HIV-associated encephalopathy.** *Front Pharmacol*. Vol. 4. (2013). ISSN: 1663-9812.
58. JAIN, K. K. - **An Overview of Drug Delivery Systems.** *Methods Mol Biol*. Vol. 2059. (2020). ISSN: 1940-6029.
59. ADDO, EVELYN; BAMIRO, OLUYEMISI A.; SIWALE, RODNEY- **Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications.** Cham: Springer International Publishing, 2016. ISBN: 978-3-319-47691-9.
60. LU, W.; YAO, J.; ZHU, X.; QI, Y. - **Nanomedicines: Redefining traditional medicine.** *Biomed Pharmacother*. Vol. 134. (2021). ISSN: 1950-6007.
61. LYNCH, C. R.; KONDI AH, P. P. D.; CHOONARA, Y. E.; DU TOIT, L. C.; ALLY, N.; PILLAY, V. - **Hydrogel Biomaterials for Application in Ocular Drug Delivery.** *Front Bioeng Biotechnol*. Vol. 8. (2020). ISSN: 2296-4185.
62. EHRARI, A. O.; RIAZUDDIN, S. A.; GOTTSCH, J. D. - **Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development.** *Prog Mol Biol Transl Sci*. Vol. 134. (2015). ISSN: 1878-0814.



63. SOUTO, E. B.; DIAS-FERREIRA, J.; LOPEZ-MACHADO, A.; ETTCHETO, M.; CANO, A.; CAMINS ESPUNY, A.; ESPINA, M.; GARCIA, M. L.; SANCHEZ-LOPEZ, E. - **Advanced Formulation Approaches for Ocular Drug Delivery: State-Of-The-Art and Recent Patents.** *Pharmaceutics*. Vol. 11. n.º 9 (2019). ISSN: 1999-4923.
64. RODRIGUES, F. S. C.; CAMPOS, A.; MARTINS, J.; AMBROSIO, A. F.; CAMPOS, E. J. - **Emerging Trends in Nanomedicine for Improving Ocular Drug Delivery: Light-Responsive Nanoparticles, Mesoporous Silica Nanoparticles, and Contact Lenses.** *ACS Biomater Sci Eng*. Vol. 6. n.º 12 (2020). ISSN: 2373-9878.
65. CHOLKAR, KISHORE; DASARI, SUPRIYA REDDY; PAL, DHANANJAY; MITRA, ASHIM K.- **Ocular Transporters and Receptors.** Woodhead Publishing, 2013.ISBN: 978-1-907568-86-2.
66. LIU, L.; LIU, X. - **Roles of Drug Transporters in Blood-Retinal Barrier.** *Adv Exp Med Biol*. Vol. 1141. (2019). ISSN: 0065-2598.
67. HOSOYA, K.; TACHIKAWA, M. - **Inner blood-retinal barrier transporters: role of retinal drug delivery.** *Pharm Res*. Vol. 26. n.º 9 (2009). ISSN: 1573-904X.
68. TAGAMI, M.; KUSUHARA, S.; HONDA, S.; TSUKAHARA, Y.; NEGI, A. - **Expression of ATP-binding cassette transporters at the inner blood-retinal barrier in a neonatal mouse model of oxygen-induced retinopathy.** *Brain Res*. Vol. 1283. (2009). ISSN: 1872-6240.
69. VINOES, S. A. - **Breakdown of the Blood–Retinal Barrier.** *Encyclopedia of the Eye*. (2010).
70. KLAASSEN, I.; VAN NOORDEN, C. J.; SCHLINGEMANN, R. O. - **Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions.** *Prog Retin Eye Res*. Vol. 34. (2013). ISSN: 1873-1635.
71. DAS, A.; BYRD, J.- **Pathobiology of Human Disease.** San Diego: Academic Press, 2014.ISBN: 978-0-12-386457-4.
72. LI, Q.; WENG, J.; WONG, S. N.; THOMAS LEE, W. Y.; CHOW, S. F. - **Nanoparticulate Drug Delivery to the Retina.** *Mol Pharm*. Vol. 18. n.º 2 (2021). ISSN: 1543-8392.
73. KIM, J. H.; KIM, J. H.; KIM, K. W.; KIM, M. H.; YU, Y. S. - **Intravenously administered gold nanoparticles pass through the blood-retinal barrier depending on the**

- particle size, and induce no retinal toxicity.** *Nanotechnology*. Vol. 20. n.° 50 (2009). ISSN: 1361-6528.
74. HENG, L. Z.; COMYN, O.; PETO, T.; TADROS, C.; NG, E.; SIVAPRASAD, S.; HYKIN, P. G. - **Diabetic retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments.** *Diabet Med*. Vol. 30. n.° 6 (2013). ISSN: 1464-5491.
75. KOLLIAS, A. N.; ULBIG, M. W. - **Diabetic retinopathy: Early diagnosis and effective treatment.** *Dtsch Arztebl Int*. Vol. 107. n.° 5 (2010). ISSN: 1866-0452.
76. DAVE, V.; SHARMA, R.; GUPTA, C.; SUR, S. - **Folic acid modified gold nanoparticle for targeted delivery of Sorafenib tosylate towards the treatment of diabetic retinopathy.** *Colloids Surf B Biointerfaces*. Vol. 194. (2020). ISSN: 1873-4367.
77. DONG, Y.; WAN, G.; YAN, P.; QIAN, C.; LI, F.; PENG, G. - **Fabrication of resveratrol coated gold nanoparticles and investigation of their effect on diabetic retinopathy in streptozotocin induced diabetic rats.** *J Photochem Photobiol B*. Vol. 195. (2019). ISSN: 1873-2682.
78. TABATABAEI, S. N.; TABATABAEI, M. S.; GIROUARD, H.; MARTEL, S. - **Hyperthermia of magnetic nanoparticles allows passage of sodium fluorescein and Evans blue dye across the blood-retinal barrier.** *Int J Hyperthermia*. Vol. 32. n.° 6 (2016). ISSN: 1464-5157.
79. SINGH, S. R.; GROSSNIKLAUS, H. E.; KANG, S. J.; EDELHAUSER, H. F.; AMBATI, B. K.; KOMPELLA, U. B. - **Intravenous transferrin, RGD peptide and dual-targeted nanoparticles enhance anti-VEGF intraceptor gene delivery to laser-induced CNV.** *Gene Ther*. Vol. 16. n.° 5 (2009). ISSN: 1476-5462.
80. MITCHELL, P.; LIEW, G.; GOPINATH, B.; WONG, T. Y. - **Age-related macular degeneration.** *Lancet*. Vol. 392. n.° 10153 (2018). ISSN: 0140-6736.
81. RATHNASAMY, G.; FOULDS, W. S.; LING, E. A.; KAUR, C. - **Retinal microglia - A key player in healthy and diseased retina.** *Prog Neurobiol*. Vol. 173. (2019). ISSN: 1873-5118.
82. KARLSTETTER, M.; SCHOLZ, R.; RUTAR, M.; WONG, W. T.; PROVIS, J. M.; LANGMANN, T. - **Retinal microglia: just bystander or target for therapy?** *Prog Retin Eye Res*. Vol. 45. (2015). ISSN: 1873-1635.

83. KAMBHAMPATI, S. P.; CLUNIES-ROSS, A. J.; BHUTTO, I.; MISHRA, M. K.; EDWARDS, M.; MCLEOD, D. S.; KANNAN, R. M.; LUTTY, G. - **Systemic and Intravitreal Delivery of Dendrimers to Activated Microglia/Macrophage in Ischemia/Reperfusion Mouse Retina.** *Invest Ophthalmol Vis Sci.* Vol. 56. n.° 8 (2015). ISSN: 1552-5783.
84. GANUGULA, R.; ARORA, M.; KUMAR, MNVR - **Ex Vivo Rat Eye Model for Investigating Transport of Next Generation Precision-Polyester Nanosystems.** *ACS Appl Mater Interfaces.* Vol. 9. n.° 31 (2017). ISSN: 1944-8244.
85. KRASNICI, S.; WERNER, A.; EICHHORN, M. E.; SCHMITT-SODY, M.; PAHERNIK, S. A.; SAUER, B.; SCHULZE, B.; TEIFEL, M.; MICHAELIS, U.; NAUJOKS, K.; DELLIAN, M. - **Effect of the surface charge of liposomes on their uptake by angiogenic tumor vessels.** *Int J Cancer.* Vol. 105. n.° 4 (2003). ISSN: 0020-7136.
86. GROSS, N.; RANJBAR, M.; EVERS, C.; HUA, J.; MARTIN, G.; SCHULZE, B.; MICHAELIS, U.; HANSEN, L. L.; AGOSTINI, H. T. - **Choroidal neovascularization reduced by targeted drug delivery with cationic liposome-encapsulated paclitaxel or targeted photodynamic therapy with verteporfin encapsulated in cationic liposomes.** *Mol Vis.* Vol. 19. (2013). ISSN: 1090-0535.
87. TAKAHASHI, V. K. L.; TAKIUTI, J. T.; JAUREGUI, R.; TSANG, S. H. - **Gene therapy in inherited retinal degenerative diseases, a review.** *Ophthalmic Genet.* Vol. 39. n.° 5 (2018). ISSN: 1744-5094.
88. TOLONE, A.; BELHADJ, S.; RENTSCH, A.; SCHWEDE, F.; PAQUET-DURAND, F. - **The cGMP Pathway and Inherited Photoreceptor Degeneration: Targets, Compounds, and Biomarkers.** *Genes (Basel).* Vol. 10. n.° 6 (2019). ISSN: 2073-4425.
89. VIGHI, E.; TRIFUNOVIC, D.; VEIGA-CRESPO, P.; RENTSCH, A.; HOFFMANN, D.; SAHABOGLU, A.; STRASSER, T.; KULKARNI, M.; BERTOLOTTI, E.; VAN DEN HEUVEL, A.; PETERS, T.; REIJERKERK, A.; EULER, T.; UEFFING, M.; SCHWEDE, F.; GENIESER, H. G.; GAILLARD, P.; MARIGO, V.; EKSTROM, P.; PAQUET-DURAND, F. - **Combination of cGMP analogue and drug delivery system provides functional protection in hereditary retinal degeneration.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* Vol. 115. n.° 13 (2018). ISSN: 1091-6490.
90. WANG, Y.; LIU, C. H.; JI, T.; MEHTA, M.; WANG, W.; MARINO, E.; CHEN, J.; KOHANE, D. S. - **Intravenous treatment of choroidal neovascularization by photo-targeted nanoparticles.** *Nat Commun.* Vol. 10. n.° 1 (2019). ISSN: 2041-1723.

91. CAMPBELL, M.; CASSIDY, P. S.; O'CALLAGHAN, J.; CROSSBIE, D. E.; HUMPHRIES, P. - **Manipulating ocular endothelial tight junctions: Applications in treatment of retinal disease pathology and ocular hypertension.** *Prog Retin Eye Res.* Vol. 62. (2018). ISSN: 1873-1635.
92. HANRAHAN, F.; CAMPBELL, M.; NGUYEN, A. T.; SUZUKI, M.; KIANG, A. S.; TAM, L. C.; GOBBO, O. L.; DHUBHGHAILL, S. N.; HUMPHRIES, M. M.; KENNA, P. F.; HUMPHRIES, P. - **On further development of barrier modulation as a technique for systemic ocular drug delivery.** *Adv Exp Med Biol.* Vol. 723. (2012). ISSN: 0065-2598.
93. CAMPBELL, M.; KIANG, A. S.; KENNA, P. F.; KERSEKENS, C.; BLAU, C.; O'DWYER, L.; TIVNAN, A.; KELLY, J. A.; BRANKIN, B.; FARRAR, G. J.; HUMPHRIES, P. - **RNAi-mediated reversible opening of the blood-brain barrier.** *J Gene Med.* Vol. 10. n.º 8 (2008). ISSN: 1521-2254.
94. ELKOUBY-NAOR, LIRON; BEN-YOSEF, TAMAR- **International Review of Cell and Molecular Biology.** Academic Press, (2010).ISBN: 1937-6448.
95. CAMPBELL, M.; NGUYEN, A. T.; KIANG, A. S.; TAM, L. C.; GOBBO, O. L.; KERSEKENS, C.; NI DHUBHGHAILL, S.; HUMPHRIES, M. M.; FARRAR, G. J.; KENNA, P. F.; HUMPHRIES, P. - **An experimental platform for systemic drug delivery to the retina.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* Vol. 106. n.º 42 (2009). ISSN: 1091-6490.
96. OCCHIUTTO, M. L.; FREITAS, F. R.; MARANHÃO, R. C.; COSTA, V. P. - **Breakdown of the blood-ocular barrier as a strategy for the systemic use of nanosystems.** *Pharmaceutics.* Vol. 4. n.º 2 (2012). ISSN: 1999-4923.