



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carolina Cainé Perdiz Silva João

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Olga Simões e da Dra. Rute Távora e Monografia intitulada “Desenvolvimento e Aplicação de Ácido Hialurónico em Fármacos Anti-tumorais” sob orientação da Professora Doutora Ana Telmo Cabral, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Carolina Cainé Perdiz Silva João

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Olga Simões e da Dra. Rute Távora e Monografia intitulada “Desenvolvimento e Aplicação de Ácido Hialurónico em Fármacos Anti-tumorais” sob orientação da Professora Doutora Ana Telmo Cabral, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Carolina Cainé Perdiz Silva João, estudante de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018285383, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Desenvolvimento e Aplicação de Ácido Hialurónico em Fármacos Anti-tumorais” 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 informação 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, 1 de setembro de 2023.

Carolina Cainé Perdiz Silva João

(Carolina Cainé Perdiz Silva João)

Agradecimentos

A toda a equipa da Plural + Udifar, em especial à Dra. Olga Simões, pela disponibilidade e empatia demonstradas desde o primeiro dia.

À Farmácia Matilde Soares pelo acolhimento, disponibilidade e experiência proporcionados.

À Dra. Rute Távora pela confiança que depositou em mim, por todos os conhecimentos transmitidos e grande exemplo de profissional a seguir.

À Dra. Sara Ventura, à Mariana, à Teresa e à Elsa por terem tornado o meu estágio uma experiência inigualável, por toda a ajuda, conhecimentos e momentos partilhados.

À Professora Doutora Ana Telmo Cabral pela disponibilidade e apoio prestados na orientação da minha Monografia.

A todos os professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra que contribuíram para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Aos meus pais e à minha irmã pelo apoio incondicional, por acreditarem em mim e estarem presentes ao longo de todo o meu percurso académico. Sem vocês não teria sido possível.

Ao João, pela presença assídua ao longo destes anos e pelo amor de todos os dias.

À Bárbara e à Raquel, companheiras inigualáveis desta viagem, por todos os momentos partilhados. Levo-vos comigo para a vida.

À madrinha Bia por ter desempenhado exemplarmente o papel de madrinha e amiga, por todo o carinho e dedicação. Sem ti este percurso não teria tido o mesmo encanto.

Aos meus amigos, por todos os momentos partilhados e por fazerem parte da minha vida.

A Coimbra, por me ter acolhido e ter sido a minha casa ao longo destes 5 anos.

Índice

Parte I – Relatório de estágio em Distribuição Farmacêutica

Abreviaturas.....	6
1. Introdução.....	7
2. Plural + Udifar	8
3. Análise SWOT	8
3.1. Pontos Fortes.....	9
3.1.1. Integração e acolhimento.....	9
3.1.2. Formação constante dos colaboradores e melhoria contínua	9
3.1.3. Qualidade e eficácia dos serviços prestados	10
3.1.4. Segurança e controlo de qualidade.....	10
3.2. Ponto Fracos.....	11
3.2.1. Afastamento do farmacêutico enquanto clínico.....	11
3.3. Oportunidades.....	11
3.3.1. Polivalência do farmacêutico	11
3.3.2. Forte aposta em inovação tecnológica.....	11
3.4. Ameaças	12
3.4.1. Dependência de fatores externos.....	12
3.4.2. Surgimento de genéricos e novos produtos.....	12
4. Conclusão.....	12
Bibliografia	14

Parte II – Relatório de estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	16
1. Introdução.....	17
2. Farmácia Matilde Soares	17
3. Análise SWOT	18
3.1. Pontos Fortes	18
3.1.1. Integração na equipa.....	18
3.1.2. Elevada dinamização	18
3.1.3. Fidelização dos utentes.....	19
3.1.4. Serviços	19
3.2. Pontos fracos	20
3.2.1. Medicamentos esgotados.....	20
3.2.2. Associação DCI a nome comercial.....	20
3.3. Oportunidades.....	20
3.3.1. SIFARMA® 2000 e novo módulo de atendimento SIFARMA®.....	20
3.3.2. Formação contínua.....	21
3.3.3. <i>Cross-selling</i>	21
3.4. Ameaças	22
3.4.1. Locais de venda de MNSRM.....	22
4. Casos práticos	22
4.1. Caso Prático 1 – Infecção fúngica vaginal	22
4.2. Caso Prático 2 – Herpes labial	23
4.3. Caso Prático 3 – Doença hemorroidária	23

4.4. Caso Prático 4 – Doença respiratória	24
4.5. Caso Prático 5 – Contraceção de emergência.....	24
5. Conclusão.....	25
Bibliografia	26

Parte III – Monografia – Desenvolvimento e aplicação de ácido hialurônico em fármacos anti-tumorais

Resumo	28
Abstract	29
Abreviaturas.....	30
1. Introdução.....	31
2. Ácido hialurônico	32
2.1. Propriedades físico-químicas e principais funções	32
2.2. Síntese e degradação da molécula.....	33
2.2.1. Hialuronidases	35
2.2.2. Ácido Hialurônico de elevado peso molecular	35
2.2.3. Ácido Hialurônico com reduzido peso molecular	36
2.3. Recetores do Ácido Hialurônico.....	36
2.3.1. Recetor <i>CD44</i>	37
2.3.2. <i>RHAMM</i> ou <i>CD168</i>	38
2.3.3. <i>LYVE1</i>	39
3. Ácido Hialurônico e o cancro	39
3.1. Propriedades do Ácido Hialurônico promissoras na preparação de fármacos anti-tumorais	40
3.2. Sistemas de administração de fármacos direcionados ao tumor	42
3.2.1. Nanomateriais à base de Ácido Hialurônico	43
3.2.2. Conjugados AH-fármaco.....	45
3.2.3. Hidrogéis à base de Ácido Hialurônico	47
3.3. Ácido Hialurônico como controlador da libertação de fármacos anti-tumorais ...	49
3.4. Potencial do Ácido Hialurônico na reversão de multirresistências a fármacos.....	49
4. Ácido Hialurônico e cancro colorretal.....	50
5. Conclusão.....	53
Bibliografia	54

Parte I

Relatório de estágio em Distribuição Farmacêutica

Plural + Udifar

Abreviaturas

BPD – Boas Práticas de Distribuição

GAP – Gabinete de Apoio Personalizado

SWOT – do inglês *Strengths, Weakness, Opportunities and Threats*

I. Introdução

O estágio curricular constitui uma das etapas fundamentais do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, visando a integração e aplicação prática dos conceitos teóricos adquiridos ao longo de 9 semestres.

Aquando da escolha do local de realização do primeiro estágio, a minha opção incidu sobre a vertente da distribuição farmacêutica por ser uma área diferente e que me permitiu adquirir novos conhecimentos e conhecer uma área de atuação diferente do farmacêutico.

A realização de um estágio curricular numa empresa em expansão e desenvolvimento, num mercado que se apresenta em crescente inovação e competição permitiu-me contactar com mais uma área de atuação do farmacêutico, o que será, certamente, uma mais-valia para o meu futuro profissional.

Segundo o n.º 1 do Artigo 3.º do Decreto Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto, a distribuição por grosso é definida como "*atividade de abastecimento, posse, armazenagem ou fornecimento de medicamentos destinados à transformação, revenda ou utilização em serviços médicos, unidades de saúde e farmácias, excluindo o fornecimento ao público.*"¹

A distribuição funciona como elo de ligação entre o fabricante - a indústria farmacêutica - e as farmácias comunitárias e hospitalares. Sendo a distribuição por grosso uma das fases do circuito dos medicamentos, necessita de regulamentação e autorização para o seu exercício. Para tal, é necessário cumprir as Boas Práticas de Distribuição de medicamentos de uso humano.

Segundo as Boas Práticas da Distribuição, o distribuidor por grosso tem de possuir um diretor técnico, farmacêutico, inscrito na Ordem dos Farmacêuticos e que se encontra sujeito aos deveres presentes no Decreto-Lei n.º 288/2001, de 10 de novembro. Dentro das funções do diretor técnico, é de realçar a garantia de aplicação e manutenção do Sistema de Gestão da Qualidade.²

A Plural + Udifar também comercializa medicamentos de uso veterinário, sendo esta atividade regulamentada pela Direção Geral de Agricultura e Veterinária.

Para atuar como distribuidor por grosso de medicamentos veterinários, deve ser titular de uma autorização de distribuição por grosso, de acordo com o n.º 1 do Artigo 99 do Regulamento (EU) 2019/6 e cumprir as boas práticas de distribuição de medicamentos veterinários, de acordo com o n.º 5 do Artigo 101 do mesmo Regulamento.³

2. Plural + Udifar

A Plural+Udifar é uma cooperativa que tem como missão o aprovisionamento, armazenamento e distribuição de medicamentos aos seus cooperadores, de acordo com as Boas Práticas da Distribuição. A empresa tem como objetivo a promoção de uma política social, com vista à prática de valores de solidariedade e equidade. Estes são os valores que caracterizam as empresas integradas na Economia Social, na qual se integram as cooperativas. Esta cooperativa possui mais de 40 anos de existência e é composta por 5 armazéns – Maia, Coimbra, Tortosendo, Cacém e Faro, sendo que a sua sede se encontra situada em Coimbra.

Durante o meu período de estágio, que decorreu de 10 de janeiro a 28 de fevereiro de 2023, sob orientação da Dra. Olga Simões, tive oportunidade de passar por vários setores da empresa e perceber o seu funcionamento e dinâmica.

A receção de encomendas inicia-se com a conferência de fatura, se os produtos pedidos coincidem com os recebidos, confirmação de preço e criação de número de recebimento. Através do número de recebimento é posteriormente feita a conferência de recebimento e entrada de mercadoria para armazém ou para *stock*.

No armazém, os produtos são arrumados na posição correta para estarem disponíveis no momento do aviamento. Esta arrumação também é feita com recurso a tecnologia para garantir que o produto correto estará na posição correta.

O armazém possui um *robot* de aviamento automático - *a-frame* - que é carregado manualmente, onde estão os produtos com maior rotação que são aviados automaticamente; um carrossel em que o aviamento é manual, com indicação automatizada do aviamento e é neste robot podemos encontrar substâncias controlas e produtos menos solicitados, com menor rotatividade. Outra parte do *picking* é realizada manualmente com recurso a aparelhos de radiofrequência em que ocorre verificação simultânea da posição, do produto e do baque.

Depois de preparados, a fatura é colocada automaticamente nos baques vão para o cais de expedição até seguirem para as respetivas farmácias.

3. Análise SWOT

O presente relatório de estágio tem como objetivo a realização de uma análise SWOT, uma ferramenta de gestão amplamente utilizada pelas empresas no desenvolvimento da estratégia empresarial. Esta análise foi criada por Kenneth Andrews e Roland Christensen e consiste num modelo de avaliação da posição competitiva e de organização do mercado. O termo SWOT é derivado da junção das iniciais dos pilares desta estratégica análise - *Strengths*

(Pontos Fortes), *Weakness* (Pontos Fracos), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças).⁴

Os pontos fortes e os pontos fracos fazem parte dos fatores internos, que existem dentro da empresa ou das suas principais parcerias e devem ter como principal foco os processos e soluções necessários para atender às necessidades do consumidor. As oportunidades e ameaças integram os fatores externos que envolvem assuntos decorrentes no ambiente externo da empresa e devem ser tidos em consideração pois o mercado possui características indispensáveis para o desenvolvimento da organização.⁴

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Integração e acolhimento

Desde o primeiro dia de estágio que fui bem recebido por toda a equipa da Plural + Udifar. Durante os 2 meses de estágio tive oportunidade de passar pelos vários setores da empresa – receção e conferência de encomendas, aviamento manual e com *robot*, reposição de *stock* de armazém, verificação de *stocks*, reclamações, gabinete de apoio ao cliente, gabinete de compras e gabinete de direção técnica - e conhecer o funcionamento de cada. Toda a equipa me acolheu bem e sempre se mostraram prontamente disponíveis para me ensinar e explicar detalhadamente cada processo.

3.1.2. Formação constante dos colaboradores e melhoria contínua

Uma das fortes apostas da Plural + Udifar é a formação contínua dos seus colaboradores. Tendo em conta o reduzido nível de escolaridade dos operários, a formação é extremamente importante para normalizar e melhorar os processos. Ao longo do meu período de estágio também eu tive oportunidade de participar em ações de formação sobre a metodologia *KAISEN*.

A cooperativa possui uma equipa especializada que se dedica todos os dias à melhoria contínua procedendo análise minuciosa dos processos, manuais e informatizados, com objetivo de reduzir os erros ao máximo, otimizar recursos e processos, levando à redução de custos e melhoria da qualidade dos serviços prestados.

3.1.3. Qualidade e eficácia dos serviços prestados

A rapidez e prontidão com que todo o processo de distribuição ocorre permite que os medicamentos cheguem às farmácias no menor tempo possível e nas melhores condições possível.

Ao longo do meu estágio tive oportunidade de passar pelos vários setores da empresa e perceber o funcionamento pormenorizado dos mesmos. Tudo está organizado e pensado ao pormenor para reduzir tempo, custos e aumentar a eficácia de todos os processos.

A relação de confiança e proximidade com as farmácias é muito importante e na Plural+Udifar tudo é pensado ao pormenor para que as falhas sejam reduzidas ao máximo.

Uma das principais missões da Plural+Udifar é a satisfação dos seus cooperadores e esta pode ser comprovada pela sua evolução comercial, o aumento de vendas, e pela redução significativa do número de “Aguardamos”, os produtos pedidos pelas farmácias que a Plural não dispunha para entrega imediata. A satisfação dos clientes é fundamental e para que esta seja alcançada são usadas diversas metodologias. O GAP (Gabinete de Apoio ao Cliente) é uma peça fundamental na interação da empresa com os seus clientes, sendo um serviço fundamental para o estabelecimento de relações de proximidade e confiança. É através deste serviço que as farmácias podem esclarecer as suas dúvidas, realizar algumas encomendas e tratar de reclamações.

3.1.4. Segurança e controlo de qualidade

A segurança e o controlo de qualidade são fundamentais neste setor. Na Plural + Udifar, o Sistema de Gestão da Qualidade, pelo qual a farmacêutica é responsável, abrange a organização, procedimentos, processos, recursos e atividades necessárias para garantir que o produto a ser fornecido às farmácias mantém a sua qualidade e integridade durante o respetivo armazenamento, aprovisionamento e transporte.

A cooperativa dispõe de uma Manual de Qualidade, elaborado e constantemente revisto e atualizado pela diretora técnica da empresa, farmacêutica, e onde constam as responsabilidades, características e a organização de todos os membros da empresa para auxiliar na gestão de recursos humanos e materiais. Os princípios da norma internacional para Sistemas de Gestão e Qualidade - ISSO 9001 - são implementados na cooperativa e é da responsabilidade da diretora técnica fazê-los cumprir.

3.2. Ponto Fracos

3.2.1. Afastamento do farmacêutico enquanto clínico

Na área de distribuição farmacêutica, o papel do farmacêutico é muito baseado na aplicação do sistema de gestão da qualidade e no cumprimento das Boas Práticas da Distribuição, constituindo assim uma ação muito legislativa e regulamentar.

Quando pensamos num farmacêutico rapidamente associamos a sua missão ao auxílio do doente, o que não acontece na distribuição farmacêutica.

Durante os 2 meses de estágio foi, sem dúvida, da parte clínica da profissão farmacêutica que senti mais falta.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Polivalência do farmacêutico

Na área da distribuição farmacêutica o farmacêutico enquanto diretor técnico tem ao seu encargo um enorme leque de funções. Desde a implementação e gestão do sistema de gestão da qualidade à gestão de recursos humanos, o papel do farmacêutico é notório. O farmacêutico tem o papel de responsável máximo por todos os produtos presentes no armazém, coordena a entrada de novos produtos e a retirada de outros, assegura as condições de armazenamento e manuseamento dos mesmos e participa na gestão ativa dos recursos humanos.

Apesar de haver um afastamento do farmacêutico enquanto prestador de cuidados de saúde, há todo um leque de funções diferentes e onde o farmacêutico tem um papel ativo. A distribuição farmacêutica é mais um exemplo de onde o farmacêutico pode integrar diversas funções, demonstrando a polivalência da profissão.

3.3.2. Forte aposta em inovação tecnológica

Atualmente, uma parte significativa dos procedimentos realizados na Plural são feitos de forma automatizada e com recurso a tecnologia.

Como referido anteriormente, na área da distribuição a rapidez e organização dos processos é um ponto chave para garantir as entregas com qualidade e num curto espaço de tempo. A aposta na inovação tecnológica é, sem dúvida, uma melhoria enorme e com grande contributo para redução do tempo dos processos, redução da possibilidade de erro e garantia de qualidade.

A componente tecnológica presente na Plural+Udifar foi uma das coisas que mais me fascinou e impressionou durante o meu estágio.

3.4. Ameaças

3.4.1. Dependência de fatores externos

A economia da Plural+Udifar está dependente da dos seus cooperadores, as farmácias.

São inúmeros os fatores que influenciam a sua economia, que varia facilmente e em curto espaço de tempo. O poder de compra das farmácias, os preços dos medicamentos praticado pelos seus fornecedores assim como todos os custos de logística associados fazem deste negócio algo instável.

É extremamente importante realizar uma gestão cuidada dos recursos e estar atento ao mercado. A cooperativa dispõe de um departamento financeiro e um departamento de compras que trabalham diariamente a logística de compras e vendas, tentando rentabilizar o negócio ao máximo.

A concorrência e a criação de contratos de exclusividade por parte da mesma é também um entrave na gestão do negócio.

3.4.2. Surgimento de genéricos e novos produtos

O constante surgimento de genéricos e novos produtos faz parte do dia-a-dia do mercado farmacêutico. Esta é uma problemática que obriga a uma atenção redobrada e boa gestão de compras para evitar excessos de *stock* mas também falhas de entregas a farmácias.

A Plural+Udifar possui um Departamento de Compras que trabalha diariamente na gestão dos produtos a adquirir. A gestão dos *stocks* tem de ser bastante ponderada porque as margens muitas vezes são reduzidas e o prejuízo supera o ganho.

No mercado farmacêutico as campanhas de marketing têm grande influencia o que leva à necessidade de atenção redobrada no momento das compras e gestão de *stocks*.

4. Conclusão

O farmacêutico é o profissional mais qualificado no que toca à gestão de todo o percurso dos medicamentos, desde todo o processo de investigação e descoberta de novas moléculas até ao momento em que o medicamento chega ao seu consumidor final.

A distribuição farmacêutica é mais uma área onde a atuação do farmacêutico é indispensável e insubstituível, embora muitas vezes não seja tão notada.

Considero que este estágio me ofereceu uma nova e mais ampla visão sobre o papel do farmacêutico e as inúmeras oportunidades profissionais disponíveis. É realmente impressionante visualizar todo o processo ao qual medicamentos e outros produtos de saúde

são sujeitos desde o momento em que saem do laboratório até chegar à farmácia. O contacto direto com a área da distribuição farmacêutica permitiu-me colmatar algumas falhas curriculares visto que esta não é uma área muito abordada ao longo do curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Toda a equipa da Plural+Udifar foi incansável desde o primeiro dia, incorporando-me sempre nas suas tarefas e demonstrando preocupação constante com a minha aprendizagem.

Considero que este estágio curricular foi bastante benéfico para o meu currículo porque me permitiu adquirir e solidificar conhecimentos sobre mais uma área que o curso de Ciências Farmacêuticas nos permite seguir.

Bibliografia

1. Ministério da Saúde. DL n.º 176/2006 de 30 de agosto. *Diário da República 1ª série*. Published online 2006:6297-6303. <http://www.portaldasaude.pt/NR/rdonlyres/D2D959FC-A937-4850-B0DC-B60E04F2108B/0/62976383.pdf>
2. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Deliberação n.º 77-A/CD/2021. Published online 2021:1-27.
3. Parlamento Europeu, Conselho da União Europeia. Regulamento (UE) 2019/6, de 11 de dezembro de 2018, relativo aos medicamentos veterinários e que revoga a Diretiva 2001/82/CE. *J Of da União Eur.* 2018;2018:43-167.
4. Humphrey A, Andrews K, Christensen R, Tzu S, Tzu SUN, Eftuar O. Análise SWOT. Published online 2008:20.

Parte II

Relatório de Estágio m Farmácia Comunitária

Farmácia Matilde Soares

Abreviaturas

DCI – Denominação Comum Internacional

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

PIM – Preparação Individualizada de Medicação

SWOT – do inglês *Strengths, Weakness, Opportunities and Threats*

I. Introdução

“A farmácia comunitária, dada a sua acessibilidade à população, é uma das portas de entrada no Sistema de Saúde. É um espaço que se caracteriza pela prestação de cuidados de saúde de elevada diferenciação técnico-científica, que tenta servir a comunidade sempre com a maior qualidade. Na farmácia comunitária realizam-se atividades dirigidas para o medicamento e actividades dirigidas para o doente. Para que o farmacêutico possa realizar estas actividades, necessita de instalações, equipamentos e fontes de informação apropriadas, ou seja, necessita que a farmácia possua a estrutura adequada para o cumprimento das suas funções.”¹

A farmácia comunitária é uma porta sempre aberta aos utentes, muitas vezes o seu primeiro recurso para problemas de saúde e necessidades diárias. O farmacêutico é um profissional extremamente bem preparado para responder às necessidades da população e a farmácia comunitária é um local onde o farmacêutico tem oportunidade de contemplar plenamente a sua função de agente de saúde pública.

Ao longo do tempo o papel do farmacêutico na farmácia comunitária tem sofrido alterações, deixando de estar centrado na dispensa do medicamento para ir mais além, na análise do perfil e necessidades do doente e no aconselhamento personalizado. O farmacêutico é um profissional extremamente qualificado e muitas vezes, o primeiro e único prestador de cuidados de saúde, devido à disponibilidade constante e acessibilidade das farmácias.

O presente relatório de estágio foi elaborado no âmbito da realização do meu estágio curricular na área de farmácia comunitária, na Farmácia Matilde Soares. O estágio curricular decorreu de 6 de março de 2023 até 8 de julho de 2022, sob a orientação da Dra. Rute Távora.

2. Farmácia Matilde Soares

A Farmácia Matilde Soares foi fundada em 1879 e desde 1981 que se encontra em sediada na Rua Dr. António José de Almeida, no concelho de Mira, tendo sido alvo de remodelações já no ano de 2016. Encontra-se localizada numa vila, junto a uma zona de praia, o que faz com quem tenha não só os seus clientes fidelizados como também muitos de passagem, em turismo. A farmácia possui um horário de funcionamento alargado – de segunda a sexta das 9:00h às 20:30h e sábados das 9:00h às 19:00h.

Pelo contacto que tive durante o meu estágio, é de notar que a farmácia possui um público alvo muito heterogéneo, diferentes faixas etárias, diferentes classes socioeconómicas e diferentes culturas, o que se tornou uma mais-valia para o meu desenvolvimento profissional, sendo um dos principais pontos fortes do meu estágio.

3. Análise SWOT

Para proceder à avaliação sucinta do decorrer do meu estágio recorri à análise SWOT, uma ferramenta de gestão amplamente utilizada pelas empresas no desenvolvimento da estratégia empresarial. Esta análise foi criada por *Kenneth Andrews* e *Roland Christensen* e consiste num modelo de avaliação da posição competitiva e de organização do mercado. O termo SWOT é derivado da junção das iniciais aos pilares desta estratégica análise – *Strengths* (Pontos Fortes), *Weakness* (Pontos Fracos), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças).²

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Integração na equipa

A Farmácia Matilde Soares é constituída por uma equipa maioritariamente jovem que integra farmacêuticos, técnicos de farmácia e técnicos auxiliares de farmácia. Desde o primeiro dia que foi notório o elevado grau de competência de todos, a dinâmica e a abertura e receptividade a novas ideias.

Durante o meu estágio, fui recebendo diariamente formação por parte de todos os colegas que me ajudaram e auxiliaram sempre da melhor forma na realização das tarefas diárias na farmácia.

Senti-me sempre bem integrada na equipa pelo constante apoio e auxílio que me foi prestado ao longo de todo o estágio.

3.1.2. Elevada dinamização

A Farmácia está em constante desenvolvimento, com introdução de novas marcas, dinamização de campanhas e aconselhamentos especializados das diversas marcas de produtos como dermocosmética e suplementação.

As montras e lineares estão em constante rotação e inovação, o que confere à farmácia uma mudança de imagem constante, suscitando curiosidade e interesse para o cliente. Todas estas alterações devem ser feitas tendo em consideração os interesses do público-alvo da farmácia. Durante o meu estágio tive oportunidade de participar na realização de diversas montras e reorganizações de lineares.

Desde anúncios televisivos a publicações em redes sociais, a informação publicitária disponível é casa vez maior. O setor farmacêutico, em específico a farmácia comunitária, pelo seu vasto leque de produtos, não é exceção. Por isso, é importante estar atento às tendências,

porque cada vez mais as pessoas são bombardeadas com publicidades e novos produtos, obrigando o farmacêutico a estar informado e a conhecer os produtos, para os aconselhar da melhor forma assim como à farmácia alargar os seus *stocks*.

3.1.3. Fidelização dos utentes

A Farmácia Matilde Soares encontra-se localizada numa vila e por isso possui um vasto leque no clientes fidelizados, o que faz com que haja uma grande relação de confiança do utente com a farmácia. Por isso, a farmácia é o lugar que procuram para esclarecer as suas dúvidas, sobre prescrições, desde a posologia, reações adversas e também interações medicamentosas e fármaco-alimento. O facto de os clientes terem a sua ficha de cliente na farmácia facilita o acesso ao seu historial de medicação o que é uma mais-valia no processo de acompanhamento farmacoterapêutico do doente. Muitas vezes o farmacêutico consegue ter acesso a dados cruzados de prescrições e aconselhar o doente da melhor forma.

A farmácia Matilde Soares dispõe ainda de um cartão de fidelização onde é acumulada uma percentagem dos gastos do cliente e que podem ser posteriormente descontados em compras na farmácia.

3.1.4. Serviços

Atualmente, a farmácia comunitária já não é só um local de dispensa de medicamentos. Cada vez mais as farmácias dispõem de serviços que ajudam a promover a saúde pública e o bem-estar dos utentes.

A Farmácia Matilde Soares dispõe de vários serviços como a administração de vacinas e medicamentos injetáveis, determinação de parâmetros bioquímicos (glicémia e colesterol), medições de pressão arterial, Preparação Individualizada de Medicação (PIM) e realização de Mapa 48H. A farmácia dispunha ainda de consultas de nutrição e serviço de podologia.

O facto de ter contactado e realizado alguns destes serviços foi benéfico para incentivar e realçar a relação de proximidade que o farmacêutico tem com o utente.

Na minha opinião estes serviços são mais do que apenas um serviço, são um momento onde o farmacêutico tem oportunidade de realizar em pleno as suas funções de agente de saúde pública, discutindo com o utente assunto como os estilos de vida e hábitos alimentares, podendo aconselhar medidas não farmacológicas e muitas vezes sinalizar problemas e doenças em que os doentes precisam de ser encaminhados para o seu médico de família.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Medicamentos esgotados

Ao longo de todo o meu estágio a falta de alguns medicamentos foi uma realidade bastante sentida. Alguns medicamentos apenas faltaram por curto espaço de tempo, outros por tempo indefinido. Este é um problema que impede o acesso dos doentes ao medicamento, gerando inseguranças e insatisfações muitas vezes expostos no balcão da farmácia. A veracidade do problema era muitas vezes questionada, colocando em causa o farmacêutico e consequentemente, o nome da farmácia.

Considero que esta foi uma das maiores problemáticas com que me deparei ao longo de todo o estágio. A falta de alternativa ao medicamento esgotado implica uma ida ao médico, por parte do utente, para alteração de medicação o que lhe causava constrangimento. Por outro lado, quando existia alternativa muitas vezes os utentes não se mostravam disponíveis para alterar a medicação, mesmo sendo apenas uma alteração no laboratório do medicamento.

Enquanto estagiária, considero que este problema foi especialmente sentido também devido à falta de confiança que os utentes possuíam em mim.

3.2.2. Associação DCI a nome comercial

A maioria dos utentes, quando aborda o farmacêutico para pedir os seus medicamentos, recorre apenas ao nome comercial do mesmo. No início do meu estágio, a associação do nome comercial ao DCI foi uma das principais lacunas. Durante o meu percurso académico, apenas tive contacto como DCI, o que dificultou esta interação com o utente. Muitas vezes tinha de recorrer a meios de pesquisa para conseguir perceber o que o utente pedia, o que me causava desconforto e atrasava o atendimento.

3.3. Oportunidades

3.3.1. SIFARMA 2000® e novo módulo de atendimento SIFARMA®

Ao longo do meu estágio tive oportunidade de conhecer e aprender a dominar quer o SIFARMA 2000®, quer o novo módulo de atendimento do programa SIFARMA®, tanto a nível de atendimento como de receção de encomendas. O SIFARMA® é uma ferramenta de trabalho essencial em farmácia comunitária. Permite rececionar encomendas, gerir stocks, controlar vendas e prazos de validade e, entre outras funcionalidades importantes no dia-a-dia da farmácia comunitária, é uma peça chave no atendimento. O novo módulo de atendimento é bastante intuitivo, moderno e inovador. Na minha opinião, as suas principais vantagens em

relação ao anterior é a maior rapidez e facilidade de receção de encomendas, o facto de gerir as reservas faturadas e não faturadas dos utentes, associando-as à ficha de cliente e o alerta de campanhas promocionais ativas na farmácia. São funcionalidades que facilitam e auxiliam o atendimento.

Na minha opinião, o facto de ter contactado com os dois sistemas foi uma mais-valia para o meu futuro profissional pois tratam-se dos sistemas informáticos mais usados nas farmácias.

3.3.2. Formação contínua

A formação contínua é indispensável para o desenvolvimento de qualquer profissional. Permite-nos validar os nossos conhecimentos e mantermo-nos constantemente atualizados, quer com aquisição de novos conhecimentos, quer com renovação e atualização de conhecimentos adquiridos anteriormente.

Na farmácia Matilde Soares tive oportunidade de realizar várias formações em diferentes áreas como dermocosmética, suplementação, homeopatia e dispositivos médicos.

Considero que todos os conhecimentos adquiridos ao longo do estágio, quer por formações, quer pelo contacto com a equipa da Farmácia Matilde Soares foram uma mais-valia para o meu futuro, permitindo-me prestar um melhor e mais completo aconselhamento ao doente. Este foi um dos principais pontos fortes do meu estágio.

3.3.3. Cross-selling

Cada vez mais a economia da farmácia depende da rentabilidade das suas vendas. É crucial que o farmacêutico se encontre apto e atento para analisar o atendimento com cuidado de modo a aproveitar oportunidades de venda, acrescentando-lhe valor através de vendas cruzadas, o chamado *cross-selling*.

O *cross-selling* é uma estratégia de *marketing* que consiste em vender outros produtos a um utente que já tenha adquirido outro produto ao vendedor, não descorando o benefício para o utente. Esta estratégia tem como objetivo final aumentar o volume de vendas e criar laços mais fortes na relação do utente com a sua farmácia.³

Este é um exemplo onde a formação e atualização contínua é crucial para conseguirmos completar vendas da forma mais correta e vantajosa, quer para o cliente quer para a farmácia.

3.4. Ameaças

3.4.1. Locais de venda de MNSRM

Ao longo do tempo o surgimento de outros locais de dispensa de MNSRM tornou-se uma grande ameaça para as farmácia comunitárias. Com o surgimento do *Decreto-Lei n.º238/2007, de 19 de junho* passou a ser permitida a venda de MNSRM fora das farmácias. ⁴

A acessibilidade a este tipo de medicamentos tornou-se muito mais fácil e os preços cada vez mais competitivos, sendo mais difícil para as farmácias igualar preços aos de grandes grupos.

Este problema não ameaça apenas a economia das farmácias, mas também a saúde da população. Como futura profissional de saúde considero preocupante que muitos medicamentos sejam dispensados por profissionais sem qualificação para tal. A fácil acessibilidade aos medicamentos pode levar ao uso incorreto dos mesmos o que terá repercussões da saúde da população.

4. Casos Práticos

4.1. Caso Prático I – Infecção fúngica vaginal

Utente com cerca de 40 anos dirige-se à farmácia com queixas de prurido e irritação vaginal. Começo o atendimento por questionar se sente alterações de odor e/ou cor no seu corrimento vaginal, ao qual a utente apenas referiu ligeira alteração na consistência do corrimento e presença de placas brancas na vagina. A utente referiu ainda a toma recente de antibiótico e afirma usar como medicação habitual apenas a pílula, Minigeste®. Todo o quadro era sugestivo de uma infecção fúngica vaginal.

Comecei por aconselhar *Gino Canesten®* creme vaginal para aplicação durante 6 dias, à noite. Este é um produto que tem como princípio ativo o clotrimazol, um antifúngico de largo espectro de atividade usado no tratamento de infeções na vagina, vulva ou pénis.

Complementarmente, aconselhei um gel de lavagem íntima *Lactacyd®* higiene íntima delicado, que possui um pH 3.5 e ácido L-lático para equilibrar e proteger a zona íntima e um suplemento alimentar *Advancis® Bacilpro gyno*, que contém diferentes estirpes de *Lactobacillus sp.*, para ajudar a reequilibrar e repor a flora genito-urinária da utente, que sofreu alterações, muito provavelmente, associada à toma recente de antibiótico. Recomendei que o suplemento alimentar fosse tomado uma vez ao dia, depois de uma das principais refeições.

4.2. Caso prático 2 – Herpes labial

Utente com cerca de 25 anos dirige-se à farmácia com queixas de herpes labial, há 2 dias. Ao analisar o lábio da utente percebi que se encontrava na fase da vesícula (bolha), apresentando-se ruborizado e inflamado.

Como medida não farmacológica recomendei a aplicação, não direta, de gelo na zona afetada para reduzir a inflamação. Alertei também para a necessidade de medidas de higiene adicionais para evitar o contágio de outras pessoas – não cumprimentar com beijo, não partilhar objetos como talheres, copos e batom e lavar bem as mãos sempre que contactarem com a lesão.

Perante o quadro apresentado dispensei *Zovirax® duo*, um creme labial que contém uma associação de aciclovir, um agente anti-viral com elevada atividade contra vírus *Herpes Simplex tipo 1 e 2*, e hidrocortisona, um corticosteróide com efeito anti-inflamatório. A posologia indicada foi a aplicação no local 5x por dia, durante 5 dias.⁵

Complementarmente, aconselhei um suplemento alimentar, *Herpixon®*, que possui na sua constituição equinácea, vitamina C, lisina, sulfato de zinco e sulfato de cobre. Este suplemento ajuda a reforçar o sistema imunitário e a acelerar o processo de cicatrização. Foi recomendada a toma de 2 saquetas (1 ao pequeno almoço + 1 ao jantar no primeiro dia) e 1 saqueta ao pequeno-almoço nos restante 7 dias.

4.3. Caso Prático 3 – Doença hemorroidária

Utente com cerca de 50 anos dirige-se à farmácia com queixas de doença hemorroidária. O doente refere dor intensa, presença de vestígios de sangue e fezes duras. Comecei por questionar se tinha historial de doença hemorroidária, ao qual o doente respondeu já ter sofrido anteriormente. O doente não se encontrava a realizar qualquer tipo de medicação no momento.

Como medidas não farmacológicas recomendei a não ingestão de alimentos condimentados nem de bebidas alcoólicas e o aumento da ingestão de água e de alimentos ricos em fibra. Alertei ainda para o recurso a água fria na lavagem da zona perianal e a necessidade de uma boa secagem da mesma.

Como medidas farmacológicas recomendei o uso de *Dulcosoft®* solução oral, *Daflon®* 1000 e *Procto-glyvenol®*.

Dulcosoft® é uma solução oral que contém macrogol, um laxante osmótico que permite aumentar o volume fecal, tornando as fezes mais moles o que facilita a defecação. A posologia

recomendada foi de uma toma única diária de 30mL da solução oral, durante 2 a 3 dias, até melhoria dos sintomas.

Daflon[®] 1000 é um medicamento composto por bioflavonóides (90% diosmina e 10% flavonoides expressos em hesperidina) que atua ao nível da microcirculação normalizando a permeabilidade capilar e reforçando a resistência capilar. Como posologia recomendei a toma de 3 comprimidos por dia, durante 4 dias, seguido de 2 comprimidos por dia, durante 3 dias e 1 comprimido por dia como terapêutica de manutenção até alívio total de sintomas.⁶

Procto-glyvenol[®] é um creme retal que tem na sua composição cloridrato de lidocaína, um anestésico local para alívio de dor e prurido associados, e tribenosídeo, um medicamento vasoprotetor com propriedades anti-inflamatórias que melhora o tónus vascular e reduz a permeabilidade capilar. A posologia recomendada foi a aplicação tópica à noite até desaparecimento dos sintomas.⁷

4.4. Caso Prático 4 – Doença respiratória

Utente com cerca de 30 anos vem à farmácia com queixas de tosse e dor de garganta. Comecei por questionar se os sintomas descritos tinham sido acompanhados de febre, ao qual a utente respondeu negativamente. Questionei ainda sobre o tipo de tosse, se sentia expetoração ou era apenas uma tosse seca ao qual a utente respondeu ter alguma expetoração que tinha dificuldade em expulsar. Referiu não tomar qualquer tipo de medicação.

Como medidas não farmacológicas recomendei o aumento da ingestão de água e a adoção de uma dieta equilibrada.

Relativamente a medidas farmacológicas aconselhei a toma de 1 comprimido efervescente uma vez por dia de *Fluimucil*[®], que contém acetilcisteína e é usado como adjuvante mucolítico para auxiliar a fluidificação e libertação das secreções que estariam a causar a tosse da utente.⁸ Aconselhei ainda o uso de pastilhas *Streptfen*[®] mel e limão que contém flurbiprofeno como substância ativa, o que lhes confere uma ação anti-inflamatória e analgésica. A posologia recomendada foi a toma de 1 pastilha 4 vezes por dia até melhoria dos sintomas.

4.5. Caso Prático 5 – Contraceção de emergência

Jovem com cerca de 20 anos dirige-se à farmácia para adquirir um método contraceptivo de emergência por ter tido relações sexuais desprotegidas. Comecei por questionar há quanto tempo tinha tido a relação sexual e quando ocorreu a sua última menstruação. A utente afirmou ter tido relações sexuais desprotegidas no dia anterior (há cerca de 24 horas) e que

a sua última menstruação tinha ocorrido há 1 semana. A utente negou a toma de qualquer medicação habitual.

Tendo em conta que a utente já se encontra num novo ciclo menstrual, aconselhei a toma de *Postinor*[®], que tem na sua composição levonorgestrel, um progestagénio que atua impedindo a ovulação e a fertilização caso a relação sexual tenha ocorrido na fase de pré-ovulação. Esta pílula garante eficácia apenas nas 72 horas seguintes à relação sexual desprotegida pelo que a doente foi informada que deveria proceder à sua toma o mais rapidamente possível.⁹

Ao fazer a dispensa deste medicamento alertei a utente para os possíveis efeitos adversos que poderia sentir depois da toma como o surgimento de uma hemorragia, descontrolo hormonal e alguns enjoos. Alertei ainda para a necessidade de uso de um método barreira nas relações sexuais seguintes e a procurar um ginecologista para encontrar um método contraceptivo seguro e adequado à sua situação.

5. Conclusão

Findado o meu estágio em Farmácia Comunitária posso afirmar a extrema importância desta Unidade Curricular para o meu futuro profissional. Foi, sem dúvida, uma oportunidade não só de adquirir novos conhecimentos como de conectar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo dos 5 anos de curso com a prática profissional.

Após a realização do meu estágio posso afirmar que a minha admiração pela profissão farmacêutica ficou ainda maior. O possibilidade de integração de uma equipa de trabalho e o contacto e aprendizagem diários com eles permitiu-me desenvolver novas capacidades e competências.

Na profissão farmacêutica e em especial na vertente de farmácia comunitária é crucial sabermos ouvir o utente e ter a perspicácia de lidar com as mais diversas situações, nunca descorando a responsabilidade e profissionalismo que devem estar presentes em cada atendimento.

Bibliografia

1. Farmacêuticos O. Dos. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF). *Cons Nac da Qualidade*, 3ª edição. 2009;3ªEdição:53.
2. Humphrey A, Andrews K, Christensen R, Tzu S, Tzu SUN, Efetuar O. Análise SWOT. Published online 2008:20.
3. Ansell J, Harrison T, Archibald T. Identifying cross-selling opportunities, using lifestyle segmentation and survival analysis. *Mark Intell Plan*. 2007;25(4):394-410. doi:10.1108/02634500710754619
4. Saúde M Da. Decreto-lei n.º 238 /2007, de 19 de junho. *D da Repub*. Published online 2007:2005-2007.
5. Infarmed. Resumo das Características do Medicamento - Aciclovir e Hidrocortisona. *Angew Chemie Int Ed* 6(11), 951–952. Published online 2021:2013-2015.
6. Servier Portugal. Daflon 1000 - Resumo das características do med. Published online 2020:1-23.
7. INFARMED I.P. Resumo das Características do medicamento - Procto-glyvenol. Published online 2023.
8. INFARMED I.P. Fluimucil 600 - Resumo das Características do Medicamento. Published online 2005.
9. INFARMED I.P. Postinor- Resumo das Características do Medicamento. Published online 2021:10.

Parte III

Monografia

“Desenvolvimento e Aplicação de Ácido Hialurónico
em Fármacos Anti-tumorais”

Resumo

O ácido hialurónico (AH) é o principal constituinte da matriz extracelular e desempenha importantes papéis a nível fisiológico, no corpo humano. É um glicosaminoglicano composto por ácido *D*-glucorónico e *N*-acetil-*D*-glucosamina.

Características como a reduzida estabilidade e curto tempo de semi-vida que este polissacarídeos natural possui são limitantes na sua utilização. Por isso, foram obtidos derivados de AH, nos quais as propriedades foram melhoradas, permitindo ultrapassar as limitações existentes no AH de origem natural.

Propriedades como a boa biocompatibilidade e degradabilidade, a elevada viscoelasticidade e não imunogenicidade tornam o AH um polímero promissor para diversas aplicações biomédicas.

O AH e os seus derivados são capazes de se ligar especificamente a recetores específicos da superfície celular amplamente presentes nos vasos linfáticos, fígados, rins e na maioria dos tecidos tumorais.

Ao longo dos últimos anos a sua popularidade tem aumentado devido às suas mais diversas aplicações. O AH tem sido cada vez mais utilizados em tratamentos de osteoartrite, tratamentos estéticos, cirurgias e na investigação e desenvolvimento de novos fármacos.

Ao longo deste trabalho irá ser abordado o papel do AH na aplicação e desenvolvimento de fármacos anti-tumorais, destacando um estudo realizado em doentes com cancro colorretal e os benefícios do recurso ao AH no seu tratamento.

Palavras-chave: ácido hialurónico, anti-tumoral, biocompatibilidade, degradabilidade, fármacos, cancro colorretal

Abstract

Hyaluronic acid (HA) is the main constituent of the extracellular matrix and plays important physiological roles in the human body. It is a glycosaminoglycan composed of D-glucuronic acid and N-acetyl-D-glucosamine.

Characteristics such as the low stability and short half-life of this natural polysaccharide are limiting its use. Therefore, HA derivatives were obtained, in which the properties were improved, allowing to overcome the limitations existing in the HA of natural origin.

Properties such as good biocompatibility and degradability, high viscoelasticity and non-immunogenicity make HA a promising polymer for various biomedical applications.

HA and its derivatives are able to specifically bind to specific cell surface receptors widely present in lymphatic vessels, livers, kidneys and most tumor tissues.

Over the last few years its popularity has increased due to its diverse applications. HA has been increasingly used in osteoarthritis treatments, aesthetic treatments, surgeries and in the research and development of new drugs.

Throughout this work, the role of HA in the application and development of anti-tumor drugs will be addressed, highlighting a study carried out in patients with colorectal cancer and the benefits of using HA in their treatment.

Keywords: hyaluronic acid, anti-tumor, biocompatibility, degradability, drugs, colorectal cancer

Abreviaturas

AH – Ácido Hialurónico

CD44 – do inglês *Cluster differentiation 44*

DDS – Sistema de Liberação de Medicamentos, do inglês *Drug Delivery Systems*

EGFR – Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico, do inglês *Epidermal Growth Factor Receptor*

EPR – Efeito de Permeação e Retenção

FQ – Físicas e Químicas

HAS – Ácido Hialurónico Sintetase, do inglês *Hyaluronic Acid Synthetase*

HYAL – Hialuronidase, do inglês *Hyaluronidase*

LYVEII – Recetor I de Hialuronano Endotelial de Vasos Linfáticos, do inglês *Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor I*

NCICTC – do inglês *National Cancer Institute Common Toxicity Criteria*

PDGFR – Recetor do Fator de Crescimento Derivados de Plaquetas, do inglês *Platelet-Derived Growth Factor Receptors*

pKa – Logaritmo da constante de acidez

PM – Peso Molecular

PTX – Paclitaxel

RHAMM ou CD168 – Recetor Para a Motilidade Mediada por Ácido Hialurónico

RTKs – Recetor Tirosina Cinase

VEGFR-2 – Recetor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular-2, do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor Receptors*

I. Introdução

Historicamente, o ácido hialurónico (AH) foi isolado pela primeira vez em 1934 por *Karl Meyer* e *John Palmer* a partir do corpo do olho vítreo de um bovino. No entanto, a sua estrutura só foi descrita em 1970 por *Laurent*. No ano de 1986, *Balazs* propôs “hialuronano” em alternativa a AH, porque a pH fisiológico os grupos carboxilo encontram-se dissociados e atraem catiões. Na década de 1950 ocorreu a primeira utilização clínica de AH, numa cirurgia oftálmica.¹

O AH, cuja molécula se encontra representada na Figura 1, é um polissacarídeo natural linear composto por ácido *D*-glucorónico e *N*-acetil-*D*-glicosamina, unidos por ligações glicosídicas β -(1,3) e β -(1,4). A molécula de AH possui grupos hidrofílicos – o grupo hidroxilo, o grupo carboxilo e o grupo acetamida - que lhe permitem formar ligações de hidrogénio a nível intracelular, conferindo à molécula hidrofílicidade e boa solubilidade.²

Os átomos de hidrogénio axiais (C-H), compõem um domínio hidrofóbico na molécula de AH, o que lhe confere propriedades anfifílicas, de elevada utilidade na formação de nanopartículas e micelas.³

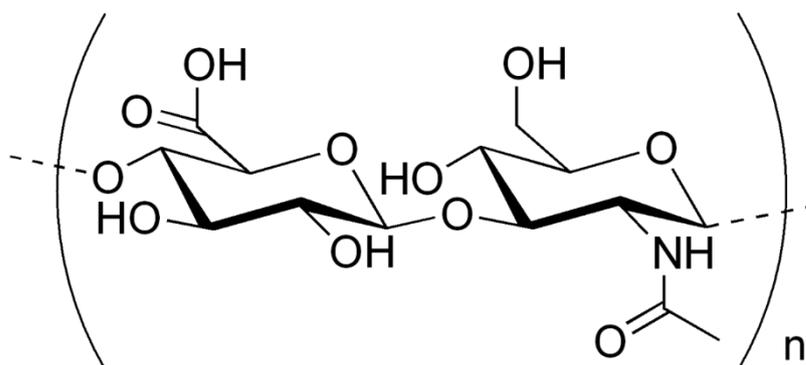


Figura 1 – estrutura molecular do ácido hialurónico⁴

O facto de o AH ser um polissacarídeo de origem natural interfere na sua aplicação, devido à estabilidade comprometida e ao reduzido tempo de semi-vida. Esta limitação pode ser superada através dos derivados de AH que resultam da sua modificação.

O AH é um material com carga negativa, devido à presença dos grupos carboxilo, que são capazes de interagir com catiões extracelulares, como é o caso do sódio, e formar hialuronato de sódio. Esta é uma propriedade diferenciadora que pode ser benéfica para a apresentação de fármacos carregados na formulação de nanopartículas, que iremos abordar mais à frente. Os grupos carboxilo do AH apresentam um pKa entre 3-4, o que permite a sua dissociação em condições fisiológicas.³

2. Ácido hialurónico

2.1. Propriedades físico-químicas e principais funções

No corpo humano é possível destacar papéis fisiológicos e biológicos importantes do AH. São as suas propriedades físicas e químicas que permitem distinguir este polissacarídeo dos restantes glicosaminoglicanos.

Entre as suas principais características destacam-se a boa biocompatibilidade e degradabilidade, elevada viscoelasticidade e plasticidade e o facto de não apresentar propriedades tóxicas nem imunogénicas. O AH possui ainda um elevado efeito hidratante, devido à sua capacidade de retenção de água.

Este glucosaminoglicano não sulfatado pode ser encontrado nos tecidos epiteliais e conjuntivos dos vertebrados e é o principal componente da matriz extracelular. A concentração e distribuição de tamanho de AH varia de acordo com o tipo de tecido em que se encontra, a idade e a gravidade da doença.

A variedade de funções que o AH possui é controlada pela modulação da concentração, do comprimento da cadeia de açúcar, da taxa de renovação e ainda pelos estados de associação do AH com moléculas de ligação.

O AH tem uma elevada capacidade de hidratação, o que lhe permite aumentar muito o seu volume, após a absorção de água. Quando se encontra em solução aquosa, o AH forma uma estrutura helicoidal dupla que é estabilizada por ligações de hidrogénio intermoleculares.

⁵

Se o AH se encontrar em elevadas concentrações numa solução, é capaz de formar uma estrutura em malha, com grande elasticidade, devido a auto-associações decorrentes entre si e também interações por força repulsivas. Se uma força contínua for aplicada em determinada direção, esta estrutura de malha é capaz de se alinhar e demonstrar viscosidade, mantendo parcialmente as suas ligações intermoleculares. Estas são as propriedades que fazem do AH uma malha tridimensional de elevada viscoelasticidade. ⁵

A carga negativa natural que o AH possui, conferida pelos grupos carboxilo permite-lhe ligar-se a grandes quantidades de água e formar um gel altamente viscoso que tem participação ativa nos processos de lubrificação de articulações e tampão para tecidos circundantes, contribuindo também para processos de regeneração e remodelação de tecidos, como é exemplo o processos de cicatrização. ⁶

Assim, pelas suas propriedades físicas e químicas conseguimos perceber que o AH hidrata a matriz extracelular o que contribui para a manutenção da integridade mecânica,

homeostase, viscoelasticidade e lubrificação dos tecidos, devido ao seu elevado peso molecular e elevada hidrofília.

O AH não tem apenas funções estruturais, ele é capaz de ativar transduções de sinais aquando da sua interação com recetores de superfície celular para regular comportamentos celulares dinâmicos como a proliferação, adesão e migração celulares.⁵

No campo intracelular, o AH regula a adesão, migração, proliferação e diferenciação celular através da sua ligação a recetores específicos da superfície celular - *CD44* ou *RHAMM* -. Participa também em processos de inflamação, cicatrização de feridas, angiogénese, progressão tumoral e metastização.⁷

Considerando as propriedades FQ, conseguimos perceber que o AH tem um papel fundamental no nosso organismo, sendo crucial em condições que fisiológicas, quer patológicas. Ao longo deste trabalho iremos abordar as características já referidas em maior detalhe e como podem elas ser benéficas no desenvolvimento de novos fármacos.

2.2. Síntese e degradação da molécula

Para melhor entendermos a sua utilidade na aplicação e desenvolvimento de fármacos anti-tumorais, iremos descrever de forma sucinta os processos de síntese, renovação e degradação da molécula de AH.

Por norma, os glucosaminoglicanos são sintetizados no interior da célula, no aparelho de Golgi, e depois exocitados. No caso do AH, este processo ocorre de maneira diferente. É sintetizado por 3 enzimas transmembranares – a AH sintetase 1 (*HAS1*), AH sintetase 2 (*HAS2*) e AH sintetase 3 (*HAS3*), do lado interno da membrana plasmática. Estas enzimas participam na extensão da molécula de AH por adição repetida de ácido *D*-glucorónico e *N*-acetilglucosamina ao polissacarídeo resultante. De seguida, o AH é translocado para o espaço extracelular, pelo transportador ABC, e ocorre o alongamento da cadeia polimérica, através dos poros das estruturas das AH sintetases. A expressão destas 3 enzimas varia consoante a morfogénese e as condições patológicas, gerando AH com diferentes pesos moleculares.¹

Foi proposto que *HAS3* produz moléculas com menor peso molecular do que *HAS1* e *HAS2*. *HAS1* é a enzima menos ativa e com um papel ainda mal compreendido nas condições fisiológicas e patológicas. *HAS2* é ativa durante a fase de desenvolvimento embrionário, produzindo AH de elevado peso molecular, importante na coordenação de processos celulares decorrentes no desenvolvimento inicial. *HAS3* é a enzima mais ativa e gera quantidades elevadas de AH de baixo peso molecular, durante o crescimento e reparação tecidulares. Esta enzima é um elemento fundamental na matriz extracelular, devido ao seu

contributo para a resistência a forças compressivas do tecido, homeostase e hidratação da superfície articular. ¹

Cerca de 30% é degradado por ação das hialuronidasas e de espécies oxidativas, o restante, é catabolizado no fígado por células endoteliais e nos vasos linfáticos. ⁷

As vias metabólicas para a síntese e degradação do AH controlam muito bem a concentração, taxa de renovação, e o tamanho molecular do AH nos tecidos. ⁸

O processo de renovação varia entre 12-24h, como tempo de semi-vida na pele, e minutos na corrente sanguínea. O AH que se encontra em circulação no sangue é catabolizado nos gânglios linfáticos e no fígado.

Estudos realizados recorrendo a injeção intravenosa de AH marcado, determinaram que o fígado e o baço são as principais vias de remoção do AH, e que 88% do AH injetado é absorvido pelo fígado. Concluindo-se assim que a via principal e mais rápida de eliminação do AH é a via hepática. ⁹

Falemos agora do processo de catalisação do AH. Este decorre por 2 processos principais – enzimático e não enzimático. Quando falamos de degradação enzimática esta encontra-se associada a hialuronidase. Os processos enzimáticos de catálise decorrentes no AH ocorrem nas ligações β -1,4-glicosídicas da molécula. Como etapas do processo de degradação do AH temos a clivagem do AH de elevado peso molecular em oligossacáridos de tamanho mais reduzido, pela hialuronidase e, de seguida, β -D-glucuronidase e β -N-acetil-hexosaminidase degradam ainda mais estes fragmentos dos oligossacáridos. As enzimas mencionadas estão presentes nos tecidos do corpo humano e têm ação numa vasta gama de pH. ⁹

Relativamente aos processos de degradação do AH não enzimáticos, estes ocorrem na presença de espécies reativas de oxigénio. Os produtos resultantes desta degradação são bastante diferentes do AH de origem, diferindo dos da degradação enzimática, que acabam por ser apenas fragmentos mais pequenos do AH original.

Os fragmentos resultantes da degradação do AH promovem o crescimento das células endoteliais, induzindo a angiogénese. No campo do desenvolvimento tumoral, estes fragmentos possuem ainda uma ação imunomoduladora, levando a que haja uma diminuição da “vigilância imunitária” do tumor. ⁵

Podemos assim concluir que é necessário equilíbrio entre a síntese e a degradação do AH para a manutenção da qualidade das moléculas, para que tenham um tamanho adequado e as suas propriedades se mantenham na normalidade.

2.2.1. Hialuronidases

São as enzimas responsáveis pela degradação do ácido hialurônico e estão presentes em vários tecidos. No corpo humano, é possível encontrar 6 tipos de hialuronidases – *HYAL-1*, *HYAL-2*, *HYAL-3*, *HYAL-4*, *PH-20/SPAMI* e *PHYAL134*.

No processo tumoral há um grande envolvimento de hialuronidase, daí a importância delas para o desenvolvimento deste tema. Várias destas enzimas atuam no processo de supressão tumoral.

Até ao momento a *HYAL-1* e a *HYAL-2* são as mais caracterizadas e encontram-se amplamente expressas em tecidos somáticos, atuando em conjunto para degradar as cadeias de AH. Inicialmente, na superfície celular, a *HYAL-2* liga-se ao AH e internaliza-o em vesículas onde as moléculas são clivadas em pequenos fragmentos. De seguida, os fragmentos obtidos são digeridos pela *HYAL-1* em tetrassacarídeos.¹

As hialuronidases aumentam a permeabilidade do tecido conjuntivo e diminuem a viscosidade dos fluidos corporais. Fragmentos de AH degradados por ação das hialuronidase difundem-se pelos tecidos e ligam-se aos recetores das células periféricas, indo atuar como sinais intercelulares.⁵

Num tumor e no seu microambiente predomina um estado de hipoxia que produz um efeito positivo na atividade das hialuronidases, levando à produção de fragmentos de AH de baixo PM, responsáveis pela promoção da angiogénese, ajudando ao processo de metastização.⁶

O nível de expressão desta enzima é mais elevado em casos de metastização do que em tumor primário e os seus elevados níveis estão associados à malignidade do tumor. A hialuronidase degrada o AH em componentes de reduzido peso molecular, depois de este ser absorvido por células cancerígenas, através da endocitose mediada pelo recetor *CD44*.

Em microambiente tumoral é notória uma grande expressão de AH e isto demonstra a ocorrência de atividades biológicas complexas.³

2.2.2. Ácido Hialurónico de elevado peso molecular

Em situação de homeostase, é possível encontrar AH de elevado peso molecular em quase todos os tecidos do corpo humano. Este possui funções protetoras, ao nível da inflamação, embriogénese, cicatrização de feridas e também em casos de cancro.

Ao falarmos do papel do AH de elevado PM no tratamento/auxílio ao tratamento de cancro importa falar das suas propriedades anti-angiogénicas. Foi capaz de demonstrar capacidade de impedir o crescimento de células musculares lisas a nível vascular, preservando

as células em fase G1. Tem ainda a capacidade de reforçar as conexões intercelulares e diminuir a permeabilidade da matriz extracelular, o que evita a invasão por células estranhas. O facto de AH de elevado PM gerar uma matriz extracelular mais espessa auxilia na prevenção de metástases.¹⁰

Um estudo realizado usando um modelo de dano pulmonar induzido, a terapia intraperitoneal com AH de elevado PM bloqueou a infiltração de monócitos e neutrófilos, o que demonstrou a sua capacidade de suprimir a migração e crescimento de células tumorais.¹⁰

Assim, devido às suas propriedades anticancerígenas, esta foi considerada uma substância atraente e promissora para melhorar tratamentos de quimioterapia adjuvante e neoadjuvante, através da sua administração exógena.

Existe outra função do AH de elevado PM com especial relevância para a terapêutica anti-tumoral, a função antioxidante, que permite minimizar os danos causado pelas espécies reativas de oxigénio. Foi observado que o AH pode defender os fibroblastos da pele do humana dos efeitos carcinogénicos, provocados pelo stress oxidativo.¹⁰

2.2.3. Ácido Hialurónico com reduzido peso molecular

Os fragmentos de AH de baixo PM estão associados a tumores sólidos mais agressivos e alguns estudos provaram que anticorpos ou pequenos oligómeros de AH são capazes de inibir a sua ligação aos recetores celulares de AH, sendo assim eficazes ao interromper a invasão de células tumorais.¹

Os produtos resultantes da degradação do AH de baixo PM são frequentemente associados ao aumento da invasão por células cancerígenas, ao crescimento tumoral e ao aumento da angiogénese. Existem dados científicos que comprovam os efeitos pró-inflamatórios do AH de baixo PM no desenvolvimento de tumores e metástases.¹⁰

2.3. Recetores do Ácido Hialurónico

O conhecimento dos recetores celulares de AH é extremamente importante para compreender o seu papel biológico nas células pois são capazes de estimular cascatas de eventos como a motilidade, adesão e proliferação celulares.

Embora o AH se ligue aos recetores de forma não específica, o polímero é capaz de atuar como uma porção de direcionamento ativo para entrega intracelular de fármacos anti-tumorais.¹¹

Diretamente e mais relacionado com o assunto em análise nesta monografia temos o recetor *CD44*. Contudo, iremos abordar sucintamente outros e as suas funções.

2.3.1. Recetor *CD44*

O recetor *CD44* é uma glicoproteína “cluster” de diferenciação que se encontra presente na superfície celular e está envolvida nas interações entre o AH e a superfície de células específicas, na proliferação celular, na adesão e migração celular. Trata-se de um recetor de AH, muito estudado e que se encontra expresso em quase todos os tipos de células humanas. Desempenha um papel ativo na adesão celular, migração e formação de tecidos. Atividades como a adesão e disseminação dos linfócitos se encontram associadas ao mesmo.

10

O *CD44* participa em muitos processos fisiológicos e fisiopatológicos, por interação com o AH e ativação de cascatas de sinalização. Estas interações iniciam-se com a expressão de genes relacionados com o crescimento e sobrevivência celular e indução de rearranjos no citoesqueleto e na membrana, conduzindo à migração celular ativa.⁵

Em situações patológicas, como é o caso do cancro, o recetor *CD44* encontra-se envolvido em processos de invasão e metastização, devido à ativação do recetor *HER2* da tirosina cinase, e ocorre a promoção da associação de isoformas de *CD44* a proteínas do citoesqueleto, causado pela sua interação com o AH. Nas células cancerígenas a estrutura do *CD44* é alterada pois estas células estimulam o “*splicing*” alternativo e as modificações pós-tradução, levando à produção de diferentes isoformas da proteína *CD44*, com maior ligação ao AH.⁶

É de notar que este recetor se encontra com elevada expressão em vários tipos de cancro e está associado a processos como a progressão tumoral, infiltração e metastização. Por estas razões, tornou-se o alvo de muitos investigadores para o desenvolvimento de sistemas de administração de fármacos direcionados ao tumor.³

Entre a sobreexpressão do *CD44* em células cancerígenas, são de destacar as do cólon, ovário, mama e carcinoma escamoso.

A ação do AH enquanto molécula de sinalização depende da sua afinidade para com o *CD44*, que está diretamente relacionada com a concentração e peso molecular do AH.¹¹

Contudo, a seleção do recetor *CD44* pelos sistemas de entrega de fármacos é afetada pela depuração hepática do *CD44* que ocorre por intermédio do recetor *HARE*, que se encontra localizado essencialmente nas células endoteliais do fígado e do baço. Também o comprimento da cadeia de AH é um fator influenciador nas vias de sinalização intracelulares e

nos seus efeitos biológicos. Assim, vários comprimentos de moléculas de AH podem atuar como supressores tumorais ou promotores de crescimento tumoral. ¹¹

Relativamente a este recetor, existem várias isoformas e através da expressão das mesmas conseguimos perceber perante que tipo de células estamos, como por exemplo, células cancerígenas.

A isoforma padrão de *CD44* é o *CD44s* que está presente em tecidos saudáveis. *CD44v* é a isoforma que se expressa muito em células cancerígenas. Em caso de cancro, o *CD44v* apresenta elevada ligação de AH. *CD44v6* é uma isoforma específica do *CD44v* e é o principal recetor sobreexpresso em tecidos tumorais e que não se encontra em tecidos normais. Importa salientar que esta isoforma ocorre em tumores metastáticos mas não em tumores não metastáticos. Assim, o nível de expressão desta isoforma específica está associado à progressão tumoral. ¹¹

O nível de expressão de *CD44v* encontra-se relacionado com a progressão tumoral e, foi demonstrado que quando está presente em células tronco cancerígenas é capaz de se renovar e facilitar a sua mobilidade.

As isoformas do recetor *CD44* regulam a função celular por meio de recetores importantes na génese tumoral, tais como o recetor tirosina cinase (RTKs), o recetor do fator de crescimento endotelial vascular-2 (VEGFR-2), o recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Estes recetores participam no aumento/supressão de vias de sinalização como Wnt e Fas, vias essas que afetam a inibição de mecanismos de apoptose em células tumorais e desenvolvimento de resistência a fármacos. ¹⁰

2.3.2. RHAMM ou CDI68

É um glicosaminoglicano da matriz extracelular que é alternativamente ligado e as suas formas truncadas podem ser encontradas na membrana celular, no citoplasma, no núcleo e no citoesqueleto. Tem um papel participativo no crescimento celular, diferenciação e motilidade celular. Participa também em processos como a cicatrização de tecidos e a carcinogénese.

O recetor intracelular *RHAMM* medeia o ciclo celular, especificamente a formação e integração do fuso mitótico. Pelo facto de desencadear várias vias de sinalização e controlar células como macrófagos e fibroblastos, esta interação é benéfica em processos de inflamação e reparação de tecidos. ⁶

A sobreexpressão deste recetor associa-se à promoção do crescimento tumoral e metastização. No caso específico do cancro, este recetor tem expressão aumentada,

relativamente a células de tecidos normais, e encontra-se presente em tumores sólidos como estômago, cólon, próstata, mama e pulmões.

Este recetor coexiste com o *CD44* e encontra-se também relacionado com a progressão, invasão e metastização tumoral.

2.3.3. LYVEII

O *LYVEI* é uma glicoproteína transmembranar, semelhante ao *CD44* mas expressa por endotélios linfáticos. É usado como marcador de vasos linfáticos e para os distinguir de vasos sanguíneos. Esta glicoproteína está envolvida no transporte de AH dos tecidos para a linfa por meio das células endoteliais linfáticas e medeia, ainda que indiretamente, a entrada de leucócitos nos vasos linfáticos. ¹

3. Ácido Hialurónico e o cancro

Atualmente, o recurso à quimioterapia ainda faz parte das estratégias mais usadas para o tratamento do cancro. Contudo, esta apresenta inúmeros riscos e limitações como a baixa solubilidade de alguns fármacos, o reduzido tempo de circulação na corrente sanguínea, baixa seletividade das formulações para o tumor e potenciais efeitos colaterais graves. A toxicidade sistémica e a falta de seletividade tumoral são um entrave para a chegada de novas moléculas quimioterapêuticas à prática clínica. Todos estes riscos acabam por limitar a dose de medicamento possível de administrar ao doente.

O AH desempenha um papel importante no envelhecimento, senescência celular, desenvolvimento e progressão tumoral e na homeostase tecidual. As diferenças de peso molecular de AH afetam as suas funções e processos fisiológicos. Os efeitos de AH em ambiente patológico encontram-se muito relacionados com alterações na massa do polímero.

O aumento da síntese de AH é responsável pela apoptose e resistência a medicamentos e invasão por parte do tumor, por isso, na maioria dos casos, aumentos significativos de AH estão associados a maus prognósticos. Um aumento da quantidade de AH presente num ambiente tumoral está associado ao aumento da pressão intersticial, levando à constrição do lúmen dos vasos sanguíneos que irrigam o tumor, levando à hipoxia dos tecidos e resistência a medicamentos. ²

Modificações anormais no metabolismo do AH têm sido associadas a doenças inflamatórias severas e a malignidade tumoral.

Como referido anteriormente, o AH de elevado PM possui os efeitos anti-inflamatórios, anti-proliferativos e anti-angiogénicos, auxiliando também na cicatrização de

feridas. Em condições homeostáticas, o AH encontra-se em quase todos os tecidos corporais, na sua forma de elevado peso molecular.

Contrariamente, em condições patológicas como a inflamação e a carcinogénese são revelados indícios de fragmentação de AH aumentada, o que leva à presença de uma maior quantidade de AH de baixo peso molecular.

Por alteração das propriedades biológicas e mecânicas do tecido tumoral, o AH promove a separação celular na fase mitótica, forma uma matriz hidratada e aumenta a mobilidade e a proliferação celular.

Na rápida progressão de neoplasias malignas, a biossíntese e a degradação de ácido hialurónico estão significativamente aumentadas, comparativamente aos tecidos normais, o que pode aumentar a formação de matriz de AH e a produção de AH de elevado peso molecular, assim como os seus fragmentos. Isto faz com que as células tumorais fiquem expostas a um microambiente composto por matriz e fragmentos de AH. Devido à sua boa capacidade de retenção de água, o AH de elevado PM é capaz de formar uma matriz extracelular com condições favoráveis para a proliferação e migração das células cancerígenas.

⁵ A presença de uma matriz rica em AH pode contribuir para a motilidade celular, necessária para a progressão metastática.

A remodelação do microambiente tumoral, provocada pela constante produção e degradação excessivas de ácido hialurónico contribui para a sobrevivência e progressão maligna de células cancerígenas.

Entendemos assim que o aproveitamento das propriedades do AH, dos seus recetores e das hialuronidases podem beneficiar tratamentos futuros para cancro.

3.1. Propriedades do Ácido Hialurónico promissoras na preparação de fármacos anti-tumorais

O AH é importante na regulação do movimento celular, desde o desenvolvimento embrionário e também em processos como a progressão tumoral. A produção de AH de elevado peso molecular, na ausência de fragmentação, está associada a resistência ao cancro, enquanto o AH de baixo peso molecular está associado à progressão tumoral. As células de reduzido peso molecular aumentam a motilidade celular, enquanto as de elevado peso molecular inibem o mesmo movimento. ¹

Ao longo deste trabalho os vários efeitos biológicos do AH descritos podem parecer contraditórios, mas isto deve-se aos vários tipos de preparações baseadas em AH que têm

aplicações biomédicas diferentes e por isso devem ser bem estudadas para que a sua aplicação seja correta e se possa tirar partido dos seus benefícios.

Quando falamos do papel do AH na terapia do cancro, não falamos apenas de um modo de ação nem de uma só aplicação. O AH pode ser usado em várias vertentes e com diferentes funções. As características já referidas como a boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e a capacidade do *CD44* internalizar o AH fazem com que este se torne útil como sistema transportador de fármaco e para a formação de nanopartículas ou lipossomas.

Os conjugados AH-fármaco vão beneficiar do efeito de “melhor capacidade de permeabilidade e retenção” (EPR) que o AH lhes irá conferir e por isso, são muito promissores para o desenvolvimento de novas terapias. ¹¹

A interação AH-*CD44* afeta a proliferação, sobrevivência, motilidade, invasão e quimiorresistência das células. ²

O AH contribui significativamente para o processo de progressão tumoral. A sua acumulação no estroma tumoral pode modular a proliferação celular, a motilidade e invasão tumoral, podendo ainda atuar como regulador da angiogénese. (4) ³

A conjugação de fármacos com AH faz com que seja possível aumentar a afinidade dos nanotransportadores e reforça a capacidade de direcionamento para as células tumorais, através da endocitose mediada por AH-*CD44*.

O AH tem a capacidade de se ligar a proteínas específicas, as hialderinas. Algumas são proteínas de membrana como é o caso do *CD44*, *CD168*, e *LYVE1*. Depois de interagir com as hialderinas presentes na superfície celular, o AH consegue ativar sistemas de sinalização intracelular envolvidos na proliferação, diferenciação, motilidade celular e até na degradação do próprio AH. ¹

Para a atingir as células tumorais, um dos recursos usado é a interação AH-*CD44*, que, como falado anteriormente, a ligação excessiva está associada a proliferação excessiva e metastização. Assim, interrompendo a ligação *CD44*-AH, é possível desativar vias de progressão tumoral e minimizar a agressividade destas células tumorais. ¹⁰

Assim, conseguimos entender que a elevada afinidade do AH para com o recetor *CD44* nas células tumorais é de grande interesse para o revestimento da superfície de nano transportadores de fármacos com AH.

Não só os recetores de AH apresentam grande potencial no desenvolvimento de fármacos anti-tumorais. Também as hialuronidasas e a sua administração exógena apresenta benefícios neste ramo. A administração concomitante de hialuronidase a agentes anti-tumorais permite que estes últimos penetrem mais facilmente na célula, originando uma melhor resposta ao tratamento e a possibilidade de utilização do fármaco em doses mais baixas. O

excesso de hialuronidase permite inibir a ação pró oncogénica do AH, por isso, a sua administração exógena é benéfica no tratamento de tumores. ²

O recurso a nanotransportadores à base de AH como métodos de administração de fármacos tem sido associado à redução do crescimento do tumor, melhoria da qualidade de vida do paciente por diminuição de toxicidade do fármaco.

Também o uso de nanopartículas lipídicas revestidas com AH como transportador de fármacos biocompatíveis apresenta grande potencial porque não afeta outros tecidos saudáveis e reduz os efeitos secundários muito associados a terapêuticas deste género.

O AH foi usado na formulação de nanopartículas para distribuição direcionada de fármacos quimioterápicos para células cancerígenas, recorrendo aos recetores de AH presentes na superfície celular.

3.2. Sistemas de administração de fármacos direcionados ao tumor

Os sistemas de administração de fármacos direcionados ao tumor têm tido muitos progressos desde a descoberta do efeito de permeação e retenção (EPR) que o AH possui. Para se conseguir uma entrega específica por DDS, foram propostas estratégias como a incorporação de ligandos sensíveis a pH, redox ou reações enzimáticas, de acordo com as características específicas de cada microambiente tumoral. Um dos métodos utilizados para melhorar a seletividade para o alvo dos DDS consiste em ligá-los a ligandos que podem ter como alvo antígenos tumorais específicos ou moléculas *CD44*. ¹²

Para abordarmos a entrega de fármacos com recurso ao AH, importa saber como é modificado o AH para conseguir atuar como transportador/direcionador de fármacos. Reações químicas como co-polimerização, reticulação, enxerto e formação de hidrogéis são comumente usadas para este fim.

A interação do AH com o seu recetor *CD44*, que se encontra sobreexpresso em muitos tipos de células tumorais, é muito utilizada na conceção de DDSs.

A natureza aniónica do AH permite prolongar o tempo de retenção AH-DDSs, durante o tempo de circulação sanguínea, sem que ocorram modificações na superfície e facilitando a sua acumulação através do efeito EPR. ¹²

Tendo em conta a ligação específica do AH a recetores que se encontram na superfície das células tumorais, este pode ser usado como transportados de fármacos, recorrendo à formação de conjugados. Assim é possível gerar novos compostos com efeitos anti tumorais promissores. ⁶

Através dos seus grupos funcionais, o AH pode sofrer várias modificações e conjugações. Esta propriedade é fundamental para que o AH seja um componente importante de nanopartículas e pode estar presente em terapias sinérgicas contra o cancro.

Estudos comprovam que as matrizes que têm por base AH são dos poucos biopolímeros capazes de satisfazer o conceito de transição “3S” para medicamentos anticancerígenos. O conceito “3S” surgiu recentemente na nanotecnologia e refere-se à transição de tamanho – apresenta elevada relevância no caso dos tumores porque o tamanho se encontra associado ao tempo de semi-vida *in vivo* e à acumulação no tecido tumoral; as partículas de maior tamanho tendem a permanecer mais tempo no tecido tumoral no entanto a sua capacidade de penetração é reduzida; já as partículas de reduzido tamanho são facilmente removidas mas também penetram mais facilmente -, transição de superfície - refere-se à transição de fármacos aquando da sua libertação, de uma superfície sólida lisa para superfícies irregulares e viscosas, que geralmente são acompanhadas de alterações de carga da superfície e da presença de agentes adsortivos como enzimas que podem degradar a superfície da matriz e interferir com a libertação do fármaco -, e à transição de estabilidade - referente à circulação do medicamento *in vivo*; o sistema matriz-fármaco tem de ser estável e minimizar os efeitos de toxicidade sistémica provocados na fase inicial de libertação do fármaco-.

Se os três conceitos se encontrarem satisfeitos nos sistemas de administração de medicamentos, todas as barreiras nos processos de administração podem ser ultrapassadas e o medicamento será eficaz. ⁶

3.2.1. Nanomateriais à base de Ácido Hialurónico

Considerando as suas propriedades biológicas é de notar o grande interesse no desenvolvimento de nanomateriais à base de AH para novas aplicações biomédicas como sistemas de libertação modificada de fármacos, entre outros.

AH é usado em diversos tipos de nanomateriais como micelas, polimerossomas (“são feitos usando copolímeros em bloco sintéticos anfifílicos para formar a membrana da vesícula e têm raios que variam de 50 nm a 5 µm ou mais.”), hidrogéis e formulações de nanopartículas inorgânicas.

O recurso a revestimentos de AH em nanopartículas pode formar uma camada superficial de AH, que melhora a biocompatibilidade, tempo de circulação sanguínea e, mais importante, a capacidade de direcionamento ativo mediada pelo *CD44* expresso em células cancerígenas. ³

O AH e seus derivados podem ser usados como transportadores para a liberação modificada de fármacos, podendo retardar a sua liberação, prolongar a sua duração de ação, reduzir o número e intervalo de administrações, aumentar a biodisponibilidade do fármaco e reduzir as reações adversas. De entre as suas aplicações destacam-se medicamentos como proteínas, ácidos nucleicos e fármacos anti tumorais.

AH e seus derivados são capazes de se ligar especificamente a receptores presentes na superfície celular de determinados tecidos como fígado, rins, vasos linfáticos e em muitos tecidos tumorais. Esta ligação específica serve de base para que estes sejam usados como veículos de entrega de fármacos.

As nanopartículas têm elevado interesse devido às suas características de permeabilidade acrescida e efeito de retenção nas áreas tumorais.⁹ Está comprovado que as nanopartículas poliméricas à base de AH podem ser direcionadas especificamente para o local do tumor devido ao efeito de permeação e retenção que possuem, ocorrendo uma acumulação passiva. Esta acumulação passiva deve-se à sua capacidade de invasão através das ligações de hidrogénio.

As nanopartículas de AH conferem alternativas hierárquicas de orientação. Podemos ter uma orientação passiva para o tecido tumoral, através da maior permeabilidade e efeito de retenção, ou uma orientação ativa através do recetor *CD44* e da entrada nas células através de endocitose mediada pelo recetor.

Os nanomateriais que contém *AH-CD44* funcionam como alvos tumorais seletivos porque depois de serem absorvidos pelas células tumorais, através da endocitose mediada por receptores, o AH é degradado, por ação da hialuronidase, em fragmentos de baixo PM. Os grupos funcionais presentes na molécula de AH permitem a ocorrência de conjugações e modificações químicas e ainda a administração de terapias sinérgicas contra o cancro. (21)

Através de uma pequena definição e enquadramento podemos entender o contributo dos principais tipos de nanopartículas de AH.

As micelas são moléculas anfifílicas que apresentam uma estrutura esférica, contendo um invólucro hidrofílico e um núcleo hidrofóbico. Possuem a capacidade de transportar fármacos hidrofóbicos, o que permite aumentar a sua biodisponibilidade e tempo de semi-vida. De entre as suas principais características podemos ainda salientar a elevada estabilidade, a elevada capacidade de dissolução a capacidade de liberação prolongada, o elevado tempo de circulação assim como a capacidade de permanecer no local do tumor durante mais tempo. Contudo, o recurso às mesmas apresenta algumas limitações pois micelas de reduzido tamanho podem limitar a administração de elevadas doses de fármacos/agentes quimioterápicos.⁶

O AH é capaz de formar micelas que se auto-montam, gerando nanotransportadores anfífilos. Assim, as micelas de AH, devido à sua hidrofília, permitem aumentar o tempo de circulação dos fármacos *in vivo* e fazer com que se acumulem nas células cancerígenas. As micelas de AH são capazes de transportar eficazmente fármacos hidrofóbicos para as células alvo, aumentando a biodisponibilidade e o tempo de semi-vida do fármaco anti-tumoral.⁹

Ao longo do tempo, o AH tem sido usado como ligando de superfície em terapias anticancerígenas lipossômicas direcionadas para o *CD44*. Os polimerossomas funcionam como uma auto-montagem de copolímeros anfífilos em sistemas aquoso e são semelhantes aos lipossomas que formam vesículas de bicamada sintéticas. Estes polimerossomas são capazes de encapsular fármacos solúveis em água, assim como fármacos lipofílicos, possuindo a vantagem, relativamente aos lipossomas, de ter elevada estabilidade da membrana e baixa permeabilidade da mesma. Uma das grandes vantagens dos polimerossomas biocompatíveis é que não reagem com componentes do sangue e não vão ter influência nos tecidos não visados.⁹

As nanopartículas inorgânicas podem ser de óxido de ferro, ouro, sílica, óxido de grafeno ou ponto quânticos; estas nanopartículas inorgânicas apresentam desvantagens como a citotoxicidade e a falta de função específica das células. Ao serem conjugadas com o AH adquirem características que permitem aumentar a sua capacidade de atingir o alvo.

3.2.2. Conjugados AH-fármaco

Conjugados AH-fármaco são pró-fármacos preparados a partir da ligação covalente de pequenas moléculas de fármacos anti-tumorais com ácido hialurônico.¹³ Estas ligações covalentes não são facilmente quebradas no sangue, mas sim, depois de atingirem o alvo, através de processos de hidrólise pelas enzimas intracelulares. Depois de ser internalizado, o AH conjugado com o fármaco é hidrolisado por enzimas intracelulares e vai permitir a libertação do fármaco na célula alvo.

A conjugação direta de AH com fármacos anti-tumorais origina novos compostos com efeitos anti-tumorais promissores.

Então quais são as vantagens dos conjugados AH-fármaco? Estes conjugados possuem boa capacidade de direcionamento, são capazes de aumentar a solubilidade e estabilidade do fármaco, de alterar a distribuição do fármaco e o seu tempo de semi-vida *in vivo* e aumentam a acumulação de fármaco no tecido tumoral através do aumento do efeito de retenção osmótica, permitindo uma melhor eficácia do mesmo.

Estruturalmente, o facto de existirem 3 grupos funcionais de grupos carboxilo, amino e acetilamina na cadeia principal do AH, permite a modificação da mesma, levando a que diferentes fármacos anti tumorais possam ser ligados quimicamente à molécula de AH e formar os conjugados AH-fármaco.

A produção destes conjugados foi proposta para a realização do transporte de pequenas moléculas terapêuticas hidrofóbicas para o seu local de ação. Estes sistemas são essencialmente compostos por um polímero solúvel em água onde as moléculas de fármaco se encontram ligadas covalentemente.

Os nanodispositivos à base de AH mostraram ter grandes vantagens para a terapia combinada porque o AH possui diferentes partes funcionais capazes de substituir e conjugar mais do que um agente terapêutico.

O AH já foi conjugado com fármacos anti-tumorais e gerou novos compostos com propriedades promissoras no tratamento de cancro.

Como exemplos de conjugados AH-fármaco já usado em tratamento do cancro temos o conjugado AH-paclitaxel e o AH-cisplatina.

O paclitaxel está inserido no grupo farmacoterapêutico dos agentes antineoplásicos, alcalóides de origem vegetal e outros produtos naturais, taxanos. É agente antimicrotubular que promove a união dos microtúbulos a partir dos dímeros de tubulina e estabiliza os microtúbulos, evitando a despolimerização. Esta estabilidade tem como resultado a inibição da reorganização dinâmica normal da rede de microtúbulos, fulcral para as funções vitais celulares mitóticas e de interfase. O paclitaxel é ainda responsável por induzir conjuntos anormais de microtúbulos ao longo do ciclo celular e ásteres múltiplos de microtúbulos na fase mitótica.

14

O conjugado AH-PTX foi sintetizado com o objetivo de reduzir a toxicidade dos taxanos e melhorar a sua atividade anti-tumoral; teve como efeito a inibição do crescimento de linhas celulares de carcinoma de células escamosas OSC-19 e HN5 da cabeça e do pescoço e o aumento da absorção de células tumorais mediadas pelo recetor *CD44*.

Segundo um estudo feito em murganhos sujeitos a xenoenxerto in vivo, mostrou-se que AH-PTX aumentou a sua taxa de sobrevivência e que houve uma redução significativa da densidade de microvasos em tecidos tumorais, ocorrendo mesmo inibição do crescimento de tumores. O recurso ao conjugado mostrou vantagens em relação ao uso isolado de PTX, no tratamento da densidade tumoral intra-abdominal, eliminando ascite e prolongando o tempo de sobrevivência em linhagens celulares transplantadas de cancro do ovário. ¹³

A cisplatina é um agente antineoplásico que contém platina. É um fármaco inibidor da síntese da síntese de ADN através da produção de ligações cruzadas intracadeia e intercadeia

no ADN. É responsável pelo aumento da imunogenicidade do tumor e pode estar envolvida em atividade antineoplásica, possuindo ainda propriedades imunossupressoras, antibacterianas e radio sensibilizantes. ¹⁵

O efeito citotóxico da cisplatina deve-se à ligação de todas as bases do ADN, preferencialmente na posição N-7 da guanina e da adenosina.

Assim, o conjugado cisplatina-AH surgiu para aumentar a concentração de platina nos vasos linfáticos e reduzir a toxicidade sistêmica, enquanto inibe a metástase precoce do tumor. Este conjugado pode aumentar a concentração de fármaco no plasma e tecido, melhorando a sua distribuição no local do tumor, reduzindo muito a sua toxicidade renal.

Assim, o AH surge como uma molécula com potencial para o desenvolvimento de sistemas de libertação controlada de fármacos direcionados para o tratamento de tumores malignos ativos. ⁷

3.2.3. Hidrogéis à base de Ácido Hialurónico

Por si só, o AH não é capaz de formar hidrogéis. Neste sentido, os métodos de ligação cruzada como a “química do clique”, ligação enzimática e métodos de montagem supramolecular como complexação inclusiva e funcionalização com moléculas lipofílicas têm sido investigados e desenvolvidos para conseguir obter estes hidrogéis tão promissores na área biomédica. ⁷

Os hidrogéis à base de AH são muito versáteis, podendo variar de sistemas estáticos a sistemas inteligentes e responsivos a estímulos.

Interessa-nos saber o que são hidrogéis, a sua estrutura e quais os seus benefícios. Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais (3D), hidrofílicas insolúveis, sendo capazes de absorver água até alcançar o seu peso húmido mil vezes superior ao seu peso seco. Na sua constituição possuem polímeros hidrofílicos reticulados, que têm elevada afinidade para a água e fluidos biológicos. São dotados de excelente biocompatibilidade, resistência mecânica e de elevada hidrofília. ⁷

Os hidrogéis podem ser classificados em físicos ou químicos. Os físicos ou reversíveis podem ser formados por aquecimento/arrefecimento da solução do polímero, com base em ligações covalentes. Estes hidrogéis são heterogéneos, instáveis e reversíveis, não tendo capacidade de manter a sua integridade e são facilmente afetados por fatores ambientais como a temperatura e o pH.

Os químicos ou permanentes ocorrem quando as cadeias poliméricas se encontram conectadas por ligações covalentes. São formados por reticulação das cadeias poliméricas. ¹⁶

Este tipo de hidrogéis é capaz de manter a sua estrutura íntegra após o intumescimento e é possível que ocorram pequenas degradações em ligações específicas que possam estar presentes na estrutura, sensíveis à hidrólise química ou enzimática.⁷

Fazendo referência aos métodos pelos quais é possível obter hidrogéis podemos ter ligação cruzada de polímeros com recurso a radiações, reticuladores químicos, compostos multifuncionais, compostos geradores de radicais livres, entre outros. As modificações químicas ocorrem, maioritariamente, devido à presença dos grupos amino, hidroxilo e ao ácido carboxílico.

Relativamente aos hidrogéis físicos, os químicos apresentam melhor estabilidade química, térmica e mecânica.

Atualmente, há cada vez mais aplicações dos hidrogéis à base de AH, desde investigações com fins biomédicos a administração de medicamentos, graças à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, não imunogenicidade, capacidade de resposta a estímulos e propriedades de adaptação/ajuste.

A libertação de fármacos a partir de hidrogéis é controlada de modo a ter em conta a difusão (difusão *Fickian*) e a desorção (com base na cinética de *Langmuir*), que controlam a taxa de libertação total.¹⁷

Os hidrogéis à base de AH permitem que ocorra uma libertação controlada e direcionada do fármaco no organismo, em resposta a estímulos, o que se torna uma mais-valia na implementação de uma terapia direcionada.

Como exemplo da aplicação de hidrogéis à base de AH temos a quimioterapia intraperitoneal que é uma estratégia de tratamento para tumores sólidos em crescimento, presentes na cavidade peritoneal. É necessário que os sistemas de transporte e entrega do fármaco apresentem características como a biocompatibilidade, biodegradabilidade, sejam não imunogénicos e possuam capacidade de libertação controlada do fármaco. Assim, este é um campo em que a aplicação de hidrogéis à base de AH se torna útil e benéfica. Foram realizados estudos recorrendo à preparação de cápsulas de hidrogel em multicamadas, contendo quitosana, AH e doxorrubicina, pelo método de reticulação ionotrópica. Estes hidrogéis demonstraram uma libertação controlada, sensível ao pH da doxorrubicina. Estas cápsulas em multicamada permitiram reduzir o gradiente de concentração do fármaco entre a camada externa da cápsula e o ambiente e limitaram a libertação do fármaco neles contida.¹⁸

A doxorrubicina é um antibiótico pertencente ao grupo das antraciclinae cujo mecanismo de ação não está totalmente esclarecido. Assume-se que exerce o seu efeito anti-neoplásico por mecanismos de ação citotóxicos, por intercalação no ADN, inibição da enzima

topoisomerase II e formação de espécies reativas de oxigênio. Estes mecanismos irão refletir-se num efeito nocivo para a síntese de ADN.¹⁹

3.3. Ácido Hialurónico como controlador da libertação de fármacos anti-tumorais

A hidrofília do AH confere uma maior solubilidade em meios aquosos, permitindo mecanismos de reação à base de água, colocando de lado a hipótese de utilização de solventes orgânicos não polares potencialmente nocivos. Os fármacos anticancerígenos são de natureza hidrofóbica. Assim, o facto de serem transportados em transportadores hidrofílicos à base de AH, pode aumentar a sua eficácia farmacológica.⁸

A libertação de fármaco e a sua eficácia dependem muito do acondicionamento durante a absorção e transporte nos tecidos não lesados, permitindo uma libertação sustentada no local de ação. Isto é influenciado por alterações de pH, reações redox e muitas outras condições farmacodinâmicas. Mais uma vez o AH pode apresentar-se como solução. Vários investigadores demonstraram que formulações á base de AH neutralizam estas barreiras, potenciando a eficácia das suas ações.⁸

O desenvolvimento de novos fármacos direcionados para a terapêutica anti tumoral, recorrendo à nanotecnologia e ao uso de AH vieram aumentar a eficácia anticancerígena contra vários tipos de cancro e reduzir significativamente os efeitos secundários. Estes sistemas permitem uma libertação controlada e direcionada de fármacos em resposta a diferentes estímulos, o que se torna uma grande atração para terapêutica anti-tumoral.

O direcionamento para células tumorais em que há uma sobreexpressão do recetor *CD44* é a função do AH mais amplamente usada.²⁰

3.4. Potencial do Ácido Hialurónico na reversão de multirresistências a fármacos

As células cancerígenas têm a capacidade de ser reestruturarem e reprogramarem, tornando-se resistentes aos tratamentos outrora eficazes. Conseguem criar as chamadas multirresistências aos fármacos, impedido a sua eficácia no tratamento.

Neste sentido, as multirresistências são uma problemática grande no que concerne ao tratamento de tumores. O recurso a terapêuticas direcionadas é uma das grandes apostas atuais pois consegue ultrapassar algumas das limitações dos tratamentos convencionais.

As multiresistências a fármacos envolvem vários mecanismos, um deles é a sobreexpressão de transportadores de multirresistências de fármacos, como é o caso da

glicoproteína P. Neste campo, o AH pode ligar-se aos recetores *CD44* e mediar a internalização, através dos endossomas, o que ajuda a ultrapassar a glicoproteína P e superar multirresistências.²¹

O recurso ao ácido hialurónico pode inverter a multirresistência das células cancerígenas, tornando-as mais sensíveis aos fármacos anti-tumorais. O AH é ainda capaz de inibir genes responsáveis por estas multirresistências, melhorando a eficácia dos medicamentos.⁸

4. Ácido Hialurónico e cancro colorretal

Depois de abordarmos vários conceitos relacionados com o ácido hialurónico que nos fizeram perceber as suas propriedades e o que o torna um alvo promissor no tratamento do cancro, importa dar exemplos específicos de desenvolvimentos e estudos realizados, quer *in vitro* e *in vivo*. Vamos então abordar a utilização do AH no auxílio do tratamento do cancro colorretal.

A cirurgia, a quimioterapia, as terapias direcionadas e a radioterapia são as abordagens convencionais usadas nos dias de hoje para o tratamento do cancro colorretal. Há uma grande necessidade que seja feita uma distribuição específica dos agentes terapêuticos para o seu local específico de ação, para que seja possível aumentar a eficácia e reduzir os efeitos secundários.

O cancro colorretal é um dos cancros com maior prevalência em todo o mundo e representa uma das principais causas de mortalidade.²²

Resumidamente, o cancro colorretal tem início no revestimento do intestino e, quando não tratado, tende a evoluir para as camadas musculares abaixo e para a parede do intestino. A carcinogénese pode ser potenciada por fatores ambientais como agentes infecciosos, radiações e agentes químicos, ou fatores genéticos como mutações e disfunções dos sistemas imunitário e hormonal. A maioria desenvolve-se devido ao estilo de vida, com o aumento da idade e, numa minoria dos casos, por fatores genéticos subjacentes.²³

São classificados de acordo com a profundidade da invasão local, o envolvimento dos gânglios linfáticos e a presença de metástases à distância.²⁴

A seleção da terapêutica adequada depende do estado do doente, da localização e estágio do tumor.

O facto de ocorrer uma sobreexpressão de recetores de AH nas células do cancro colorrectal faz como que se possa recorrer ao AH para aumentar a captação de sistemas de administração de fármacos anti-tumorais.

AH, *TLR4* e *CD44* estão envolvidos na patogénese do cancro do colorretal, e elevados níveis de AH estromal estão associados a mau prognóstico. O AH é produzido por células tumorais e outras presentes no microambiente tumoral, e este é capaz de aumentar a proliferação e a motilidade das células tumorais colorretais *in vitro* e *in vivo*. A ligação AH-*CD44* estimula múltiplas cinases recetoras ao nível das células tumorais do cólon HCT116, provocando um aumento da sobrevivência celular, proliferação, adesão e invasão celulares.²⁵

A ativação do *CD44* que ocorre no ambiente tumoral permite mediar a internalização do AH facilitando a entrega do fármaco ao tumor.

Irinotecano é um derivado semi-sintético da camptotecina que atua como inibidor específico da enzima topoisomerase I do ADN. Trata-se de um agente anti-neoplásico que tem como mecanismo de ação a inibição da topoisomerase I do ADN. O irinotecano e o seu metabolito ativo SN-38 ligam-se reversivelmente ao complexo topoisomerase I-ADN e induzem lesões na cadeia simples de ADN que vão bloquear a bifurcação e replicação do ADN, sendo responsáveis pela citotoxicidade. Este efeito citotóxico é dependente do tempo e específico da fase S.²⁶

O irinotecano é metabolizado por carboxilesterases em muitos tecidos dando origem não seu metabolito SN-38, que é mais ativo e citotóxico do que o próprio irinotecano contra linhas tumorais humanas e de murino.

O irinotecano está indicado para o tratamento de doentes com cancro colorretal avançado em associação com o 5-fluorouracilo e ácido folínico em doentes não submetidos previamente a quimioterapia para doença avançada ou em monoterapia para doentes que não responderam favoravelmente ao tratamento com 5-fluorouracilo.²⁶

Foi realizado um estudo de fase II em pacientes com cancro colorretal avançado ou metastático com documentação histológica de adenocarcinoma colorretal, para avaliar a eficácia do AH como transportador de irinotecano. O estudo foi realizado em pacientes que ainda não tinham realizado nenhum tipo de terapêutica com irinotecano e foram randomizados para receber irinotecano – grupo controlo - ou AH-irinotecano – grupo em estudo -, a cada 3 semanas, para um máximo de 8 ciclos.

O recurso ao AH nesta terapêutica teve como objetivo reduzir a toxicidade que acaba por ser limitante na dose administrada e aumentar os benefícios deste tratamento, recorrendo às propriedades do AH como transportador macromolecular de fármacos para tumores sólidos.

Após a administração intravenosa, o fármaco derivado do AH consegue entrar dentro do tumor e agregar-se, formando um microembolismo vascular no interior do tumor, onde o depósito de fármaco intratumoral persiste, aumentando a acumulação e retenção de fármaco.

O mecanismo de ação baseia-se no aumento da concentração intratumoral do fármaco permitindo uma maior internalização do agente anti-tumoral, através de um mecanismo mediado pelo recetor *CD44*. Assim irá ocorrer um aumento de eficácia do fármaco. Paralelamente, ocorre um desvio do fármaco dos tecidos saudáveis, devido a esta especificidade para o recetor *CD44* característica do AH, levando à redução de alguma toxicidade normalmente associada ao tratamento só com irinotecano.²²

No estudo em análise as toxicidades foram classificadas de acordo com o NCICTC (National Cancer Institute Common Toxicity Criteria) e em todos os pacientes que apresentaram qualquer toxicidade de grau 3 ou 4 relacionada com o tratamento foi feita uma redução de 25% da dose de irinotecano, mantendo a dose de AH. Para a quantificação do irinotecano total, foram realizadas várias colheitas até 48h após o início da infusão.²²

Quanto aos resultados deste estudo, foi possível concluir que os pacientes tratados com AH-irinotecano conseguiram ser tratados por mais ciclos (6 VS 2). No grupo controlo (apenas irinotecano), 14% dos pacientes abandonaram o estudo por efeitos adversos, enquanto em pacientes com administração de AH-irinotecano apenas 7% desistiu.

Avaliando a taxa de doentes estáveis com o tratamento AH-irinotecano, esta foi de 68%, enquanto a de doente tratados apenas com irinotecano foi de 43% e relativamente à taxa de controlo da doença temos 76% no tratamento com AH-irinotecano e 46% no tratamento apenas com irinotecano.

A pouca diferença de efeitos adversos confirma que não há problemas de segurança maiores na associação AH-irinotecano do que no uso de apenas irinotecano. As toxicidades gerais foram semelhantes às já relatadas para o uso isolado de irinotecano. Comparando os 2 grupos, comprovou-se que os pacientes do grupo controlo tinham mais propensão para desenvolver doença progressiva (41%), comparativamente ao grupo em estudo (21%).

O facto de ter havido uma melhor resposta ao tumor no grupo de pacientes tratados com AH-irinotecano fez com que um maior número de pacientes continuasse o estudo. Assim, 34% completaram os 8 ciclos de terapia com AH-irinotecano, enquanto no grupo controlo apenas 14% completou. Houve um aumento do tempo de vida sem progressão da doença de 5,2 meses em AH-irinotecano, comparativamente ao grupo controlo, que teve um tempo de sobrevivência sem progressão de 2,4 meses.²²

Importa salientar que a formulação do irinotecano com AH não alterou a farmacocinética nem o metabolismo do irinotecano, o que foi demonstrado por dados farmacocinéticos realizados no estudo em análise.

5. Conclusão

O AH assim como os seus derivados têm um enorme leque de aplicações devido às suas propriedades físicas, químicas e biológicas. São capazes de se ligar a recetores e proceder à entrega direcionada de fármacos, através do mecanismo recetor-ligante.

Enquanto polímero natural o AH tem sido amplamente usado no desenvolvimento de fármacos e sistemas de transporte de fármacos. Ao longo desta dissertação foram relatadas as suas características, funções e como este glicosaminoglicano pode ser aproveitado de forma vantajosa para melhorar fármacos anti-tumorais.

É importante aumentar as investigações relativas às vantagens deste polímero, desde as interações com os seus recetores à capacidade de degradação pela enzima hialuronidase e melhorar cada vez mais os sistemas já existentes. Acredito que com investigação e desenvolvimento constantes, num futuro próximo surgirão mais medicamentos comercializados com base nas diferentes funcionalidades e aplicações do AH pois, têm sido alcançados resultados notáveis com sistemas conjugados de AH-fármacos, AH como transportador de fármacos, com hidrogéis à base de AH, entre outros.

Com a elevada progressão de doenças como o cancro, importa usar todos os recursos que temos, não só investigar novos fármacos como melhorar as propriedades dos já existentes para que consigamos uma melhor tolerabilidade, redução de efeitos secundários e toxicidade e maior eficácia de tratamento.

Bibliografia

1. Abatangelo G, Vindigni V, Avruscio G, Pandis L, Brun P. Hyaluronic acid: Redefining its role. *Cells*. 2020;9(7):1-19. doi:10.3390/cells9071743
2. Salwowska NM, Bebenek KA, Żądło DA, Wcisło-Dziadecka DL. Physiochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2016;15(4):520-526. doi:10.1111/jocd.12237
3. Luo Z, Dai Y, Gao H. Development and application of hyaluronic acid in tumor targeting drug delivery. *Acta Pharm Sin B*. 2019;9(6):1099-1112. doi:10.1016/j.apsb.2019.06.004
4. Ríos Luna A. Ácido Hialurónico. *Clínica Almer*. Published online 2020:14-15.
5. Kobayashi T, Chanmee T, Itano N. Hyaluronan: Metabolism and function. *Biomolecules*. 2020;10(11):1-20. doi:10.3390/biom10111525
6. Machado V, Morais M, Medeiros R. Hyaluronic Acid-Based Nanomaterials Applied to Cancer: Where Are We Now? *Pharmaceutics*. 2022;14(10):1-34. doi:10.3390/pharmaceutics14102092
7. Trombino S, Servidio C, Curcio F, Cassano R. Strategies for hyaluronic acid-based hydrogel design in drug delivery. *Pharmaceutics*. 2019;11(8):1-17. doi:10.3390/pharmaceutics11080407
8. Safdar MH, Hussain Z, Abourehab MAS, Hasan H, Afzal S, Thu HE. New developments and clinical transition of hyaluronic acid-based nanotherapeutics for treatment of cancer: reversing multidrug resistance, tumour-specific targetability and improved anticancer efficacy. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2018;46(8):1967-1980. doi:10.1080/21691401.2017.1397001
9. Kim JH, Moon MJ, Kim DY, Heo SH, Jeong YY. Hyaluronic acid-based nanomaterials for cancer therapy. *Polymers (Basel)*. 2018;10(10):1-15. doi:10.3390/polym10101133
10. Michalczyk M, Humeniuk E, Adamczuk G, Korga-Plewko A. Hyaluronic Acid as a Modern Approach in Anticancer Therapy-Review. *Int J Mol Sci*. 2023;24(1). doi:10.3390/ijms24010103
11. Tripodo G, Trapani A, Torre ML, Giammona G, Trapani G, Mandracchia D. Hyaluronic acid and its derivatives in drug delivery and imaging: Recent advances and challenges. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;97:400-416. doi:10.1016/j.ejpb.2015.03.032
12. Hou X, Zhong D, Chen H, et al. Recent advances in hyaluronic acid-based

- nanomedicines: Preparation and application in cancer therapy. *Carbohydr Polym.* 2022;292(May):119662. doi:10.1016/j.carbpol.2022.119662
13. Huang G, Huang H. Hyaluronic acid-based biopharmaceutical delivery and tumor-targeted drug delivery system. *J Control Release.* 2018;278(April):122-126. doi:10.1016/j.jconrel.2018.04.015
 14. Medicines Agency E. Resumo das Características do Medicamento - Abraxane. *Rcm.* Published online 2014;52. http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000829/WC500041059.pdf
 15. INFARMED I.P. Resumo das características do medicamento - cisplatina. *Infarmed.* Published online 2022.
 16. Della Sala F, Fabozzi A, di Gennaro M, et al. Advances in Hyaluronic-Acid-Based (Nano)Devices for Cancer Therapy. *Macromol Biosci.* 2022;22(1):1-20. doi:10.1002/mabi.202100304
 17. Bayer IS. Hyaluronic acid and controlled release: A review. *Molecules.* 2020;25(11). doi:10.3390/molecules25112649
 18. Luo Y, Tan J, Zhou Y, et al. From crosslinking strategies to biomedical applications of hyaluronic acid-based hydrogels: A review. *Int J Biol Macromol.* 2023;231(August 2022). doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.123308
 19. INFARMED I.P. Resumo das características do medicamento - doxorrubicina. *Infarmed.* Published online 2016.
 20. Liao C, Wang Q, An J, et al. CD44 Glycosylation as a Therapeutic Target in Oncology. *Front Oncol.* 2022;12(July):1-12. doi:10.3389/fonc.2022.883831
 21. Misra S, Toole BP, Ghatak S. Hyaluronan constitutively regulates activation of multiple receptor tyrosine kinases in epithelial and carcinoma cells. *J Biol Chem.* 2006;281(46):34936-34941. doi:10.1074/jbc.C600138200
 22. Gibbs P, Clingan PR, Ganju V, et al. Hyaluronan-Irinotecan improves progression-free survival in 5-fluorouracil refractory patients with metastatic colorectal cancer: A randomized phase II trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011;67(1):153-163. doi:10.1007/s00280-010-1303-3
 23. Gulbake A, Jain A, Jain A, Jain A, Jain SK. Insight to drug delivery aspects for colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2016;22(2):582-599. doi:10.3748/wjg.v22.i2.582

24. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet*. 2014;383(9927):1490-1502. doi:10.1016/S0140-6736(13)61649-9
25. Makkar S, Riehl TE, Chen B, et al. Hyaluronic acid binding to TLR4 promotes proliferation and blocks apoptosis in colon cancer. *Mol Cancer Ther*. 2019;18(12):2446-2456. doi:10.1158/1535-7163.MCT-18-1225
26. INFARMED I.P. Resumo das características do medicamento - irinotecano. Published online 2022.