

INSTITUTO DE ENGENHARIA NUCLEAR

CLAUDIANA DE JESUS FELISMINO

**Avaliação do Efeito da Obesidade na Deposição Tecidual de Nanopartículas:
Uso de Nanopartículas Radiomarcadas como Modelo de Caso.**

Rio de Janeiro

2019

CLAUDIANA DE JESUS FELISMINO

**Avaliação do Efeito da Obesidade na Deposição Tecidual de Nanopartículas:
Uso de Nanopartículas Radiomarcadas como Modelo de Caso.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Nucleares do Instituto de Engenharia Nuclear da Comissão Nacional de Engenharia Nuclear como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia Nucleares.

Orientador: Prof. Ph.D Ralph Santos-Oliveira

Rio de Janeiro

2019

FELI de Jesus Felismino, Claudiana

Avaliação do Efeito da Obesidade na Deposição Tecidual de Nanopartículas: Uso de Nanopartículas Radiomarcadas como Modelo de Caso.

Claudiana de Jesus Felismino – Rio de Janeiro: CNEN / IEN, 2019.

60f.

Orientador: Prof. Ph.D Ralph Santos-Oliveira

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Nucleares) – Instituto de Engenharia Nuclear, PPGIEN, 2019.

1. Obesidade 2. Nanopartícula 3. Deposição Tecidual 4. Alteração Metabólica 5. Biodistribuição.

**Avaliação do Efeito da Obesidade na Deposição Tecidual de Nanopartículas:
Uso de Nanopartículas Radiomarcadas como Modelo de Caso.**

CLAUDIANA DE JESUS FELISMINO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA NUCLEARES DO INSTITUTO DE ENGENHARIA NUCLEAR DA COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA NUCLEARES.

Aprovada por:

Prof. Ph.D Ralph Santos-Oliveira

Dra. Marta de Souza Albernaz

Dra. Maria Angélica Vergana Wasserman

Dra. Aline Oliveira da Silva de Barros

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

FEVEREIRO DE 2019

RESUMO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) o número de pessoas obesas mais que dobrou desde os anos de 1980. No contexto da obesidade, muitas alterações relacionadas a modificações fisiopatológicas podem afetar a distribuição e eliminação de medicamentos para os tecidos. As modificações corporais incluem desde uma alta porcentagem de gordura a uma baixa porcentagem de tecido magro e água. Não obstante, o fluxo sanguíneo por grama de gordura é menor do que em não obesos. Alterações hepáticas estão associadas, com marcada alteração do sistema reticuloendotelial (SRE) nesses indivíduos. Além disso, estudos tem demonstrado que indivíduos obesos mostram uma alta taxa de filtração glomerular e conseqüentemente, um volume de distribuição diferenciado, com sérias implicações em parâmetros de dose de ataque. No que se diz respeito à terapia farmacológica, a mesma só se torna promissora quando o fármaco é capaz de alcançar o órgão-alvo em concentração suficiente para exercer efeito terapêutico. Para obtenção de um tratamento bem-sucedido o fármaco deve ser capaz de transpor as barreiras fisiológicas. Nos últimos anos as nanopartículas (NPs) e outros nanomateriais entraram essencialmente em diversas áreas do nosso dia a dia. As nanopartículas possuem características específicas (lipofilicidade, carga superficial, composição e tamanho). Estudos sobre o comportamento biológico de nanopartículas em doenças como diabetes e obesidade são escassos. Aqui, nós avaliamos duas nanopartículas: nanopartículas de sílica mesoporosa de núcleo magnético (NSM) (58 nm) e policaprolactona (PCL) (280 nm) em ratos obesos. Mudanças na biodistribuição foram observadas, especialmente considerando o sistema fagocitário mononuclear (SFM) e tecido adiposo visceral. No entanto, nossos dados corroboram a influência do tamanho na biodistribuição em animais obesos, suportando que nanopartículas menores, pode apresentar maior deposição tecidual no baço, devido à esplenomegalia associada e às complicações decorrentes desse estado. Finalmente, nosso estudo demonstrou que, na obesidade, provavelmente devido ao estado inflamatório de baixo grau associado à síndrome metabólica foi encontrada uma diferença no acúmulo de nanopartículas, com profundo impacto na deposição tecidual de nanopartículas.

Palavras-chave: Obesidade; Nano-partícula; Deposição tecidual; Alteração metabólica; Biodistribuição.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO) the number of obese people more than doubled since the 1980s. In the context of obesity, many changes related to pathophysiological changes can affect the distribution and elimination of drugs for the tissues. Body modifications range from a high percentage of fat to a low percentage of lean tissue and water. Nevertheless, the blood flow per gram of fat is lower than in non-obese. Hepatic changes are associated, with marked alteration of the reticuloendothelial system (RES) in these individuals. In addition, studies have shown that obese individuals show a high glomerular filtration rate and consequently, a differentiated volume of distribution, with serious implications in loading-dose parameter. As far as pharmacological therapy is concerned, it only becomes promising when the drug is able to reach the target organ in sufficient concentration to exert a therapeutic effect. In order to obtain a successful treatment the nanodrug must be able to overcome the physiological barriers. Nanoparticles have specific features (lipophilicity, surface charge, composition and size). Studies regarding the biological behavior of nanoparticles in diseases such diabetics and obesity are scarce. Here, we evaluated two nanoparticles: magnetic core mesoporous silica (MSN) (58 nm) and polycaprolactone (PCL) nanoparticle (280 nm) in obese mice. Changes in the biodistribution were observed, especially considering the mononuclear phagocyte system (MPS), and the visceral fat tissue. Nonetheless, our data corroborates the influence of size in the biodistribution in obese animals, supporting that smaller nanoparticles, may show a higher tissue deposition at spleen, due the associated splenomegaly and the complications arising from this state. Finally, our study demonstrated that, in obesity, probably due the low-grade inflammatory state associated with metabolic syndrome a difference in accumulation of nanoparticles was found, with profound impact in the tissue deposition of nanoparticles.

Keywords: Obesity; Nanoparticle; Tissue deposition; Metabolic alteration; Biodistribution.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Acúmulo de gordura no coração.	16
Figura 2: Acúmulo de gordura no fígado.	17
Figura 3: Tomografia de abdome com esplenomegalia.....	19
Figura 4: Acúmulo de gordura no pâncreas.	20
Figura 5: Tipos de nanopartículas.	21
Figura 6: Absorção de Nanopartículas.	23
Figura 7: Nanoesfera e nanocápsula.....	27
Figura 8: Representação esquemática de segmentações em nanopartílas de sílica mesoporosa.....	29

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Cálculo do Índice de Massa Corporal.....	13
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ang II	- Angiotensina II
CCA	-Colangiocarcinoma
CHC	- Carcinoma hepatocelular
DH	- Diâmetro Hidrodinâmico
DHA	- Doença Hepática Alcoólica
DHGNA	- Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
EHNA	- Esteato-Hepatite Não Alcoólica
EPR	- Efeito de Permeação e Retenção
ERPA	- Efeito de Permeabilidade e Retenção Aprimorada
ET-1	- Endotelina-1
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i> – Administração de Alimentos e Medicamentos
HPMA	- Copolímeros de N-(2- hidroxipropil)-metacrilato
IgG	- Proteínas Imunoglobulina G
IL-6	- Interleucina 6
IMC	- Índice de Massa Corporal
NP	- Nanopartícula
NPSM	- Nanopartículas de Sílica Mesoporosa
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PCL	- Poli (caprolactona)
PCL	- Policaprolactona
PEG	- Polietilenoglicol
PGA	- Poli (ácido glutâmico)
PLA	- Poli (ácido láctico)
PLGA	- Ácido D, L-láctico-co-glicólico
QDs	- Quantum Dots
RDC	- Resolução de Diretoria Colegiada – RDC
SER	- Sistema Retículo-endotelial
SPECT	-Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único
PET	- Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET),
Tc	- Tecnécio
TGI	- Trato Gastrointestinal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	Revisão da Literatura	13
2.1	Obesidade.....	13
2.2	Alterações fisiológicas causadas pela obesidade	14
2.2.1	Cardiovascular	14
2.2.2	Alterações hepáticas.....	16
2.2.3	Alterações no trato gastrointestinal.....	17
2.2.4	Alterações Renais.....	17
2.2.5	Alterações Esplênicas.....	18
2.2.6	Alterações pancreáticas.....	19
2.3	Nanotecnologia	20
2.3.1	Desenvolvimento de nanocarreadores	25
2.3.2	Nanopartículas poliméricas.....	26
2.3.3	Nanopartícula de Silica mesoporosa	28
2.4	Nanorradiofármacos	29
3	OBJETIVOS	32
3.1	Objetivo geral.....	32
3.2	Objetivos específicos	32
4	METODOLOGIA	32
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
6	REFERÊNCIAS	42
7	APÊNDICE	55
7.1	Autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais.....	55

1 INTRODUÇÃO

Sobrepeso e obesidade podem ser definidos como uma acumulação de anormal ou excessiva gordura no corpo, que é prejudicial à saúde. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) o número de pessoas obesas mais que dobrou desde os anos de 1980 e é considerado desde 1975 como uma doença crônica. Além disso, obesidade tem um forte link com muitas co-morbidades, especialmente Diabete Mellitus Tipo 2. (MARTIN, et al. 2015; ZABARSKY et al., 2018; FUJITA et al., 2019; ANDELA et al., 2019; MISRA; JAYAWARDENA; ANOOP, 2019; ORTEGA-LOUBON et al., 2019). Atualmente, há no mundo mais de 650 milhões de portadores dessa doença, e um número estimado de 1.9 bilhão de possíveis candidatos (1/4 da população global) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

No contexto da obesidade, muitas alterações relacionadas a modificações fisiopatológicas podem afetar a distribuição e eliminação de medicamentos para os tecidos. As modificações corporais incluem: i) alta porcentagem de gordura, ii) baixa porcentagem de tecido magro, iii) baixa proporção de água, iv) fluxo sanguíneo diferenciado, v) alterações hepáticas, vi) alterações esplênicas e, muito acentuadamente, vii) alterações cardiovasculares. (HU et al., 2019; FUENTES et al., 2019; MARINAC; BIRMANN, 2019; GUILHERME et al., 2019; BDJ, 2019; JALO et al., 2019).

No que se diz respeito à terapia farmacológica, a mesma só se torna promissora quando o fármaco é capaz de alcançar o órgão-alvo em concentração suficiente para exercer efeito terapêutico. Para obtenção de um tratamento bem-sucedido o fármaco deve ser capaz de transpor as barreiras fisiológicas. A absorção dos fármacos pode se dar através de diferentes mecanismos desenvolvidos com a finalidade de explorar ou romper essas barreiras. Uma vez absorvido o mesmo será distribuído no organismo e para tanto se utiliza dos vasos sanguíneos e linfáticos. Outros fatores também são capazes de limitar ou diminuir a ação dos fármacos, como o metabolismo, assim como a natureza dinâmica desses fatores e a excreção (DI COSTANZO et al., 2019; ARSON, 2019; KUIPERS et al., 2019; PACCOSI et al., 2019; SUI et al., 2019).

De acordo com dados do FDA (Food and Drug Administration) há mais de 400 formulações baseadas em nanopartículas disponíveis no mercado, totalizando

aproximadamente 8000 produtos baseados em nanopartículas nos últimos anos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2019).

Desta forma, com o objetivo de permitir um melhor entendimento sobre condições clínicas específicas (obesidade, imunodeficiência adquirida, entre outras) e sua respectiva influência no comportamento de nanopartículas estudos exploratório devem ser desenvolvidos, em modelos específicos e representativos.

2 Revisão da Literatura

2.1 Obesidade

A obesidade está entre os maiores problemas de saúde pública no mundo. De acordo com estimativas globais da OMS, aproximadamente 1,6 bilhão de pessoas acima de 15 anos de idade apresentam excesso de peso (Índice de Massa Corporal – $IMC > 25 \text{ kg/m}^2$) (CABALLERO, 2019). Além das cifras alarmantes, o excesso de peso configura como fator de risco para várias outras doenças que comprometem a qualidade de vida e a sobrevivência dos indivíduos (MONTAN et al., 2015).

A obesidade pode ser definida como o acúmulo de tecido gorduroso localizado ou generalizado, provocado por desequilíbrio nutricional associado ou não a distúrbios genéticos ou endócrinos-metabólicos (APOVIAN, 2016). A definição de obesidade mais utilizada é baseada no Índice de Massa Corporal (IMC) (Equação 1), contudo, há limitações quando do uso do IMC, dentre elas: ele não considera o conteúdo corporal de gordura ou de massa magra., além de não valorizar a associação da distribuição da gordura corporal (EHRAMPOUSH et al., 2017).

Equação 1: Cálculo do Índice de Massa Corporal

$$IMC = \frac{\text{Peso}(kg)}{\text{Altura}^2 m^2}$$

O principal determinante para o desenvolvimento da obesidade é o desequilíbrio energético, ocasionado por uma ingestão excessiva de calorias quando comparada ao gasto energético durante um período determinado de tempo, gerando um balanço positivo (HALL; GUO, 2017).

A obesidade está relacionada a um desequilíbrio na ingestão e armazenamento de nutrientes. Existem diferenças importantes entre os estoques de carboidratos, proteína e gordura no organismo. O corpo humano é capaz de armazenar até 300 vezes mais calorias sob a forma de gordura do que de carboidrato, sendo esses utilizados mais rapidamente, enquanto gorduras garantem o fornecimento a longo prazo (MANCINI et al., 2015).

As proteínas constituem normalmente cerca de 15% do total de calorias da dieta (THOMAS et al., 2018). A ingestão diária de proteínas equivale a pouco mais

de 1% do total proteico armazenado. Os estoques de proteínas aumentam em resposta a determinados estímulos (hormônios de crescimento, androgênicos e atividade física) e não somente em resposta a um aumento da ingestão dietética. Esse balanço proteico é rigidamente controlado e não está envolvido no desenvolvimento da obesidade, porém indiretamente pode afetar o balanço de gordura (AN; BURD, 2015).

Os carboidratos são as principais fontes de calorias provenientes da dieta, embora estoques de glicogênio sejam limitados (2000kcal a 4000kcal) . A ingestão diária de carboidratos corresponde a 50% a 100% do estoque, comparado a 1% das proteínas e gorduras (ANJANA et al., 2019). Assim, os estoques de glicogênio são rigidamente controlados, o aumento na ingestão de carboidratos leva ao armazenamento de glicogênio, assim como eleva a oxidação da glicose e supressão da oxidação de gordura. O excesso de carboidratos que não é convertido em glicogênio é oxidado, mantendo o equilíbrio; um aumento na ingestão de carboidratos não causa diretamente o aumento do ganho de peso, pois seus estoques são limitados (TEIXEIRA et al., 2017).

De maneira diferente, os estoques de gordura do organismo são enormes e não possuem influência na oxidação de ácidos graxos. Assim como as proteínas, a ingestão diária de gordura na dieta corresponde a menos de 1% dos estoques, porém o organismo armazena seis vezes mais calorias sob a forma de gordura (SADEGHI et al., 2017). Um balanço negativo de 200 kcal em 24 horas representa 200 kcal saindo dos estoques de gordura, assim como um excesso da mesma quantidade, resulta em um armazenamento da quantidade excedente no tecido adiposo. Em condições fisiológicas, a gordura é o único nutriente capaz de se manter em um desequilíbrio crônico entre ingestão e oxidação (KIM, 2017).

2.2 Alterações fisiológicas causadas pela obesidade

2.2.1 Cardiovascular

Indivíduos com sobrepeso ou obesos têm maior risco de desenvolver disfunção diastólica do ventrículo esquerdo e do ventrículo direito e ainda (ALONSO-GÓMEZ et al., 2019), insuficiência cardíaca devido à miocardiopatia da obesidade no curso da doença (BHATHEJA et al., 2016). Não obstante, a obesidade ativa o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (DOLGACHEVA et al., 2016), o

que acarreta em aumento do volume plasmático, débito cardíaco e hipertensão, que acarreta em síndrome metabólica cardiorenal pelo aumento da resistência vascular periférica. O volume plasmático expandido e a hiperinsulinemia levam ao aumento da filtração renal, o que afeta o manejo do sódio renal e promove a disfunção renal, caracterizada precocemente pela albuminúria (MARTIN-DEL-CAMPO et al., 2019).

O aumento da resistência vascular prejudica o fluxo sanguíneo para o tecido muscular esquelético, o que leva a uma maior resistência à insulina e hiperinsulinemia, criando um ciclo vicioso que promove maior expansão de volume e hiperfiltração renal. Na hipertensão relacionada à obesidade, o volume sanguíneo intravascular expandido e a resistência vascular periférica aumentada, ao longo do tempo, levam à hipertrofia ventricular esquerda concêntrica e excêntrica e ao relaxamento diastólico cardíaco prejudicado (CABANDUGAMA; GARDNER; SOWERS, 2016).

A obesidade também aumenta a expressão proteica do principal alvo celular do angiotensina II, o receptor AT-1, que é regulado para cima apenas na dieta com quantidades elevadas de gordura. A ativação do receptor AT-1 está envolvida na inflamação e aterogênese na síndrome metabólica. A aterosclerose é a principal causa de doença coronariana, acidente vascular cerebral, nefropatia isquêmica e doença vascular periférica e, como tal, representa a principal causa de morbidade e mortalidade nas sociedades industrializadas (GIBSON et al., 2016).

A síndrome metabólica é a principal causa de diabetes e aterosclerose, definida como uma agregação de várias condições pró-aterogênicas, incluindo resistência à insulina, hiperinsulinemia e alguma combinação de dislipidemia, obesidade, disfunção endotelial, hipercoagulabilidade e hipertensão. Além disso, a inflamação está freqüentemente presente e desempenha um papel importante na aterogênese e a doença cardiovascular na síndrome metabólica (VAZIRI et al., 2005).

Por fim, um efeito causado pela obesidade é o aumento do desenvolvimento de doença vascular periférica (MUFTI ALSADIQI et al., 2019), que leva a uma diminuição da perfusão para membros e tecidos periféricos, causando edema e levando a uma diminuição da função e perda progressiva da viabilidade tecidual (BAJAJ et al., 2018).

CORAÇÃO DE UMA PESSOA SAUDÁVEL



CORAÇÃO DE UMA PESSOA OBESA



Figura 1: Acúmulo de gordura no coração.

Fonte: <https://www.cirurgiacardiaca.com.br>.

2.2.2 Alterações hepáticas

Uma das principais alterações ocasionadas pela obesidade no fígado são a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (POLYZOS et al., 2017), esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) (FARZANEGI et al., 2019), cirrose (SCHIAVO et al., 2018), carcinoma hepatocelular (CHC) (YANG et al., 2019), colangiocarcinoma (CCA) (MENON; MATHEW, 2019), hepatite B e C (PIMPIN et al., 2018), colecistite (ANDERCOU et al., 2017), colestase (PATAIA et al., 2018).

De modo geral, a mais regularmente associada a obesidade é a DHGNA é uma condição altamente prevalente que afeta 15% a 45% das pessoas diabéticas (XU et al., 2017b). Ela é geralmente representada pelo aumento das concentrações lipídicas no fígado e soro /plasma, incluindo ésteres de colesterol, triacilgliceróis, diacilgliceróis (WU et al., 2016) .A DHGNA é frequentemente associada a resistência a insulina (SHIPOVSKAYA et al., 2018).

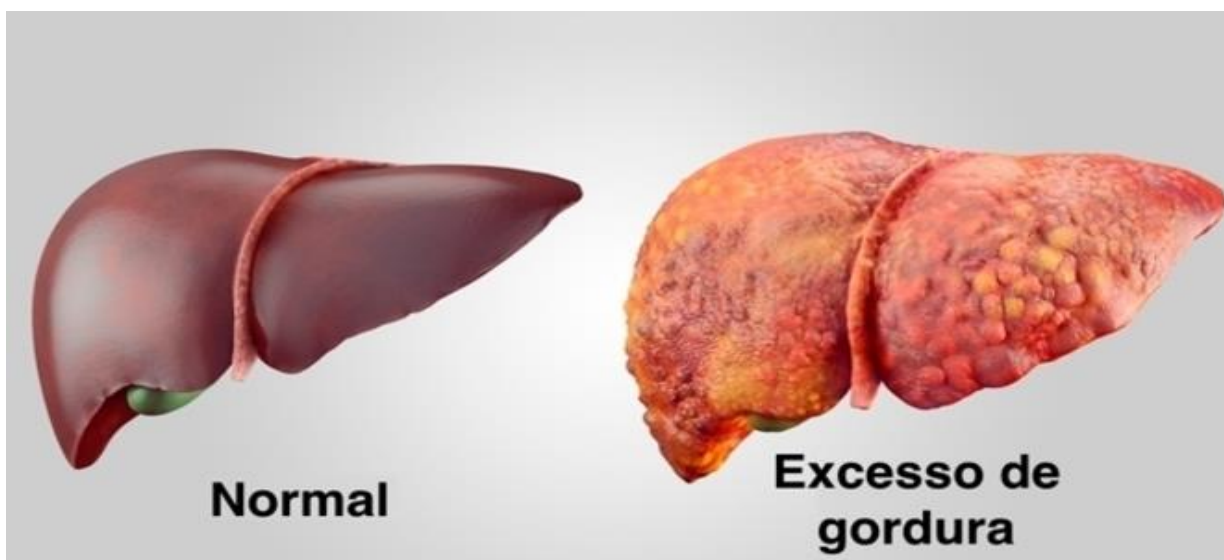


Figura 2: Acúmulo de gordura no fígado.

Fonte: <https://www.tuasaude.com>.

2.2.3 Alterações no trato gastrointestinal

O trato gastrointestinal (TGI), composto principalmente de boca, esôfago, estômago e intestino delgado e grosso, desempenha um papel fundamental no metabolismo (LAURA L,AZZOUZ, 2018).

Seu principal papel é a digestão dos alimentos e a absorção subsequente dos nutrientes necessários. O transporte de nutrientes é realizado por difusão via intestino delgado para o leito esplênico, onde esses nutrientes atingem a corrente sanguínea (LAURA L,AZZOUZ, 2018) .

A obesidade tem demonstrado estar associada a alterações na motilidade gastrointestinal (INOUE et al., 2019). A alteração da motilidade gástrica pode ter um grande impacto no apetite e na saciedade (MUSHREF; SRINIVASAN, 2013). O TGI regula a taxa de digestão e o apetite para induzir ou inibir a fome (CAMILLERI, 2015).

2.2.4 Alterações Renais

Obesidade e sobrepeso são fatores de risco para o desenvolvimento de perda da função renal (KWAKERNAAK et al., 2013 ; LAI et al., 2017) , como hipertensão (SERAVALLE; GRASSI, 2017) e diabetes (POLSKY; ELLIS, 2015).

Uma das maneiras que a obesidade pode afetar os rins é pela glomerulopatia relacionada à obesidade (PRAGA; MORALES, 2017). Sendo caracterizada pela glomerulomegalia, e por vezes acompanhada por lesões da glomerulosclerose, obeservadas nos glomérulos hipertrofiados devido a presença de depósitos lipídicos nas células mesangiais e tubulares (CHOUNG et al., 2019).

Outro mecanismo patogênico que acontece no órgão durante a obesidade é a hiperfiltração glomerular (OGNA et al., 2016), e subsequente glomeruloesclerose com declínio progressivo da função renal (HELAL et al., 2012) A obesidade está associada à redução das resistências vasculares pré-glomerulares (RAO et al., 2015) e aumento do fluxo glomerular (MONU et al., 2018), essas alterações hemodinâmicas resultam em hipertensão glomerular (D'AGATI et al., 2016), glomerulomegalia e alongamento microvascular (CHOUNG et al., 2019), levando eventualmente à perda de podócitos e ao surgimento de lesões renais (SUN et al., 2015).

Além disso, a obesidade também está relacionada a atividade aumentada do sistema nervoso simpático (THORP; SCHLAICH, 2015), e níveis elevados de leptina (ENGIN, 2017a). O aumento da atividade do sistema nervoso simpático inclui um transbordamento renal aumentado de norepinefrina, indicando aumento da atividade simpática intrarrenal (PIRZGALSKA et al., 2017).

2.2.5 Alterações Esplênicas

O baço é um órgão envolvido na produção e manutenção de glóbulos vermelhos, a produção de certos glóbulos brancos circulantes e faz parte do sistema linfático e do sistema imunológico (GASISOVA et al., 2017). Devido à sua ampla variedade de funções, o baço pode estar aumentado por muitas condições que envolvem o sistema sanguíneo ou linfático, por infecções (RAMASAMY et al., 2017), cirrose (LI et al., 2017) e obesidade (L. et al., 2018).

Distúrbios metabólicos, diabetes mellitus tipo 2 geram condições inflamatórias, pois estão associados a produção de marcadores inflamatórios, como Interleucina-6 IL-6 que podem levar a alterações no baço (MOREIRA et al., 2018).

A inflamação induzida pela dieta rica em açúcar modula a função esplênica, causando aumento da externalização da fosfatidilserina nos eritrócitos, promovendo

a interação com macrófagos eritrofagocitose e induzindo a hematopoiese extramedular de células semelhantes a monócitos secundárias à inflamação. Estas alterações na função esplênica e morfologia foram implicadas na patogênese do diabetes e doença cardiovascular relacionada à obesidade e doença renal (L. et al., 2018).

A esplenomegalia é resultado do bloqueio do fluxo sanguíneo através da vasculatura esplênica e do acúmulo de sangue na polpa vermelha. Isso acarreta em veias e seios dilatados, fibrose da polpa vermelha, assim como macrófagos carregados de hemossiderina (MCKENZIE et al., 2018).



Figura 3: Tomografia de abdome com esplenomegalia.

Fonte: <http://www.medicinanet.com.br>.

2.2.6 Alterações pancreáticas

A manutenção da massa e função das células β pancreáticas é essencial para a produção normal de insulina e para a homeostase da glicose (LI et al., 2017). Na obesidade, as células β apresentam expansão excessiva para compensar o aumento da demanda de insulina e para manter a glicemia (SHETTY et al., 2018).

A obesidade é uma causa conhecida de acumulação de gordura ectópica em órgãos incluindo o pâncreas (ENGIN, 2017). A expansão do tecido adiposo é acompanhada por um perfil leucocitário alterado e subsequente indução do meio

local de citocinas pró-inflamatórias (BIJNEN et al., 2018), ocasionando na inflamação do pâncreas, alteração conhecida como pancreatite (KHATUA et al., 2017) , que tem sido associada à síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 (SAKAI et al., 2018).

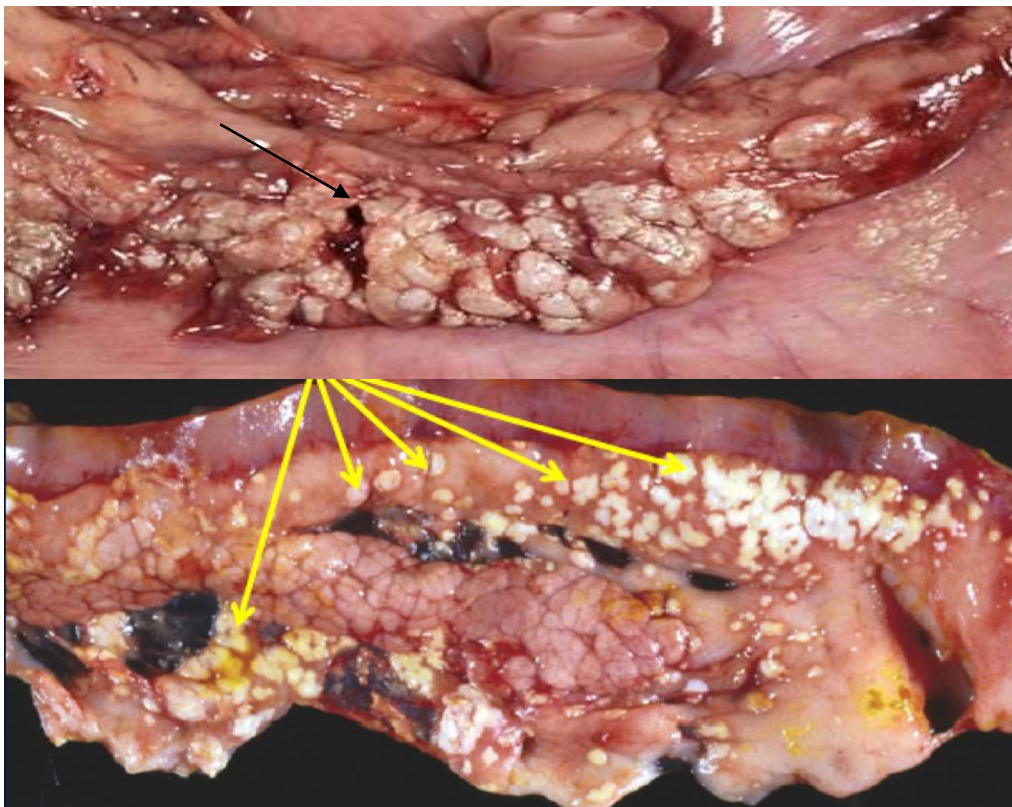


Figura 4: Acúmulo de gordura no pâncreas.

Fonte: <https://juohco.com>.

2.3 Nanotecnologia

Nos últimos anos as nanopartículas (NPs) e outros nanomateriais entraram essencialmente em diversas áreas do nosso dia a dia (WOLFRAM et al., 2015). Em aplicações industriais os nanomateriais se tornaram componentes indispensáveis de catalisadores, sensores ou dispositivos fotovoltaicos (WANG; GU, 2015). No campo biomédico a nanomedicina tornou-se um dos principais ramos da investigação nanotecnológica, revolucionando o campo da medicina (STARK et al., 2015). NPs encontraram ampla utilização como nanovacinas (TERÁN-NAVARRO et al., 2019), nanofármacos e ferramentas de diagnóstico por imagem (NASSIRI KOOPAEI; ABDOLLAHI, 2016). Formulações de administração de medicamentos baseadas em

nanopartículas surgiram como veículos adequados para superar as limitações farmacocinéticas associadas às formulações convencionais de medicamentos (ELVIN BLANCO, 2015).

Nanopartículas são definidas como estruturas esféricas com a capacidade de veicular agentes terapêuticos, que se encontram no intervalo nanométrico de 10 a 1000 nm (1 μm) (HANDA et al., 2017). Nesta definição estão enquadrados os dendrímeros, lipossomas, nanotubos, nanoemulsões, quantum dots (QDs), ouro coloidal, nanomicelas poliméricas e sílica mesoporosa magnética (Figura 5) (POHLAND et al., 2017; AZIZ et al., 2017).

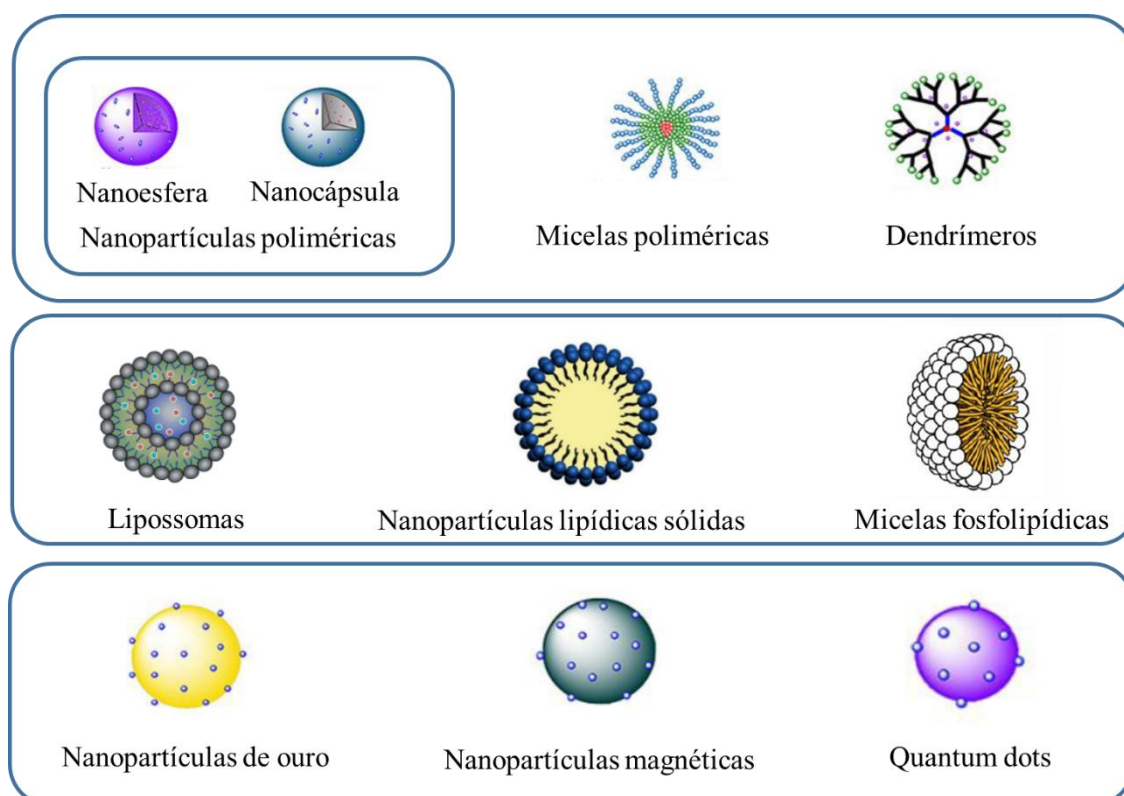


Figura 5: Tipos de nanopartículas.

Fonte: Adaptação CONNIOT et al., 2014

A conjugação de sistemas nanoestruturados a agentes diagnósticos e terapêuticos (nanofármacos), permite o controle do tamanho da partícula, bem como da sua constituição química e características físicas e biológicas, de modo a conseguir um transporte eficiente e uma distribuição mais seletiva (alvo-específica) do fármaco, superando as limitações encontradas nos tratamentos convencionais. Portanto, nas preparações de nanocarreadores devem ser

considerados: o diâmetro médio, propriedades intrínsecas do fármaco, carga/características da superfície do nanocarreador, biocompatibilidade, biodistribuição, toxicidade e possível indução de reações imunológicas (ALAM et al., 2016; SOUZA ALBERNAZ et al., 2014; NIE, 2010; SA et al., 2012; ZDROJEWICZ et al., 2015).

A biodistribuição e o direcionamento de nanopartículas dependem da anatomia e fisiologia do organismo, pois elas precisam superar a membrana celular para invadir as células (ZHAO et al., 2015), e o fazem utilizando-se da segmentação passiva ou ativa. A segmentação passiva consiste no transporte de nanocarreadores por meio de fenestrações capilares com vazamento no interstício. Na segmentação ativa, os ligantes de direcionamento estão ligados à superfície do nanocarreador; paralogação a receptores apropriados expressos no local alvo (DRUDE et al., 2017).

NPs são tipicamente encapsulados em vesículas e seletivamente transportados para dentro e para fora das células via endocitose e exocitose (Figura 6), respectivamente. Diferentes tipos de mecanismos de endocitose são conhecidos, variando com o tamanho da vesícula de transporte, propriedades de carga e a maquinaria de internalização envolvida (PARK; OH, 2014). Na maioria das células, a internalização ocorre por pinocitose. Neste processo, uma invaginação se forma na membrana celular que é finalmente comprimida de modo a gerar uma vesícula no citoplasma que contém os materiais internalizados. As vesículas de brotamento interno contêm proteínas receptoras que reconhecem grupos químicos específicos nas moléculas a serem internalizadas (CHEN et al., 2013). Assim, se as proteínas adsorvidas na nanopartícula ativarem os receptores da superfície celular, elas irão ativar o mecanismo de absorção, porém se essa interação entre proteínas adsorvidas e receptores de superfície celular ocorrerem de forma fraca, essa absorção será reduzida (FLEISCHER; PAYNE, 2014; LARA et al., 2017).

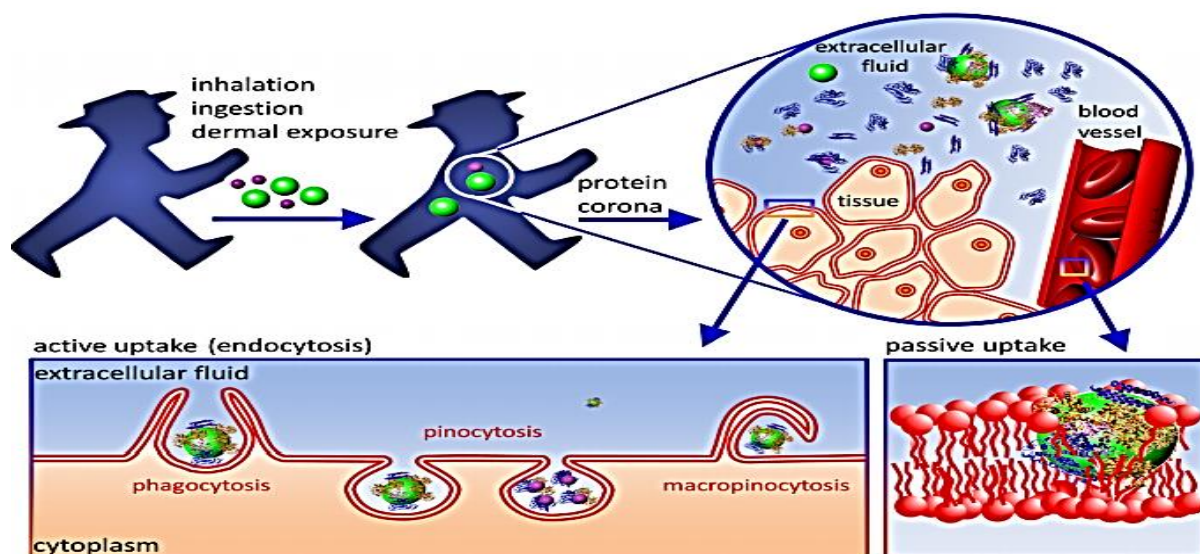


Figura 6: Absorção de Nanopartículas.

Fonte: (SHANG; NIENHAUS; NIENHAUS, 2014).

Mudanças estruturais na fisiopatologia vascular podem fornecer oportunidades para o uso de sistemas de transporte particulado de longa circulação (SU; HU, 2018). A capacidade do endotélio vascular em apresentar fenestrações abertas como no endotélio sinusal do fígado, ou ainda quando o endotélio é perturbado pelo processo inflamatório (LOCKWOOD et al., 2018), tornam possíveis com que partículas (na faixa de tamanho de 20 a 200 nm), possam extravasar e se acumularem dentro do espaço intersticial. Este fenômeno passivo é chamado de "Efeito de Permeabilidade e Retenção Aprimorada (EPRA)" (WONG et al., 2011 ; NATFJI et al., 2017).

O efeito EPRA será ótimo se os nanotransportadores puderem escapar da vigilância imunológica e circular por um longo período (NATFJI et al., 2017). Concentrações locais muito altas de nanocarregadores carregados de fármacos podem ser alcançadas, por exemplo, 10 a 50 vezes mais altas dentro de 1 a 2 dias (ETRYCH et al., 2018). Para este fim, pelo menos três propriedades dos nanocarreadores são particularmente importantes. O tamanho ideal do nanocarreador deve estar entre 10 e 100 nm (BANIK et al., 2016).

Atingindo o local alvo, as nanopartículas passam por uma biodistribuição, atravessando barreiras epiteliais e dispersando-se por meio do leito vascular. A biodistribuição de NPs é influenciada por uma miríade de fatores, incluindo a via de administração (BERNSEN et al., 2017; ZHONG et al., 2016), propriedades das

nanopartículas (tamanho, curvatura, hidrofobicidade e carga superficial) (ARAMI et al., 2015), que afetam o processo de adsorção, aumentando seu diâmetro hidrodinâmico (DH) (ALMEIDA et al., 2011) e o ambiente fisiológico aos quais as NP são introduzidas (XIAO; GAO, 2018). Elas são expostas a um rico ambiente de proteínas, células e tecidos ao entrar na corrente sanguínea, onde o tamanho das NPs e a morfologia do endotélio dos vasos sanguíneos afetam o transporte das mesmas para os tecidos circundantes (TALAMINI et al., 2017). Considerando que o endotélio dos capilares pulmonares e musculares é geralmente caracterizado por uma morfologia contínua que permite que apenas pequenas moléculas (<3 nm de tamanho) sejam transportadas através da parede capilar (EILS et al., 2018), os rins têm vasos sanguíneos com endotélio fenestrado (ONO; EGAWA; KABASHIMA, 2017) e o fígado e o baço possuem vasos com endotélio descontínuo; (YU et al., 2012). Ambos endotélios fenestrados e descontínuos estão associados a maiores espaços de poros. Estes espaços tornam mais provável que nanopartículas com DH inferior a 60 nm entrem nos tecidos fornecidos por tais vasos sanguíneos (ADISESHIAH et al., 2010; CHOI et al., 2010; MARTIN et al., 2012)

Além disso, as proteínas específicas que adsorvem a NP podem determinar os tipos de células que captam a mesma. Importante para o destino, a adsorção de proteínas específicas denominadas opsoninas (por exemplo, as proteínas imunoglobulina G (IgG) do complemento e laminina) ajudam as células imunológicas, como os macrófagos, a reconhecer e rapidamente absorver as nanopartículas (HENRY et al., 2016). Se anticorpos ou proteínas do sistema complemento forem adsorvidos em nanopartículas, uma resposta imune em cascata pode ser iniciada, desencadeando a fagocitose por macrófagos e atraindo um número maior dos mesmos. Em resposta à captação de nanopartículas, os macrófagos ativados também podem secretar moléculas sinalizadoras de citocinas, possivelmente estimulando uma resposta imune sistêmica (CHRASTINA et al., 2011; GAO; HE, 2014; SALVO et al., 2017)

Os monócitos fagocíticos e macrófagos, encontrados ao redor do corpo e em grande parte no fígado, baço, nódulos linfáticos e medula óssea, formam coletivamente o sistema retículo-endotelial (SRE), também conhecido como sistema de células monócito-macrófago (GINHOUX et al., 2014; HOEKSEMA; DE WINTHER, 2016). Como resultado do reconhecimento e da fagocitose por ambos os

macrófagos no sangue e nesses órgãos do SRE, as nanopartículas são comumente sequestradas (POLO et al., 2017).

O fígado é um componente importante do SRE, ele contém tanto células não-SRE como macrófagos hepáticos residentes denominados células de Kupffer (TACKE, 2017). As partículas sequestradas pelas células hepáticas não SRE podem ser eliminadas através da biliar (BULTE et al., 2014), mas as partículas fagocitadas pelas células de Kupffer geralmente permanecem dentro das células (CAMPBELL et al., 2018).

No baço, os macrófagos revestem as trabéculas da polpa vermelha e os seios venosos, onde podem fagocitar e sequestrar nanopartículas (LONGMIRE et al., 2012; BETKER et al., 2018). Além disso, as fendas de células endoteliais do baço, que têm aproximadamente 200 nm de largura, servem para filtrar células vermelhas do sangue envelhecidas ou danificadas e outras partículas do sangue. Dado este tamanho das fendas de células endoteliais, nanopartículas maiores que 200 nm são mais propensas a se acumularem no baço (SHAO et al., 2017)

As nanopartículas podem ainda ser eliminadas do corpo pelos rins. Como revisado recentemente, as partículas com DH menor que aproximadamente 8 nm podem ser filtradas pela membrana capilar glomerular dos rins nos túbulos renais e, assim, eliminadas pela urina (XU et al., 2017a). Esse tamanho de corte também depende do tipo de nanopartícula e sua carga associada, pois partículas carregadas negativamente podem não passar pelos poros da membrana capilar glomerular, que é também carregada negativamente (LONGMIRE et., 2012).

2.3.1 Desenvolvimento de nanocarreadores

O desenvolvimento do nanofármaco deve ser realizado levando em consideração a sua finalidade (diagnóstica e ou terapêutica), observando elementos como sua capacidade de carga, segurança, farmacocinética, metabolização, estabilidade no meio, e ainda a taxa de liberação do fármaco (ZHANG; ZHANG, 2016).

As nanopartículas tem atraído um crescente interesse na medicina pela sua capacidade de distribuição de drogas na faixa terapêutica ideal, resultando, portanto

em uma melhor eficácia, e ainda por apresentarem menores efeitos colaterais (ALEXIS et al., 2008 ; CONNIOT et al., 2014).

Hoje em dia, há vários exemplos de fármacos baseados em NPs utilizados na prática clínica, entre elas temos a Doxorubicina e Metotrexato produzidas em dendrímeros; Ciclosporina A em emulsão lipídica; Anfotericina B, Citarabina e daunorubicina em Lipossomas; Camptotecina, Doxorubicina e Paclitaxel em micelas; Doxorubicina e Docetaxel em NP poliméricas (HAN, 2018).

Os nanomedicamentos possuem características essenciais como, transporte eficiente através de capilares de vasos sanguíneos finos e endotélio linfático, maior tempo de circulação e concentração sanguínea, maior capacidade de ligação a biomoléculas (compostos endógenos incluindo proteínas), maior acúmulo em tecidos-alvo, respostas inflamatórias ou imunes reduzidas e estresse oxidativo em tecidos. Estas características diferem das dos medicamentos convencionais dependendo das propriedades físico-químicas (por exemplo, superfície da partícula, tamanho e composição química) das nano-formulações (HAN, 2018).

È preciso observar aspectos como, aplicação específica, vantagem de utilização e o perfil de segurança apresentado por eles. Além disso, as tecnologias devem apresentar reprodutibilidade, com componentes validados e possuem boa relação custo/efetividade, tendo então possibilidade de produção em larga escala (CONNIOT et al., 2014; KHALID et al., 2016).

È possível realizar o desenvolvimento de vários sistemas para utilização em nanomedicina, que são designados de acordo com os seus componentes e tipos de material encapsulante (CONNIOT et al., 2014). Abordaremos neste trabalho as nanopartículas poliméricas e nanopartículas de sílica mesoporosa magnética.

2.3.2 Nanopartículas poliméricas

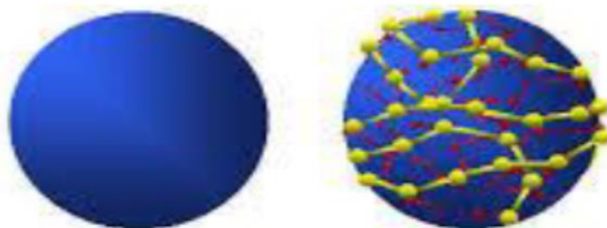
As nanopartículas constituídas por polímeros biodegradáveis têm sido utilizadas em uma grande variedade de tecnologias nas áreas médicas e farmacêuticas, atuando como depósitos de fármaco capazes de promover um melhor controle da sua liberação e uma distribuição direcionada no órgão-alvo, alcançando, assim, altas taxas de captação intracelular. Apresentam ainda, utilização em suturas reabsorvíveis e implantes ortopédicos (KAMALY et al., 2012 ; (GLASGOW; CHOUGULE, 2015 ; SIAFAKA et al., 2016; (VISWANATH; KIM; LEE, 2016).

Os polímeros mais utilizados para produção de nanopartículas poliméricas são o poli (ácido D, L-láctico-co-glicólico) (PLGA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glutâmico) (PGA), poli (caprolactona) (PCL), copolímeros de N-(2-hidroxipropil)-metacrilato (HPMA) em função de suas propriedades de biocompatibilidade e biodegradação, como clearancede matrizes poliméricas através dos sistemas metabólicos homeostáticos do organismo (DING et al., 2016; GLASGOW; CHOUGULE, 2015; SIAFAKA et al., 2016; VISWANATH; KIM; LEE, 2016).

O termo nanopartícula inclui as nanocápsulas e as nanoesferas (Figura 7), as quais diferem entre si segundo a composição e organização estrutural. As nanocápsulas são sistemas do tipo reservatório, em que é possível identificar um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido em um invólucro polimérico, que o isola do meio externo (BEI; MENG; YOUAN, 2010 ; DERGUNOV et al., 2016; FENG et al., 2017; TERANISHI et al., 2017). No entanto, as nanoesferas não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco se encontra homogeneamente disperso ou solubilizado. Dessa forma, obtém-se um sistema monolítico, no qual não é possível identificar um núcleo diferenciado (BEI; MENG; YOUAN, 2010; YAMAMOTO et al., 2017; WANG et al., 2017; LIU et al., 2017; CHANDRAMOHAN et al., 2017; LI et al., 2017c).

Nanoesfera

Fármaco distribuído uniformemente no núcleo



Nanocápsula

Fármaco concentrado no núcleo



Figura 7: Nanoesfera e nanocápsula.

Em geral, as NP poliméricas apresentam capacidade de encapsular fármacos, e liberá-los de forma controlada por difusão de suas moléculas através de uma

matriz polimérica (MÉNAGER et al., 2018), ou ainda, pela dissolução de suas camadas diferenciais de superfície de revestimento (TIERNEY et al., 2017). Podem possuir ligantes especificamente orientados ao alvo específico (DAI et al., 2016), permitindo um aumento na sua taxa de absorção e redução dos efeitos adversos, proporcionando assim melhores resultados terapêuticos (NISHA et al., 2015).

2.3.3 Nanopartícula de Silica mesoporosa

As NPs de sílica apresentam grande área de superfície, grande volume de poro e fácil modificação de potencial de superfície. Possuem ainda propriedades como força mecânica, permeabilidade, estabilidade térmica e química, baixo índice de refração (GLASGOW; CHOUGULE, 2015; DING et al., 2016; KAASALAINEN et al., 2017; ZHANG J, TANG H, LIU Z, 2017; LIU et al., 2017).

Seu método de síntese deve promover aproveitamento de suas propriedades físico-químicas e reduzir a sua citotoxicidade em meio biológico. Geralmente apresentam boa biocompatibilidade e estabilidade de armazenamento. São utilizadas como sistemas de suporte de enzimas e anticorpos para imunoenaios. As NPs de sílica podem ser conjugadas com partículas metálicas, como ferro, ouro, ou outras NPs, como Quantum Dots, com diferentes aplicações em nanomedicina (GLASGOW; CHOUGULE, 2015; DING et al., 2016; ZHANG et al., 2017; NIU et al., 2017).

O tamanho das partículas era uma desvantagem, dificultando o seu acesso a determinados tecidos. Atualmente, é possível obter nanopartículas de sílica mesoporosa com diâmetros de 50 a centenas de nanômetros. Estudos têm demonstrado que nanopartículas de sílica mesoporosa (NPSM) com diâmetros abaixo de 300 nm são adequados para liberação de agentes terapêuticos através da endocitose, mas no caso de partículas maiores, a fagocitose é o mecanismo predominante de captação celular (GLASGOW; CHOUGULE, 2015 ; SIAFAKA et al., 2016).

Em geral, os nanossistemas injetados na corrente sangüínea são prontamente acumulados em zonas perturbadas com inflamações e malignidades através do bem conhecido efeito de permeação e retenção (EPR) em função da peculiar arquitetura dos vasos sanguíneos desses tecidos doentes. Uma estratégia amplamente explorada consiste em decorar a superfície mais externa de NPSMs com moléculas capazes de interagir seletivamente com receptores de membrana

específicos sobre-expressos nestas células (VALLET-REGÍ et al., 2018; DING; MA, 2016; ZHAO et al., 2017).

Além disso, é possível decorar as NPSMs direcionando ligantes com afinidade para os vasos sanguíneos que irrigam o tumor sólido, interrompendo o fornecimento de nutrientes e oxigênio, desencadeando a destruição da célula. Essas duas abordagens, conhecidas como direcionamento ativo, permitem uma melhora notável da captação de partículas pela célula tumoral ou vasos sanguíneos (VALLET-REGÍ et al., 2018; MIRANDA et al., 2017).

Por outro lado, é possível enxertar dois agentes de direcionamento (segmentação dupla) para o mesmo nanocarreador, com o objetivo de aumentar ainda mais sua seletividade. Assim, os nanocarregadores que trafegam dentro da célula podem ser controlados pela colocação de moléculas direcionadas capazes de reconhecer diferentes organelas celulares (Figura 8) (VALLET-REGÍ et al., 2018; YANG et al., 2017).

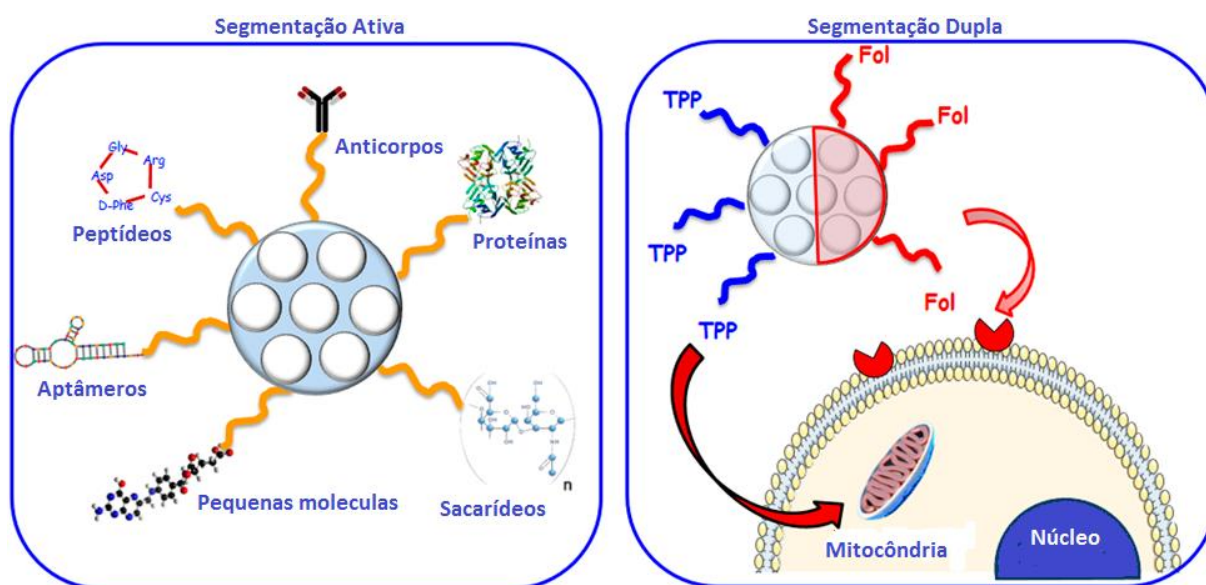


Figura 8: Representação esquemática de segmentações em nanopartículas de sílica mesoporosa.

Fonte: www.mdpi.com/journal/molecules.

2.4 Nanorradiofármacos

A medicina nuclear passou por mudanças evolutivas e revolucionárias ao longo de décadas, principalmente atribuíveis às tendências dinâmicas e responsivas no desenvolvimento e implantação global de radiofármacos, bem como ao advento de sistemas de imagens de tecnologia superior como a Tomografia

Computadorizada por Emissão de Fóton Único (SPECT), Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET), que possuem sensibilidade elevada para detectar alterações na função ou morfologia de um determinado órgão, utilizando-se dos radiofármacos (RAMAMOORTHY, 2018).

A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC Nº 63 em seu Art. 5º define radiofármacos como “*preparações farmacêuticas com finalidade diagnóstica ou terapêutica que, quando prontas para o uso, contêm um ou mais radionuclídeos. Compreendem também os componentes não-radioativos para marcação e os radionuclídeos, incluindo os componentes extraídos dos geradores de radionuclídeos*” (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2009).

Um gerador de radionuclídeos é construído baseado no princípio da relação crescimento-decaimento entre um radionuclídeo-pai possuindo $t_{1/2}$ longo e seu radionuclídeo-filho com $t_{1/2}$ curto, sendo o último quimicamente separado. O gerador consiste de uma coluna cromatográfica de vidro ou plástico, preenchida com material adsorvente, como resina de troca catiônica ou aniônica, alumina e zircônio, na qual o nuclídeo-pai é adsorvido. O radionuclídeo filho cresce como resultado do decaimento do pai até que um equilíbrio transitório ou secular seja atingido em várias meias-vidas do filho. Como há diferenças nas propriedades químicas, a atividade do filho é eluída com um solvente apropriado, deixando o pai na coluna (SAHA, 2003). GREEN, 2012; (PILLAI; DASH; KNAPP JR.; 2016).

Um radiofármaco tem dois componentes: um radionuclídeo e um fármaco. As características físico-químicas do radiofármaco determinam a sua farmacocinética, isto é, a sua fixação no órgão alvo, metabolização e eliminação do organismo, enquanto que as características físicas do radionuclídeo determinam a aplicação do composto em diagnóstico ou terapia (OLIVEIRA et al., 2006).

A utilidade de um radiofármaco é ditada pelas características desses dois componentes. Ao conceber um radiofármaco, um fármaco é o primeiro escolhido com base na sua localização preferencial num dado órgão ou na sua participação na função fisiológica do órgão. Em seguida, um radionuclídeo adequado é marcado no fármaco escolhido, de tal forma que, após a administração do radiofármaco, as radiações emitidas a partir dele são detectadas por um detector de radiação; assim, a estrutura ou a função fisiológica do órgão pode ser avaliada. O fármaco de escolha deve ser seguro e não tóxico para a administração humana. As radiações do radionuclídeo de escolha devem ser facilmente detectadas pelos instrumentos

nucleares e a atividade de radiação para o paciente deve ser mínima (SAHA, 2003; GREEN, 2012; EDEM et al., 2016).

Na medicina nuclear, o radionuclídeo mais utilizado é o Tecnesio ^{99m}Tc . Os compostos marcados com ^{99m}Tc constituem mais de 80% de todos os radiofármacos usados em medicina nuclear. A razão para tal posição proeminente do ^{99m}Tc em uso clínico são determinadas por suas favoráveis características físico-químicas como; meia-vida física de 6 horas emissão gama de 140-keV, sendo ideal para uso diagnóstico. Além disso, o ^{99m}Tc está prontamente disponível em um estado estéril, isento de pirogênio e isento de portadores a partir de geradores de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ (SAHA, 2003).

A associação da nanotecnologia a radiofármacos (nanorradiofármacos) trouxe grandes avanços para medicina nuclear, com benefícios no tratamento e diagnóstico de patologias (MI et al., 2016; SANTOS-OLIVEIRA, 2011; TING et al., 2010; GARNETT; KALLINTERI, 2006).

A nanotecnologia permite a proteção dos radiofármacos de condições desfavoráveis do microambiente celular (pH, oxidação entre outros) e da ação de enzimas, mantendo-os íntegros e impedindo sua degradação prematura, além de aumentar sua biodisponibilidade, seu tempo de retenção e sua captação celular (CHO et al., 2008; BERNARDES et al., 2015; BERNARDES et al., 2016).

Além disso, protegem o radiofármaco contra o reconhecimento por mecanismos de resistência a fármacos, como a resistência mediada pela glicoproteína P, o que culmina em uma maior concentração do fármaco no interior das células tratadas (CHO et al., 2008); melhorando as propriedades farmacológicas, terapêuticas e toxicológicas dos agentes utilizados no tratamento e diagnóstico (HAMOUDEH et al., 2008; KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; TING et al., 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a biodistribuição de nanopartículas de sílica mesoporosa magnética e nanopartículas poliméricas de policaprolactona (PCL) radiomarcadas com ^{99m}Tc em camundongos obesos e não obesos.

3.2 Objetivos específicos

- a) Desenvolver nanopartículas de sílica mesoporosa magnética;
- b) Desenvolver nanopartículas polimérica de policaprolactona;
- c) Caracterização das nanopartículas;
- d) Realizar radiomarcção das nanopartículas com ^{99m}Tc ;
- e) Avaliar a biodistribuição das nanopartículas em camundongos obesos e não obesos;

4 METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho encontra-se descrita no artigo intitulado *Effect of obesity on biodistribution of nanoparticles*, publicado no *Journal of Controlled Release, Elsevier*, no ano de 2018 sobre própria autoria. A seguir, encontra-se em sua íntegra o artigo, bem como suas metodologias.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Controlled Release

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jconrel

Perspective

Effect of obesity on biodistribution of nanoparticles

Claudiana de Jesus Felismino^a, Edward Helal-Neto^a, Filipe Leal Portilho^a, Suyene Rocha Pinto^a, Félix Sancenón^{b,c,d}, Ramón Martínez-Mañez^{b,c,d}, Agatha de Assis Ferreira^e, Simone Vargas da Silva^e, Thereza Christina Barja-Fidalgo^e, Ralph Santos-Oliveira^{a,f,*}

^a Brazilian Nuclear Energy Commission, Nuclear Engineering Institute, Rio de Janeiro, Brazil

^b Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), Universitat Politècnica de València, Universitat de València, Caminodé Vera s/n, Valencia 46022, Spain

^c Departamento de Química, Universidad Politécnica de Valencia, Caminodé Vera s/n, Valencia 46022, Spain

^d CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Spain

^e Department of Cell Biology, Laboratory of Cellular and Molecular Pharmacology, IBRAG, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^f Laboratory of Radiopharmacy and Nanoradiopharmaceuticals, Zona Oeste State University, Rio de Janeiro, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Obesity
Nanoparticle
Tissue deposition
Metabolic alteration
Biodistribution

ABSTRACT

Nanoparticles have specific features (lipophilicity, surface charge, composition and size). Studies regarding the biological behavior of nanoparticles in diseases such as diabetics and obesity are scarce. Here, we evaluated two nanoparticles: magnetic core mesoporous silica (MSN) (58 nm) and polycaprolactone (PCL) nanoparticle (280 nm) in obese mice. Changes in the biodistribution were observed, especially considering the mononuclear phagocyte system (MPS), and the visceral fat tissue. Nonetheless, our data corroborates the influence of size in the biodistribution in obese animals, supporting that smaller nanoparticles, may show a higher tissue deposition at spleen, due the associated splenomegaly and the complications arising from this state. Finally, our study demonstrated that, in obesity, probably due the low-grade inflammatory state associated with metabolic syndrome a difference in accumulation of nanoparticles was found, with profound impact in the tissue deposition of nanoparticles.

1. Introduction

Overweight and obesity can be defined as an accumulation of abnormal or excessive body fat, which can be harmful to health. In accordance to the World Health Organization (WHO) the number of obese people in the world more than doubled since the 1980s, and is considered, since 1975 as a chronic disease [1]. Also, obesity has a strong link with several co-morbidities, especially the type 2 diabetes mellitus [2].

The increased content of fat, in contrast to a low percentage of lean tissue and water, besides several physiopathological modifications often associated to obesity, may affect drug biodistribution and elimination. In these individuals, the blood flows per gram of fat is lower than in nonobese, and histological hepatic alterations are usually associated to markedly alteration in the RES (Reticuloendothelial System). Furthermore, obese patients present a higher glomerular filtration rate and, consequently, a differentiated volume of distribution, with serious implication in loading-dose parameter [2–6].

In general, the use of nanoparticles associated with cosmetic

formulations and as drug itself is increasing globally. Accordingly the FDA (Food and Drug Administration) approved over 350 [7] nanodrugs that are already available in market, among them liposomes are the most commonly used nanostructures, followed by nanocrystals and over 7.000 nano-based products were commercialized in the last years. Because of the physicochemical properties that make the nanomaterials suitable for bio tagging or targeting, different approaches using nanodrugs have been attempt for the treatment of obesity [8].

Since the use of nanodrugs is rapidly increasing worldwide, more information must be acquired, especially at specific strata of the population as obese. In this scenario we evaluated the biodistribution and tissue deposition of two nanomaterials: i) magnetic core mesoporous silica and ii) polymeric nanoparticles, in order to understand the changes caused by the obesity. The choice of these two systems was based on the structural differences between both, especially size, surface area and physicochemical properties.

* Corresponding author at: Brazilian Nuclear Energy Commission, Nuclear Engineering Institute, Rio de Janeiro, Brazil.
E-mail address: roliveira@ien.gov.br (R. Santos-Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.003>

Received 22 January 2018; Received in revised form 21 April 2018; Accepted 4 May 2018

Available online 10 May 2018

0168-3659/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of magnetic core mesoporous silica nanoparticles

2.1.1. Reagents and materials

Iron (III) chloride hexahydrate, iron (II) tetrachloride hexahydrate, oleic acid, hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) and tetraethyl orthosilicate (TEOS) were purchased from Sigma. Ammonia solution (32%), ethanol and ethyl acetate were purchased from Scharlau. Chloroform was obtained from Acros Organics. Distilled water was used in all reactions.

2.1.1.1. Synthesis of oleate-coated iron oxide nanoparticles. Iron oxide nanoparticles (Fe_3O_4 magnetite nanocrystals) were obtained by a modified coprecipitation method [9]. Briefly, 12 g of iron (III) chloride hexahydrate were mixed with 4.9 g of iron (II) chloride tetrahydrate in 50 mL of water at 80 °C under a flow of argon and mechanical stirring. Ammonia solution 32% (19.53 mL) was carefully added and the mixture turned completely dark. Oleic acid (2.13 mL) was added after 30 min and the reaction was left stirring at 80 °C for another 90 min. The reaction was cooled down and centrifuged at 9500 rpm during 10 min. The resulting black precipitate was washed three times with distilled water and three times with ethanol and then dried under vacuum overnight. In order to prevent their oxidation, the oleate-coated iron oxide nanoparticles were kept in chloroform giving a dark brown ferrofluid.

2.1.1.2. Synthesis of magnetic core MSNs. In a typical procedure, 100 mg of CTAB were dissolved in 10 mL of water, followed by addition of 0.74 mL of the ferrofluid (8.88 mg/mL). The mixture was placed in a probe sonicator (Branson 450 Sonifier) for 2 min, giving an oil-in-water emulsion. Then, the mixture was heated to 65 °C to evaporate the chloroform and achieve an effective phase transfer from chloroform to water. The resulting transparent aqueous suspension was added to a solution of 30 mL of water and 0.548 mL of ammonia (32%), which was then heated up to 75 °C. Then, 0.5 mL of tetraethyl orthosilicate (TEOS) was added dropwise followed by addition of 3 mL of ethyl acetate. The reaction was stirred at 350 rpm and 75 °C during 3 h. Then, the reaction was placed on an ice bath and the nanoparticles were collected by centrifugation (9500 rpm, 10 min). Afterward, the sample was washed with ethanol twice and dried under vacuum overnight. The final magnetic core MSNs were calcined in air at 550 °C for 5 h.

2.1.2. Characterization of magnetic core MSNs

2.1.2.1. Powder X-ray diffraction. The synthesised materials were characterized by powder X-ray diffraction (PXRD), transmission electron microscopy (TEM) and N_2 adsorption-desorption analysis. PXRD measurements were obtained using a Bruker AXS D8 Advance diffractometer equipped with $\text{CuK}\alpha$ radiation and working at 40 kV/40 mA. PXRD measurements were performed at high angle ($2\theta = 15^\circ$ – 68°) and low angle range ($2\theta = 1.3^\circ$ – 8.3°).

2.1.3. Transmission electron microscopy

TEM images were taken on a 100 kV JEOL JEM-1010 microscope operated with AMT image capture engine software. TEM samples were prepared by adding 10 μL of nanoparticles suspended in distilled water onto carbon-coated copper grids. The statistical analysis of the data obtained from TEM images was performed using Origin Pro software.

2.1.3.1. N_2 adsorption-desorption. N_2 adsorption-desorption measurements were conducted in a TriStar II Plus surface area and porosity analyzer from Micromeritics. The specific surface area of the material was determined from the adsorption-desorption isotherm by applying the BET model. The pore volume and average pore size was estimated by using the BJH model.

2.1.4. Ethambutol polymeric nanoparticle

2.1.4.1. Development of ethambutol nanoparticle. To the nanoparticles preparation, an ethambutol tablet (400 mg of ethambutol hydrochloride, oral administration) was triturated and then an amount containing 5 mg of ethambutol was weighted (which represents 10% of the polymer mass to be added to the nanoparticle) and solubilized in 0.1 wt% PVA aqueous solution.

Ethambutol nanoparticles were prepared by double emulsion solvent evaporation method where 200 μL of ethambutol-PVA aqueous solution was dripped into 2 mL of dichloromethane, where 50 mg of PCL (with a molar mass of 42,000 g/mol) were previously solubilized and then sonicated (UP100H, Hielscher) for 1 min at 55 W to produce a water-in-oil emulsion. This emulsion was emulsified again with 4 mL of PVA 1 wt% solution by ultrasound processing for 2 min (55 W) to produce a W/O/W emulsion.

Then dichloromethane was evaporated under reduced pressure during 1 h at 25 °C. PCL-NPs were recovered by centrifugation (20,000 rpm for 20 min) and washed twice with distilled water to remove the excess of PVA. At the end only PCL-ethambutol nanoparticles were used.

2.1.4.1.1. Size determination by DLS. Nanoparticles size distribution, mean size and polydispersity index (PDI) of the ethambutol nanoparticle were determined by dynamic light scattering (DLS) using the equipment Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK). Measurements were performed in triplicate at 25 °C and the laser incidence angle in relation to the sample was 173° using a 12 mm² quartz cuvette. The mean \pm standard deviation (SD) was assessed.

2.1.4.2. Scanning Electron microscopy (SEM). The morphology of nanoparticles was examined by Scanning Electron Microscopy (SEM) (TM 3000 – Hitachi), with a tension varying from 10 to 20 kV. The sample, 10 μL of the nanoparticle solution, was fixed on a carbon tape and dried under aseptic conditions.

2.1.4.3. Labeling process with $^{99\text{m}}\text{Tc}$. The labeling process was done by the direct radiolabeling process as described previously [10,11]. In this methodology we used 150 μg of each nanoparticle: i) Magnetic Core Mesoporous Silica Nanoparticles, ii) ethambutol polymeric nanoparticle. Briefly, 100 μCi (approximately 300 μL) of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ was incubated with a stannous chloride (SnCl_2) solutions (80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Sigma-Aldrich) for 20 min at room temperature. Then this solution was incubated with 150 μg of each nanoparticle (Magnetic Core Mesoporous Silica Nanoparticles and Ethambutol Polymeric Nanoparticles) for another 10 min in order to label their structures.

2.1.4.4. Quality control of the labeling process with $^{99\text{m}}\text{Tc}$. In order to confirm the efficacy of the labeling process with the nanoparticles was performed a paper chromatography using Whatman paper n^o 1. In this direction was used 2 μL of the labeled-nanoparticle and acetone (Sigma-Aldrich) as mobile phase. The radioactivity of the strips was verified in a γ -counter (Perkin Elmer Wizard[®] 2470, Shelton, CT City, State).

2.1.5. In vivo analysis

2.1.5.1. Animals and high fat diet (HFD) protocol. All experiments on animals were conducted according to the principles of NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and were approved by the Committee for the Ethics of Animal Experimentation of the Universidade do Estado do Rio de Janeiro (Permit number: CEA/024/2017).

Male C57BL/6 mice ($n = 12$) were obtained from Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil) at 3 weeks of age. After 1 week of adaptation, the animals were housed separate cages and were fed either regular chow (C; 396 kcal/100 g, 13% of energy derived from fat) or a High Fat Diet (HFD, 470 kcal/100 g, 45% of energy derived from fat) for 10 weeks in a temperature-controlled room ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), with 60% humidity and 12-hours artificial light-dark cycle. Body

weight was measured throughout the treatment period.

2.1.5.2. Body composition analysis. Body composition analysis was performed by nuclear magnetic resonance. Briefly, mice were scanned using the body composition analyzer for small animals (Bruker's Minispec LF90 TD-NMR, Massachusetts, USA). The instrument was calibrated for these studies using NMR scans and chemical composition data from 10 mice (body weight range 25–40 g). On day of testing, a quality control check of internal voltages, temperature, magnets, and NMR parameters was performed using a standard provided by the manufacturer. Animals were placed in a clear, plastic cylinder (50 mm diameter) and kept immobile by insertion of a tight fitting plunger into the cylinder (without having to anesthetize them). The tube was then lowered into the sample chamber of the instrument for approximately 2 min, the duration of the scan.

2.1.5.3. Intraperitoneal glucose tolerance test (ipGTT). Mice were fasted for 12 h and basal glucose was measured. Mice were then administered an i.p. bolus of glucose (2.0 g/kg body weight) and glycemia was monitored every 30 min for up to 120 min. Glycemia was measured with an Accu Check Active glucometer (Roche diagnostics, Mannheim, Germany).

2.1.5.4. Intraperitoneal insulin tolerance test (ipITT). Mice were weighted and fasting blood glucose levels were measured. Mice were then administered an i.p. injection of insulin (0.1 U/mL; Humulin human insulin; Eli Lilly, São Paulo, Brazil) resulting in a dose of 0.5 U/kg. Blood glucose was measured at 15, 30, 45, 60, and 120 min after injection.

2.1.5.5. Biodistribution. The mice were maintained under controlled temperature ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$) with water and food ad libitum. No anesthetic was used. The labeled samples (3.7 MBq/0.2 mL) were administered by intraocular (retro-orbital) injection as described in Table 1. After 24 h of drug administration, the mice were sacrificed by asphyxiation (CO_2 chamber) and then dissected and their lungs were removed, weighed and the radioactivity uptake counted in a gamma counter (Perkin Elmer). Results were expressed as percentage of injected dose per gram of tissue. The Institutional Review Board and the Animal Ethics Committee approved the study protocol.

2.1.6. Statistical analysis

The data were expressed as means standard error and analyzed by the two-tailed unpaired Student's *t*-test. When appropriate, individual comparisons were subsequently tested with Bonferroni's *t*-test for unpaired values. Differences were considered statistically significant when $p < 0.05$. The data were analyzed using GraphPad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software, USA).

3. Results & discussion

3.1. Magnetic core mesoporous silica

3.1.1. Characterization of magnetic core MSNs

The structure periodicity of the mesoporous material was confirmed by PXRD, which showed a sharp peak at the low-angle region for both

Table 1

Distribution of number of animals (n) used for the biodistribution study with radiolabeled nanoparticles (magnetic core mesoporous silica and polycaprolactone ethambutol) into the two groups: obese and nonobese (lean) mice.

Nanoparticle	Obese mice (n)	Nonobese mice (n)
Magnetic core mesoporous silica	3	3
Polycaprolactone ethambutol	3	3

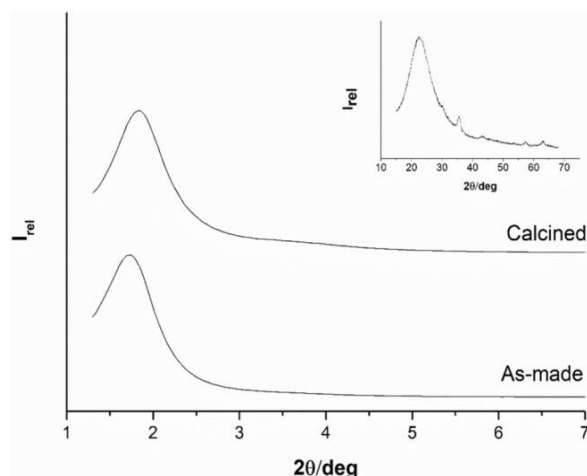


Fig. 1. X-ray diffraction analysis of the magnetic core MSNs (S0-1) and calcined magnetic core MSNs (S0-2), showing the magnetite nanocrystals and the characteristic broad peak of amorphous silica.

as-made (S0-1) and calcined (S0-2) magnetic core MSNs (Fig. 1). The slight shift of the peak to higher angles indicates a shrinkage of the silica matrix due to the condensation of silanol groups during the calcination process. PXRD analysis at high angles confirmed the presence of magnetic cores within the structure (see inset in Fig. 1).

The mesoporous structure of S0-2 magnetic core MSNs was also analyzed by transmission electron microscopy and the size of the primary nanoparticles was determined by image analysis (58.9 ± 8.1 nm, $n = 100$). The data was represented in a histogram, which shows the particle size distribution of the S0-2 nanoparticles (Fig. 2).

The N_2 adsorption-desorption isotherms of the magnetic core MSNs presented a typical type IV behaviour (Fig. 3), characteristic of mesoporous materials. From the isotherm curve, a specific surface area of $872\text{ m}^2/\text{g}$ was estimated along with a pore volume of $0.85\text{ cm}^3/\text{g}$ and an average pore diameter of 3.15 nm.

3.1.2. Ethambutol polymeric nanoparticle

The results from SEM (Fig. 4) showed that nanoparticles size was about 280–300 nm. A late SEM image demonstrated that nanoparticles may aggregate, forming a nanoparticle with a size no bigger than 500 nm (Fig. 5).

Thus, considering the circumference volume (Cv) equation,

$$Cv = \pi r^3$$

where: Cv: circumference volume; π : constant pi; R: Radius of the circumference.

The molar mass of PCl: 66.4268 g/mol. As also the medium average size of the ethambutol nanoparticle of 290 nm, we have that the weight of one single ethambutol nanoparticle is about: 3.6×10^{-15} g.

3.1.3. DLS size characterization

Fig. 6 shows the mean size and size distribution of the ethambutol nanoparticles. According to the distribution profile it is possible to infer that nanoparticles presented a monomodal size distribution, with a mean size of 270 nm, corroborating the findings of SEM. The narrow peak suggests a homogeneous system with sizes near to the mean. According to Paranje and Müller-Goymann [12] particles smaller than 500 nm deposited in the alveolar region, it could sediment be retained in the bronchiolar region for a longer time when compared to nanoparticles, which could improve efficacy.

3.1.4. Labeling with ^{99m}Tc

The magnetic core mesoporous silica nanoparticles were

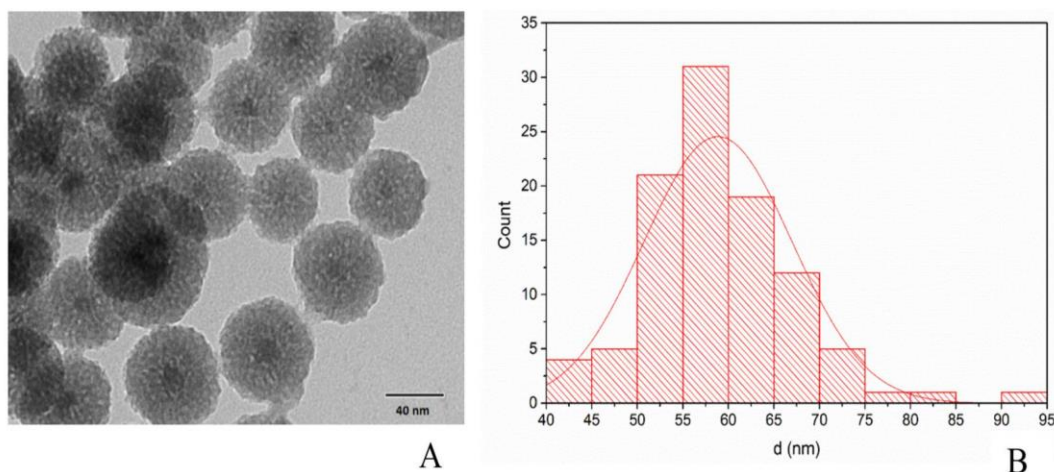


Fig. 2. A: Transmission Electron Microscopy (TEM) images magnetic core mesoporous silicanano particles. B: Size histogram and normal size distribution of magnetic core mesoporous silica nanoparticles, corroborating the size of 58 nm.

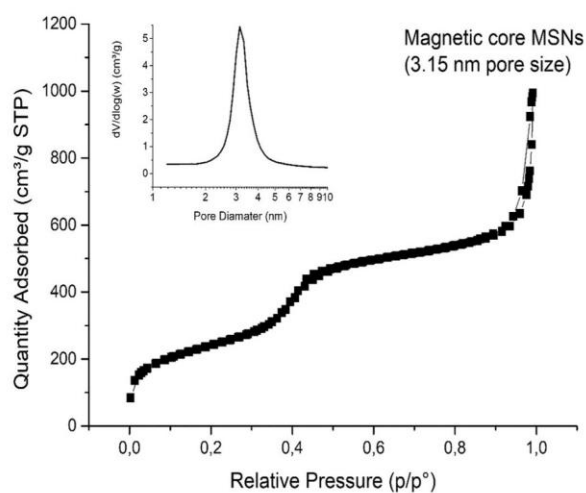


Fig. 3. N₂ adsorption-desorption analysis showing the pore size distribution of the magnetic core mesoporous silica nanoparticles, corroborating the pore size of 3.15 nm.

successfully labeled with ^{99m}Tc, showing an average of labeling efficacy over 98%. A similar result was found for the polymeric ethambutol nanoparticle which had a labeling efficacy of 99%.

3.1.5. Quality control

The stability of the labeling process from the ethambutol polymeric nanoparticles and magnetic core mesoporous silica nanoparticles with the ^{99m}Tc were checked and the values are expressed in Tables 2 and 3.

3.1.5.1. Animals and high fat diet (HFD) protocol. As observed by the body composition analysis in Fig. 7A–C, animals reached the obesity state that is characterized by increased body mass, with an increase in adipose mass and a decrease in lean mass and a marked reduction in glucose uptake, that has been confirmed by the ipGTT corroborating the changes in insulin and glucose tolerance (Fig. 8A and B).

3.1.5.2. Biodistribution. To address the interference of obesity on the biodistribution of polymeric nanoparticles (Fig. 9) and magnetic core mesoporous silica (Fig. 10), particles were injected (i.o.) in different groups of obese and non-obese mice. The distribution in the liver and spleen of obese and nonobese mice of the polymeric nanoparticles 24 h after its administration is shown in Table 4.

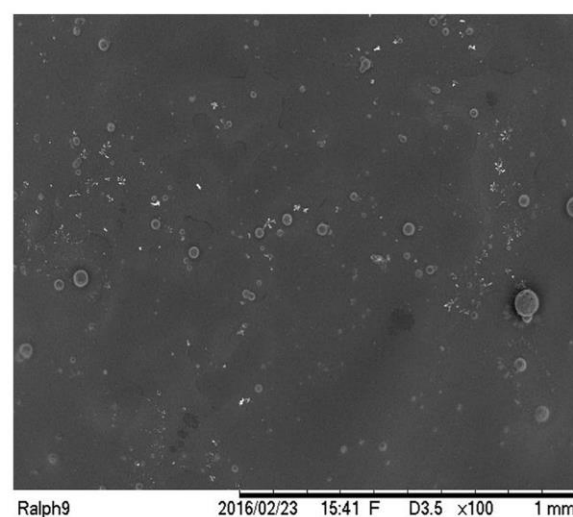


Fig. 4. Scanning electron microscopy imaging, performed immediately after the production of the polymeric ethambutol nanoparticle showing nanoparticle with a range of size about 280–320 nm.

Data indicates that a statistical difference between the two groups were detected in the distribution of polymeric nanoparticles in liver/spleen (Σ), obese animals showed an apparent lower uptaking capacity (78,5%), compared to nonobese mice (92,04%), considering the total nanoparticles administered. Nevertheless, call attention the fact that spleens and liver of obese mice accumulated less nanoparticles (9,03% and 69,47% respectively) than nonobese (12,49% and 79,55%, respectively).

Several studies on biodistribution of nanoparticles have shown that they can be highly uptaken (from 30% to 99%) by liver and spleen [13,14], two organs with an active mononuclear phagocyte system (MPS). This system works, particularly in spleen, lymph nodes and liver, as an immune network to remove foreign material and pathogens from the bloodstream [15,16,17]. In the liver, although Kupffer cells, have been considered the main responsible for phagocytic activity [18], recent studies suggested that other cells in the hepatic inflammatory microenvironment should be considered for nanoparticles sequestration [17,19].

Obesity has been characterized as a low-grade inflamed sub-acute state, characterized by a chronic infiltration of macrophages in adipose tissue, which in turn mediates local and systemic inflammation and acts

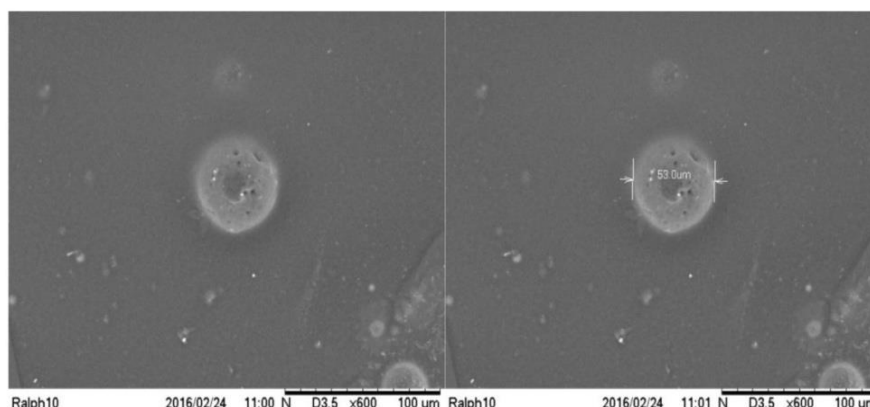


Fig. 5. Scanning electron microscopy imaging, performed after 10 days of nanoparticles production, confirming the possibility of aggregation.

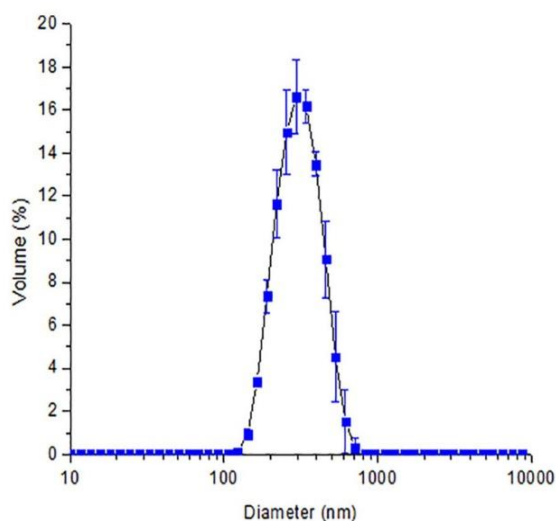


Fig. 6. Dynamic light scattering analysis (DLS) showing the mean size and size distribution of the polycaprolactone ethambutol nanoparticles, corroborating a monomodal size distribution, with a mean size of 270 nm.

Table 2
Percentage of labeled ethambutol polymeric nanoparticles with ^{99m}Tc observed over time (4 h).

Time (h)	Labeling (%)
0	99,52 \pm 1,2
1	99,45 \pm 1,3
2	99,55 \pm 1,0
4	99,21 \pm 1,1

Table 3
Percentage of labeled magnetic core mesoporous silica nanoparticles with ^{99m}Tc observed over time (4 h).

Time (h)	Labeling (%) magnetic core mesoporous silica nanoparticles
0	99.6 \pm 0.7%
1	98.8 \pm 0.5%
2	99.3 \pm 1.0%
4	98.0 \pm 0.8%

as a key contributor to insulin resistance [20]. Adipose tissue macrophages are derived largely from circulating monocytes stimulated by inflammatory mediators released by the obese adipose tissue

[21,22,23], and may contribute, as a classical MPS organ, to nanoparticles uptake by the obese adipose tissue. Furthermore, considering that in obese mice the abdominal region is more distended, this may cause an increase in vessel diameter, augmenting vessels fenestration and volume, consequently increasing the perfusion volume [24–27]. In agreement, as shown in Table 5, a higher uptake of nanoparticles by the epididymal and abdominal fat tissue in obese mice than nonobese mice.

As can be observed in the fat tissue, occurred an increased ratio of 2.77-fold (0,0460/0,00136) higher uptake in obese when compared to nonobese (Table 5). Although the uptake by the adipose tissue responded for < 2% of the total amount of nanoparticles injected in the animals, is important to emphasize that the inflamed condition in obesity may contribute to increase the uptake of nanoparticles by the obese adipose tissue. The obese state in our model, also contributes for an increased uptake by stomach and intestines (Fig. 9), and fat accumulation in these organs justifies the results [28–31]. Visceral adiposity can induce the production of pro-inflammatory mediators and immune-cell infiltration, contributing to the low-grade systemic inflammation, resulting in macrophage accumulation/migration, insulin resistance and metabolic syndrome, and consequently high uptake of nanoparticles [32].

A discrete but higher uptake by pancreas was observed in obese mice (Fig. 9). During obesity, the pancreatic functions are rather overwhelmed. This highly-activated state in obese mice is subsidized mainly by the accumulated peri-pancreatic adipose tissue, allowing a higher uptake by the organ [33,34].

The metabolic alterations in obesity can dramatically affect the cardiovascular and pulmonary system. Obese individuals often present distension of the thoracic-abdominal region that can lead to limited diaphragm mobility and rib movement. Nonetheless, the excess of adipose tissue may also lead to lung hypodevelopment [35], with alterations in bronchial responsiveness, and risk of asthma. Because of that, obese individuals tend to present higher respiratory rates and lower tidal volume [36,37]. All these factors may explain the higher uptake of nanoparticles by lungs (right and left) of obese mice, when compared to nonobese.

The biodistribution of the magnetic core mesoporous silica, have shown to be very much alike to that of the polymeric nanoparticle of ethambutol, and there was no great change between obese and non-obese mice in the total body distribution (Fig. 10).

The results from biodistribution of magnetic core mesoporous silica nanoparticles showed no difference in uptake by the liver in both cases: obese and nonobese mice. On the other hand a great difference of over 33-fold higher uptake in spleen by obese mice was observed, as demonstrated in Table 6:

The great difference of uptake in spleen between obese and non-obese mice in the case of magnetic core mesoporous silica can be

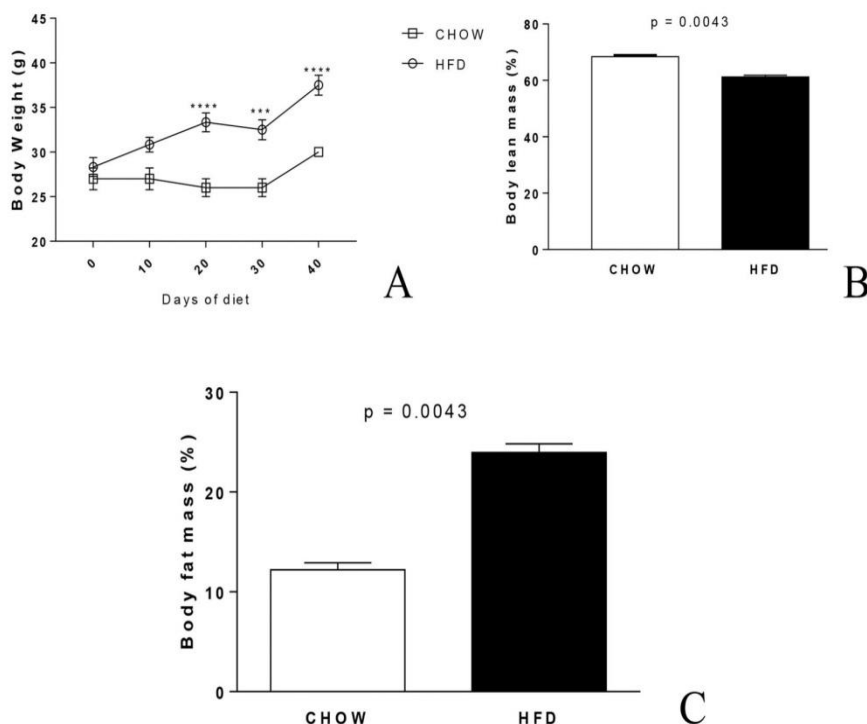


Fig. 7. Body composition analysis with both groups under study (obese e nonobese) showing the alteration that all the animals reached in the obese group, as high increase in the body mass (A), decrease in the lean mass (B) and increase in fat mass (C). The results are shown as the mean \pm SE calculated from 3 different animals * $p < 0.05$ and ** $p < 0.001$ when compared to nonobese mice.

explained by the fact that during obesity a splenomegaly via sinusoidal dilatation and intra-cellular or intercellular deposits is observed. The splenomegaly, increases the discontinuous gaps at endothelium, which lines the sinusoidal walls spleen, allowing the passive entrapment of foreign particulates [38,39], especially the ones with small size, as the magnetic core mesoporous silica (58 nm). For that reason, a higher uptake of magnetic core mesoporous silica nanoparticles in spleen was observed in obese mice than in nonobese.

An important fact that our data showed is regarding the facilitated interaction between mesoporous silica and macrophages. According to the literature, due the large surface area of the mesoporous silica nanoparticles, the interaction between macrophages and magnetic core mesoporous silica, should be facilitate, leading to their rapid recognition by the MPS, and fast clearance by RES, especially in obese mice,

which the MPS is highly activated [40,41]. In contrast, polymeric agents (as the polycaprolactone, used in the ethambutol nanoparticles) tend to create a steric hindrance and repulsion effect of polymeric chains against blood proteins and macrophages [42], resulting in a “protective” effect making this system less prone to the action of the MPS. In our study we found exactly the opposite of the literature. We had a high recognition by the MPS of polymeric nanoparticles ($\Sigma 78,5\%$ and $\Sigma 92,04\%$), respectively obese and nonobese mice. While the magnetic core mesoporous silica nanoparticles showed a halved uptake by the MPS ($\Sigma 60,58\%$ and $\Sigma 36,25\%$) obese and nonobese mice, respectively. The most accepted explanation is due the size, where bigger nanoparticles are more likely to be recognized by the MPS [43–45]. Then, indifferent to surface features, size outweighs recognition by the MPS.

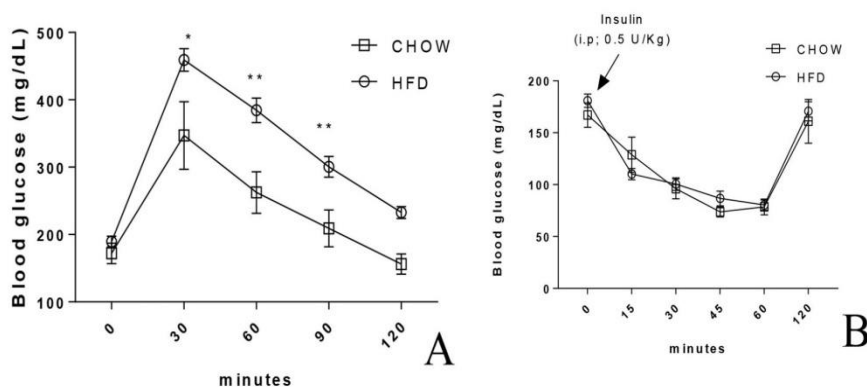


Fig. 8. Comparison of Intra-peritoneal insulin tolerance test (ipITT) (A) and intra-peritoneal glucose tolerance test (ipGTT) (B) in both groups (obese and nonobese) shows the increase on insulin tolerance in the obese group with no difference on glucose tolerance, corroborating the obesity state of the obese group.

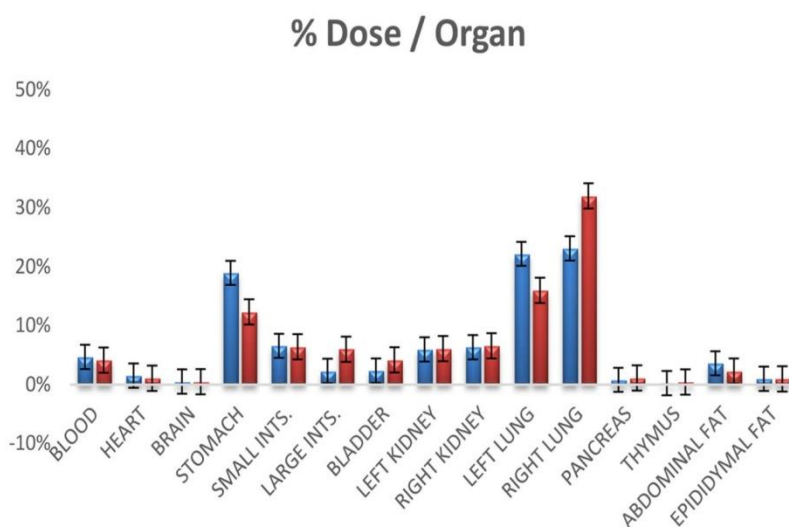


Fig. 9. Biodistribution of ^{99m}Tc labeled ethambutol polymeric nanoparticles in obese (blue) and non-obese (red) mice. Due the high uptake of the ^{99m}Tc labeled ethambutol polymeric nanoparticles in liver and spleen these both data has been removed in order to better understand the behavior in the other organs. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

It is important to notice that a higher uptake in fat tissue was observed for the magnetic core mesoporous silica, with a ratio of 2.44-fold (0,004uCi/0,00164uCi) higher uptake in obese related to nonobese (Table 7). Almost the same ratio found in the polymeric nanoparticles. This data confirm the participation of the MPS in the whole of biodistribution of nanoparticles.

4. Conclusion

Our data demonstrated that obesity can interfere in the biodistribution of nanoparticles, with participation of the fat tissue. The exactly mechanism involved and responsible for these changes must be elucidated in order to promote the safety use of nanoparticles in different population strata.

Also, our findings suggest that, probably, due the low-grade inflammatory state, leading to a metabolic syndrome, observed in obesity, a critical paradigm shift can be observed. In general, the literature subsidizes that very small (< 15 nm) nanoparticles are filtered by the kidney; nanoparticles larger than 15 nm and smaller than 200 nm are captured by Kupffer cells and splenic marginal zone macrophages, whereas particles larger than 200 nm are retained in the red pulp of the spleen. Our data showed that in obesity the opposite occurs. We had bigger nanoparticles (280 nm) higher uptaken by the liver (Kupffer cells), whereas smaller nanoparticles (58 nm) higher uptaken by the

Table 4

Evaluation on the uptake of ethambutol polymeric nanoparticles in liver and spleen into the two groups (obese and nonobese).

Organ	%uCi uptake		%	
	Obese	Nonobese	Obese	Nonobese
Liver	3,22 (\pm 0.04)	3,66 (\pm 0.008)*	69,47	79,55
Spleen	0,419 (\pm 0.003)	0,575 (\pm 0.003)**	9,03	12,49

The results are shown as the mean \pm SE calculated from 3 different animals.

* $p < 0.05$.

** $p < 0.001$ when compared to nonobese mice.

spleen.

Nonetheless, our data suggest that regardless the surface characteristics, the nanoparticles size seems to have a predominant effect, especially regarding the spleen uptake, which under specific conditions (splenomegaly) tends to be more permeable to smaller nanoparticles.

Other studies using different nanoparticles such as Au-nanoparticles, PLA-nanoparticle, SBA-15 mesoporous silica nanoparticles and Spiions, should be performed in order to corroborate our findings and ensure the interference of obesity in the processes related to normal biodistribution of nanoparticles.

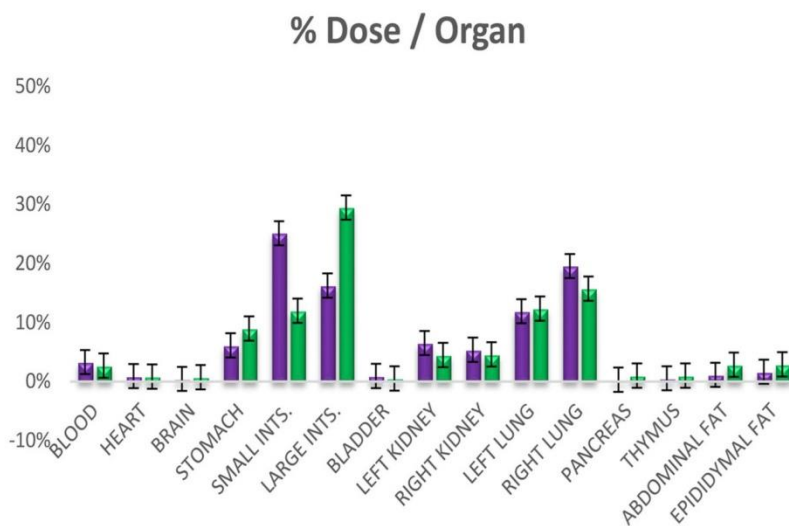


Fig. 10. Biodistribution of ^{99m}Tc labeled magnetic core mesoporous silica nanoparticles in obese (purple) and nonobese (green) mice. Due the high uptake of the ^{99m}Tc labeled ethambutol polymeric nanoparticles in liver and spleen these both data has been removed in order to better understand the behavior in the other organs. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Table 5

Evaluation on the uptake of ethambutol polymeric nanoparticles by the fat tissue in obese and nonobese animals.

Organ	%uCi uptake	
	Obese	Nonobese
Epididymal fat	0,01 (± 0.0004)	0,003 (± 0.00006)*
Abdominal fat	0,036 (± 0.0008)	0,0083 (± 0.00005)**

The results are shown as the mean ± SE calculated from 3 different animals.

* p < 0.05.

** p < 0.001 when compared to nonobese mice.

Table 6

Evaluation on the uptake of magnetic core mesoporous silica nanoparticles by the liver and spleen in obese and nonobese mice.

Organ	%uCi uptake		%	
	Obese	Nonobese	Obese	Nonobese
Liver	0.12 (± 0.006)	0.01 (± 0.0003)*	33,64	27,94
Spleen	0,099 (± 0.0002)*	0,003 (± 0.00002)**	26,94	8,31

The results are shown as the mean ± SE calculated from 3 different animals.

* p < 0.05.

** p < 0.001 when compared to nonobese mice.

Table 7

Evaluation on the uptake of magnetic core mesoporous silica nanoparticle by the fat tissue in obese and nonobese animals.

Organ	%uCi uptake obese	%uCi uptake nonobese
Epididymal fat	0,0024 (± 0.00006)	0,00082 (± 0.00004)**
Abdominal fat	0,0016 (± 0.00004)	0,00082 (± 0.00001)*

The results are shown as the mean ± SE calculated from 3 different animals.

* p < 0.05.

** p < 0.001 when compared to nonobese mice.

Transparency declarations section

The authors state that do not have any conflicts of interest.

Funding

The authors would like to thank the National Scientific and Technological Research Council (CNPQ) - no. 400018/2016-0 and the Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ) - E-26/102.940/2012 for funding. Authors also gratefully acknowledge the financial support from the Ministerio de Economía y Competitividad (Project MAT2012-38429-C04-01) and the Generalitat Valenciana (project PROMETEO/2009/016) for support.

References

- WHO Staff Work Side by Side with Governments and Other Partners to Ensure the Highest Attainable Level of Health for All People, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>, Accessed date: December 2015.
- M.J. Hanley, D.R. Abernethy, D.J. Greenblatt, Clin. Pharmacokinet. 49 (2010) 71.
- G. Cheymol, Clin. Pharmacokinet. 25 (2) (1993) 103.
- H. Mulla, T.N. Johnson, Arch. Dis. Child Educ. Pract. Ed. 95 (4) (2010) 112.
- C. Ghobadi, T.N. Johnson, M. Aarabi, L.M. Almond, A.C. Allabi, K. Rowland-Yeo, M. Jamei, A. Rostami-Hodjegan, Clin. Pharmacokinet. 50 (12) (2011) 809.
- A.J. Knibbe, M.J.E. Brill, A. van Rongen, J. Diepstraten, P.H. van der Graaf, M. Danhof, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 55 (2015) 28.1.
- The Mission of StatNano is to Monitor the Status of Nanotechnology Development and Policies in the World, <http://statnano.com>, Accessed date: 1 January 2018.
- O.V. Salata, J. Nanobiotechnol. 2 (2004) 3.
- C.F. Araujo-Lima, R.J.M. Nunes, R.M. Carpes, C.A.F. Aiub, I. Felzenszwalb, Biomed. Res. 2017 (2017), <http://dx.doi.org/10.1155/2017/5746768> <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/5746768/> (Article ID 5746768, 8 pages).
- L. Pascual, F. Sancenón, R. Martínez-Máñez, T.C. Barja-Fidalgo, S.V. da Silva, A.J. Sousa-Batista, C. Cerqueira-Coutinho, R. Santos-Oliveira, Microporous Mesoporous Mater. 239 (2017) 426.
- T.G. Rosa, S.N. Dos Santos, T. de Jesus Andreoli Pinto, D.D.M. Ghisleni, T.C. Barja-Fidalgo, E. Ricci-Junior, M. Al-Qahtani, J. Kozempel, E.S. Bernardes, R. Santos-Oliveira, Pharm. Res. 34 (12) (2017) 2922–2930, <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-017-2275-3> (2017 Dec, Epub 2017 Oct 23).
- M. Paranjpe, C.C. Müller-Goymann, Int. J. Mol. Sci. 8 (4) (2014) 5852.
- Y.-N. Zhang, W. Poon, A.J. Tavares, I.D. McGilvray, W.C.W. Chan, J. Control. Release 240 (2016) 332.
- X. Sun, X. Yan, O. Jacobson, W. Sun, Z. Wang, X. Tong, Y. Xia, D. Ling, X. Chen, Theranostics 7 (2) (2017) 319.
- K.M. Tsoi, S.A. MacParland, X.-Z. Ma, V.N. Spetzler, J. Echeverri, B. Ouyang, S.M. Fadel, E.A. Sykes, N. Goldaracena, J.M. Kathis, J.B. Conneely, B.A. Alman, M. Selzner, M.A. Ostrowski, O.A. Adeyi, A. Zilman, I.D. McGilvray, W.C.W. Chan, Nat. Mater. 15 (2016) 1212.
- Y. Liu, Z. Wang, Y. Liu, G. Zhu, O. Jacobson, X. Fu, R. Bai, X. Lin, N. Lu, X. Yang, W. Fan, J. Song, Z. Wang, G. Yu, F. Zhang, H. Kalish, G. Niu, Z. Nie, X. Chen, ACS Nano 11 (10) (2017) 10539.
- S.A. MacParland, K.M. Tsoi, B. Ouyang, X.Z. Ma, J. Manuel, A. Fawaz, M.A. Ostrowski, B.A. Alman, A. Zilman, W.C. Chan, I.D. McGilvray, ACS Nano 11 (3) (2017) 2428.
- S.F. dos Santos, S.R.R. Reis, L.P. Pires, E. Helal-Neto, F. Sancenón, T.C. Barja-Fidalgo, R.M. Mattos, L.E. Nasciutti, R. Martínez-Máñez, R. Santos-Oliveira, Microporous Mesoporous Mater. 251 (2017) 181.
- E. Samuelsson, H. Shen, E. Blanco, M. Ferrari, J. Wolfram, Colloids Surf. B: Biointerfaces 158 (2017) 356.
- A. Castoldi, C.N. de Souza, N.O.S. Camara, P.M. Moraes-Vieira, Front. Immunol. 6 (2015) 637.
- M. Renovato-Martins, M.E. Matheus, J.A. Moraes, S.V. da Silva, M. Citelli dos Reis, A.A. de Souza, C.C. da Silva, E. Bouskela, C. Barja-Fidalgo, Biochim. Biophys. Acta 1863 (1) (2017) 139–151.
- Y. Bai, Q. Sun, Obes. Rev. 16 (2) (2015) 127.
- A. Booth, A. Magnuson, J. Fouts, M.T. Foster, Horm. Mol. Biol. Clin. Invest. 26 (1) (2016) 25–42.
- P.A. Stapleton, M.E. James, A.G. Goodwill, J.C. Frisbee, Pathophysiology 15 (2) (2008) 79.
- M. Barton, O. Baretella, M.R. Meyer, Br. J. Pharmacol. 165 (3) (2012) 591.
- L. Wang, L. Djousse, Y. Song, A.O. Akinkuolie, C. Matsumoto, J.E. Manson, J.M. Gaziano, H.D. Sesso, J. Obes. 2017 (2017) 3521649.
- I. Broom, Br. J. Diabetes Vasc. Dis. 6 (2006) 58.
- N.J. Talley, S. Howell, R. Poulton, Am. J. Gastroenterol. 99 (9) (2004) 1807.
- M.A. Mushref, S. Srinivasan, Ann. Transl. Med. 1 (2) (2013) 14.
- A. Acosta, M. Camilleri, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1311 (2014) 42.
- M.M. Wolfe, M.O. Boylan, J. Clin. Gastroenterol. 48 (10) (2014) 817.
- L.I. Kredel, B. Siegmund, Front. Immunol. 5 (2014) 462.
- S. Navina, V.P. Singh, Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base, Version 1.0 (June 13, 2015).
- N.J. Zyromski, Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base, Version 1.0 (June 27, 2015).
- L.C. Melo, M.A. Mendonça da Silva, A.C.N. Calles, Einstein (Sao Paulo) 12 (1) (2014) 120.
- S.W. Littleton, Respirology 17 (1) (2012) 43.
- C.M. Salome, G.G. King, N. Berend, J. Appl. Physiol. 108 (1) (2010) 206.
- B.Z. Altunkaynak, E. Ozbek, M.E. Altunkaynak, Saudi Med. J. 28 (3) (2007) 353.
- T. Yu, D. Hubbard, A. Ray, H. Ghandeharia, J. Control. Release 163 (1) (2012) 46.
- F. Chen, H. Hong, S. Shi, S. Goel, H.F. Valdovinos, R. Hernandez, C.P. Theuer, T.E. Barnhart, W. Caia, Sci. Rep. 4 (2014) 5080.
- J. Hoppstädter, M. Seif, A. Dembek, C. Cavellius, H. Huwer, A. Kraegeloh, A.K. Kiemer, Front. Pharmacol. 6 (2015) 55.
- M. Vallet-Regí, M.M. García, M. Colilla, Biomedical Applications of Mesoporous Ceramics: Drug Delivery Smart Materials and Bone Tissue Engineering, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2012, p. 114.
- H.H. Gustafson, D. Holt-Casper, D.W. Grainger, H. Ghandehari, Nano Today 10 (4) (2015) 487.
- L. Shang, K. Nienhaus, G.U. Nienhaus, J. Nanobiotechnol. 12 (2014) 5.
- E. Blanco, H. Shen, M. Ferrari, Nat. Biotechnol. 33 (9) (2015) 941.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos dados demonstraram que a obesidade pode interferir na biodistribuição de nanopartículas, com participação do tecido adiposo. O mecanismo exato envolvido e responsável por essas mudanças precisa ser elucidado para promover o uso seguro de nanopartículas em indivíduos com características diferentes.

Nossos dados sugeriram ainda que, devido ao estado de inflamação de baixo-grau, que leva a síndrome metabólica observada na obesidade, uma mudança crítica de paradigma pode ser observada.

No entanto, nossos dados sugerem que, independentemente das características da superfície, o tamanho das nanopartículas demonstrou apresentar um efeito predominante, especialmente em relação à captação do baço, que sob condições específicas (esplenomegalia) tende a ser mais permeável a nanopartículas menores.

Outros estudos usando diferentes nanopartículas, como nanopartículas de Au, PLA-nanopartículas, nanopartículas de sílica mesoporosa SBA-15 e Spions, devem ser realizados a fim de corroborar nossos achados e garantir a interferência da obesidade nos processos relacionados a biodistribuição de nanopartículas.

6 REFERÊNCIAS

ADISESHAIAH, P. P.; HALL, J. B.; MCNEIL, S. E. Nanomaterial standards for efficacy and toxicity assessment. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 1, p. 99–112, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 63. **Ministério da Saúde - MS**, 2009.

ALAM, F. et al. Unique roles of nanotechnology in medicine and cancer-II. **Indian Journal of Cancer**, v. 52, n. 1, p. 1, 2016.

ALEXIS, F. et al. Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 4, p. 505–515, 2008.

ALMEIDA, J. P. M. et al. In vivo biodistribution of nanoparticles. **Nanomedicine**, v. 6, n. 5, p. 815–835, 2011.

ALONSO-GÓMEZ, A. M. et al. Diastolic dysfunction and exercise capacity in patients with metabolic syndrome and overweight/obesity. **IJC Heart and Vasculature**, v. 22, p. 67–72, 2019.

AN, R.; BURD, N. A. Change in daily energy intake associated with pairwise compositional change in carbohydrate, fat and protein intake among US adults, 1999-2010. **Public Health Nutrition**, v. 18, n. 8, p. 1343–1352, 2015.

ANDELA, S. et al. Efficacy of very low-energy diet programs for weight loss: A systematic review with meta-analysis of intervention studies in children and adolescents with obesity. **Obesity Reviews**, 2019.

ANDERCOU, O. et al. Risk factors for acute cholecystitis and for intraoperative complications. **Annali italiani di chirurgia**, v. 88, p. 318–325, 2017.

ANJANA, R. et al. Are excess carbohydrates the main link to diabetes & its complications in Asians? **Indian Journal of Medical Research**, v. 148, n. 5, p. 531, 2019.

APOVIAN, C. M. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. **The American journal of managed care**, v. 22, n. 7 Suppl, p. s176-85, 2016.

ARAMI, H. et al. In vivo delivery, pharmacokinetics, biodistribution and toxicity of iron oxide nanoparticles. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 23, p. 8576–8607, 2015.

AZIZ, F. et al. Novel route synthesis of porous and solid gold nanoparticles for investigating their comparative performance as contrast agent in computed tomography scan and effect on liver and kidney function. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 1555–1563, 2017.

BAJAJ, N. S. et al. Coronary Microvascular Dysfunction and Cardiovascular Risk in

Obese Patients. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 72, n. 7, p. 707–717, 2018.

BANIK, B. L.; FATTAHI, P.; BROWN, J. L. Polymeric nanoparticles: The future of nanomedicine. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 8, n. 2, p. 271–299, 2016.

BDJ. Welsh plans to tackle obesity will improve oral health. **Bdj**, v. 226, n. 3, p. 169–169, 2019.

BEI, D.; MENG, J.; YOUAN, B. B. C. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: Progress and promises. **Nanomedicine**, v. 5, n. 9, p. 1385–1399, 2010.

BERNARDES, E. et al. Nanoradiopharmaceuticals for Bone Cancer Metastasis Imaging. **Current Cancer Drug Targets**, v. 15, n. 5, p. 445–449, 2015.

BERNARDES, E. et al. Nanoradiopharmaceuticals for breast cancer imaging: development, characterization, and imaging in induced animals. **OncoTargets and Therapy**, v. Volume 9, p. 5847–5854, 2016.

BERNSEN, M. R. et al. Intravenous and intratumoral injection of Pluronic P94: The effect of administration route on biodistribution and tumor retention. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 13, n. 7, p. 2179–2188, 2017.

BETKER, J. L. et al. Nanoparticle uptake by circulating leukocytes: A major barrier to tumor delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 286, p. 85–93, 2018.

BHATHEJA, S. et al. Obesity Cardiomyopathy: Pathophysiologic Factors and Nosologic Reevaluation. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 352, n. 2, p. 219–222, 2016.

BIJNEN, M. et al. Adipose tissue macrophages induce hepatic neutrophil recruitment and macrophage accumulation in mice. **Gut**, v. 67, n. 7, p. 1317–1327, 2018.

BULTE, J. W. M. et al. MR cholangiography demonstrates unsuspected rapid biliary clearance of nanoparticles in rodents: Implications for clinical translation. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 10, n. 7, p. 1385–1388, 2014.

CABALLERO, B. Humans against Obesity: Who Will Win? **Advances in Nutrition**, v. 10, n. suppl_1, p. S4–S9, 2019.

CABANDUGAMA, P. K.; GARDNER, M. J.; SOWERS, J. R. The Renin Angiotensin Aldosterone System in Obesity and Hypertension. **Medical Clinics of North America**, v. 101, n. 1, p. 129–137, 2016.

CAMILLERI, M. Peripheral mechanisms in appetite regulation. **Gastroenterology**, v. 148, n. 6, p. 1219–1233, 2015.

CAMPBELL, F. et al. Directing Nanoparticle Biodistribution through Evasion and Exploitation of Stab2-Dependent Nanoparticle Uptake. **ACS Nano**, v. 12, n. 3, p. 2138–2150, 2018.

CHANDRAMOHAN, A. et al. Model for large-Area monolayer coverage of polystyrene nanospheres by spin coating. **Scientific Reports**, v. 7, 2017.

CHEN, Z. et al. Influence of Nanoparticle Shape, Size, and Surface Functionalization on Cellular Uptake. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 13, n. 10, p. 6485–6498, 2013.

CHO, K. et al. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 14, n. 5, p. 1310–1316, 2008.

CHOI, H. S.; FRANGIONI, J. V. Nanoparticles for biomedical imaging: Fundamentals of clinical translation. **Molecular Imaging**, v. 9, n. 6, p. 291–310, 2010.

CHOUNG, H.-Y. G. et al. The spectrum of kidney biopsy findings in patients with morbid obesity. **Kidney International**, 2019.

CHRISTINA, A.; MASSEY, K. A.; SCHNITZER, J. E. Overcoming in vivo barriers to targeted nanodelivery. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 3, n. 4, p. 421–437, 2011.

CONNROT, J. et al. Cancer immunotherapy: nanodelivery approaches for immune cell targeting and tracking. **Frontiers in Chemistry**, v. 2, 2014.

D'AGATI, V. D. et al. Obesity-related glomerulopathy: Clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, n. 8, p. 453–471, 2016.

DAI, T. et al. A new target ligand Ser-Glu for PEPT1-overexpressing cancer imaging. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 203–212, 2016.

DERGUNOV, S. A. et al. Encapsulation of Homogeneous Catalysts in Porous Polymer Nanocapsules Produces Fast-Acting Selective Nanoreactors. **ACS Nano**, v. 10, n. 12, p. 11397–11406, 2016.

DI COSTANZO, A. et al. Genetic and metabolic predictors of hepatic fat content in a cohort of Italian children with obesity. **Pediatric Research**, 2019.

DING, C. et al. Recent advances in stimuli-responsive release function drug delivery systems for tumor treatment. **Molecules**, v. 21, n. 12, 2016.

DING, H. M.; MA, Y. Q. Design strategy of surface decoration for efficient delivery of nanoparticles by computer simulation. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.

DOLGACHEVA, L. P. et al. Angiotensin II activates different calcium signaling pathways in adipocytes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 593, p. 38–49, 2016.

DRUDE, N. et al. Multistage Passive and Active Delivery of Radiolabeled Nanogels for Superior Tumor Penetration Efficiency. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 8, p. 2489–2498, 2017.

EDEM, P. E. et al. In vivo radionuclide generators for diagnostics and therapy. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2016, 2016.

EHRAMPOUSH, E. et al. New anthropometric indices or old ones: Which is the better predictor of body fat? **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 11, n. 4, p. 257–263, 2017.

EILS, R. et al. The transcriptomic and epigenetic map of vascular quiescence in the continuous lung endothelium. **eLife**, v. 7, 2018.

ELVIN BLANCO, H. S. & M. F. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. **Nature Biotechnology**, v. 33, p. 941–951, 2015.

ENGIN, A. Diet-induced obesity and the mechanism of leptin resistance. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 960, p. 381–397, 2017a.

ENGIN, A. Eat and death: Chronic over-eating. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 960, p. 53–80, 2017b.

ETRYCH, T. et al. Augmentation of the Enhanced Permeability and Retention Effect with Nitric Oxide-Generating Agents Improves the Therapeutic Effects of Nanomedicines. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 17, n. 12, p. 2643–2653, 2018.

FARZANEGI, P. et al. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. **European Journal of Sport Science**, p. 1–10, 2019.

FENG, M. et al. Enhanced antitumor efficacy of resveratrol-loaded nanocapsules in colon cancer cells: physicochemical and biological characterization. **European review for medical and pharmacological sciences**, v. 21, n. 2, p. 375–382, 2017.

FLEISCHER, C. C.; PAYNE, C. K. Nanoparticle-cell interactions: Molecular structure of the protein corona and cellular outcomes. **Accounts of Chemical Research**, v. 47, n. 8, p. 2651–2659, 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Nanotechnology Products Database**.

FUENTES, S. et al. Psycho-social factors related to obesity and their associations with socioeconomic characteristics: the RECORD study. **Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity**, 2019.

FUJITA, K. et al. Obesity, Inflammation, and Prostate Cancer. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 2, p. 201, 2019.

GAO, H.; HE, Q. The interaction of nanoparticles with plasma proteins and the consequent influence on nanoparticles behavior. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, n. 3, p. 409–420, 2014.

GARNETT, M. C.; KALLINTERI, P. Nanomedicines and nanotoxicology: Some physiological principles. **Occupational Medicine**, v. 56, n. 5, p. 307–311, 2006.

GASISOVA, A. I. et al. Morphostructure of Immune System Organs in Cattle of Different Age. **Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia**, v. 46, n. 2, p. 132–142, 2017.

GIBSON, T. M.; EHRHARDT, M. J.; NESS, K. K. Obesity and Metabolic Syndrome Among Adult Survivors of Childhood Leukemia. **Current Treatment Options in Oncology**, v. 17, n. 4, 2016.

GINHOUX, F. et al. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 8, p. 571–578, 2014.

GLASGOW, M. D. K.; CHOUGULE, M. B. Recent developments in active tumor targeted multifunctional nanoparticles for combination chemotherapy in cancer treatment and imaging. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 11, n. 11, p. 1859–1898, 2015.

GREEN, C. Technetium-99m production issues in the United Kingdom. **Journal of Medical Physics**, v. 37, n. 2, p. 66, 2012.

GUILHERME, A. et al. Molecular pathways linking adipose innervation to insulin action in obesity and diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, 2019.

GUYTON. AC AND HALL. JE. Textbook of Medical Physicology. In: [s.l: s.n.]. p. 1284–1298.

HALL, K. D.; GUO, J. Obesity Energetics: Body Weight Regulation and the Effects of Diet Composition. **Gastroenterology**, v. 152, n. 7, p. 1718–1727, 2017.

HAMOUDEH, M. et al. Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 12, p. 1329–1346, 2008.

HAN, Y. H. C. H. Nanomedicines: current status and future perspectives in aspect of drug delivery and pharmacokinetics. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, 2018.

HANDA, T. et al. Identifying a size-specific hazard of silica nanoparticles after intravenous administration and its relationship to the other hazards that have negative correlations with the particle size in mice. **Nanotechnology**, v. 28, n. 13, 2017.

HELAL, I. et al. Glomerular hyperfiltration: Definitions, mechanisms and clinical implications. **Nature Reviews Nephrology**, v. 8, n. 5, p. 293–300, 2012.

HENRY, C. E. et al. Anti-PEG antibodies alter the mobility and biodistribution of densely PEGylated nanoparticles in mucus. **Acta Biomaterialia**, v. 43, p. 61–70,

2016.

HOEKSEMA, M. A.; DE WINTHER, M. P. J. Epigenetic Regulation of Monocyte and Macrophage Function. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 25, n. 14, p. 758–774, 2016.

HU, Q. et al. Obesity and genes related to lipid metabolism predict poor survival in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncology**, 2019.

INOUE, Y. et al. Colonic M1 macrophage is associated with the prolongation of gastrointestinal motility and obesity in mice treated with vancomycin. **Molecular Medicine Reports**, 2019.

JALO, E. et al. Emotional Eating, Health Behaviours, and Obesity in Children: A 12-Country Cross-Sectional Study. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 351, 2019.

KAASALAINEN, M. et al. Size, Stability, and Porosity of Mesoporous Nanoparticles Characterized with Light Scattering. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 1, 2017.

KAMALY, N. et al. Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: Design, development and clinical translation. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2971–3010, 2012.

KHALID, A. et al. Strategies for improving drug delivery: nanocarriers and microenvironmental priming. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 7, p. 865–877, 2016.

KHATUA, B.; EL-KURDI, B.; SINGH, V. P. Obesity and pancreatitis. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 33, n. 5, p. 374–382, 2017.

KIM, Y. Effects of Exercise Training Alone on Depot-Specific Body Fat Stores in Youth: Review of Recent Literature. **Pediatric Exercise Science**, v. 30, n. 1, p. 58–68, 2017.

KUIPERS, E. N. et al. High Fat Diet Increases Circulating Endocannabinoids Accompanied by Increased Synthesis Enzymes in Adipose Tissue. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 2019.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 1, p. 1–18, 2010.

KWAKERNAAK, A. J.; TOERING, T. J.; NAVI, G. Body mass index and body fat distribution as renal risk factors: A focus on the role of renal haemodynamics. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 28, n. SUPPL.4, 2013.

L., B. et al. High-fat, high-sugar diet induces splenomegaly that is ameliorated with exercise and genistein treatment. **BMC research notes**, v. 11, n. 1, p. 752, 2018.

LAI, Y. J. et al. Association between obesity and risk of chronic kidney disease: A

nationwide Cohort study in Taiwan. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 27, n. 11, p. 1008–1014, 2017.

LARA, S. et al. Identification of Receptor Binding to the Biomolecular Corona of Nanoparticles. **ACS Nano**, v. 11, n. 2, p. 1884–1893, 2017.

LARSON, C. J. Translational Pharmacology and Physiology of Brown Adipose Tissue in Human Disease and Treatment. 2019.

LAURA L,AZZOUZ, S. S. Physiology, Large Intestine. 2018.

LI, L. et al. The spleen in liver cirrhosis: Revisiting an old enemy with novel targets. **Journal of Translational Medicine**, v. 15, n. 1, 2017a.

LI, Q. et al. Reg2 expression is required for pancreatic islet compensation in response to aging and high-fat diet-induced obesity. **Endocrinology**, v. 158, n. 6, p. 1634–1644, 2017b.

LI, S. et al. Near infrared fluorescent imaging of brain tumor with IR780 dye incorporated phospholipid nanoparticles. **Journal of Translational Medicine**, v. 15, n. 1, 2017c.

LIU, G. et al. On-Demand Fabrication of Si/SiO₂ Nanowire Arrays by Nanosphere Lithography and Subsequent Thermal Oxidation. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 1, 2017.

LOCKWOOD, G. P. et al. Manipulating fenestrations in young and old liver sinusoidal endothelial cells. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 316, n. 1, p. G144–G154, 2018.

LONGMIRE, M.; CHOYKE, P. L.; KOBAYASHI, H. Clearance Properties of Nano-sized Particles and Molecules as Nanomedicine Imaging Agents: Considerations and Caveats. v. 3, n. 5, p. 703–717, 2012.

MANCINI, M. C. et al. **Tratado de Obesidade**. 2010.

MARINAC, C. R.; BIRMANN, B. M. Rising cancer incidence in younger adults: is obesity to blame? **The Lancet Public Health**, v. 0, n. 0, 2019.

MARTIN-DEL-CAMPO, F. et al. Frequency and Risk Factors of Kidney Alterations in Children and Adolescents who Are Overweight and Obese in a Primary Health-care Setting. **Journal of Renal Nutrition**, 2019.

MARTIN, J. D. et al. Normalization of tumour blood vessels improves the delivery of nanomedicines in a size-dependent manner. **Nature Nanotechnology**, v. 7, n. 6, p. 383–388, 2012.

MARTIN, K. A.; MANI, M. V.; MANI, A. New targets to treat obesity and the metabolic syndrome. **European Journal of Pharmacology**, v. 763, p. 64–74, 2015.

MCKENZIE, C. V. et al. Splenomegaly: Pathophysiological bases and therapeutic options. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 94, p. 40–43, 2018.

MÉNAGER, C. et al. Magnetic Nanoparticles Create Hot Spots in Polymer Matrix for Controlled Drug Release. **Nanomaterials**, v. 8, n. 10, p. 850, 2018.

MENON, S.; MATHEW, R. Association between metabolic syndrome and hepatobiliary cancers: A case-control study. **Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology**, 2019.

MI, Y. et al. Application of nanotechnology to cancer radiotherapy. **Cancer Nanotechnology**, v. 7, n. 1, 2016.

MIRANDA, A. et al. Breaching barriers in glioblastoma. Part II: Targeted drug delivery and lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 1, p. 389–410, 2017.

MISRA, A.; JAYAWARDENA, R.; ANOOP, S. Obesity in South Asia: Phenotype, Morbidities, and Mitigation. **Current Obesity Reports**, 2019.

MONTANI, J. P.; SCHUTZ, Y.; DULLOO, A. G. Dieting and weight cycling as risk factors for cardiometabolic diseases: Who is really at risk? **Obesity Reviews**, v. 16, n. S1, p. 7–18, 2015.

MONU, S. R. et al. Role of connecting tubule glomerular feedback in obesity related renal damage. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 315, n. 6, p. F1708–F1713, 2018.

MOREIRA, M. et al. Fetal Splenomegaly: A Review. **Ultrasound Quarterly**, v. 34, n. 1, p. 32–33, 2018.

MUFTI ALSADIQI, A. I. et al. Peripheral artery disease risk factors in Jeddah, Saudi Arabia: a retrospective study. **International Journal of General Medicine**, v. Volume 12, p. 49–54, 2019.

MUSHREF, M. AL; SRINIVASAN, S. Effect of high fat-diet and obesity on gastrointestinal motility. **Annals of translational medicine**, v. 1, n. 2, p. 14, 2013.

NASSIRI KOOPAEI, N.; ABDOLLAHI, M. Opportunities and obstacles to the development of nanopharmaceuticals for human use. **DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 24, n. 1, p. 1–6, 2016.

NATFJI, A. A. et al. Parameters Affecting the Enhanced Permeability and Retention Effect: The Need for Patient Selection. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 11, p. 3179–3187, 2017.

NIE, S. Editorial: Understanding and overcoming major barriers in cancer nanomedicine. **Nanomedicine**, v. 5, n. 4, p. 523–528, 2010.

NISHA, K. D. et al. Effect of organic-ligands on the toxicity profiles of CdS nanoparticles and functional properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p. 407–413, 2015.

NIU, L. et al. Biodegradable mesoporous delivery system for biomineralization precursors. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 839–854, 2017.

OGNA, A. et al. Association between obesity and glomerular hyperfiltration: the confounding effect of smoking and sodium and protein intakes. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 3, p. 1089–1097, 2016.

OLIVEIRA, R. et al. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 151–165, 2006.

ONO, S.; EGAWA, G.; KABASHIMA, K. Regulation of blood vascular permeability in the skin. **Inflammation and Regeneration**, v. 37, n. 1, 2017.

ORTEGA-LOUBON, C. et al. Obesity and its cardiovascular effects. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, p. e3135, 2019.

PACCOSI, S. et al. Obesity therapy: how and why? **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, 2019.

PARK, J. H.; OH, N. Endocytosis and exocytosis of nanoparticles in mammalian cells. **International Journal of Nanomedicine**, p. 51, 2014.

PATAIA, V. et al. Paternal cholestasis exacerbates obesity-associated hypertension in male offspring but is prevented by paternal ursodeoxycholic acid treatment. **International Journal of Obesity**, p. 1–12, 2018.

PIMPIN, L. et al. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. **Journal of Hepatology**, v. 69, n. 3, p. 718–735, 2018.

PIRZGALSKA, R. M. et al. Sympathetic neuron-associated macrophages contribute to obesity by importing and metabolizing norepinephrine. **Nature Medicine**, v. 23, n. 11, p. 1309–1318, 2017.

POHLAND, M. et al. Biocompatibility of very small superparamagnetic iron oxide nanoparticles in murine organotypic hippocampal slice cultures and the role of microglia. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 1577–1591, 2017.

POLO, E. et al. Advances toward More Efficient Targeted Delivery of Nanoparticles in Vivo: Understanding Interactions between Nanoparticles and Cells. **ACS Nano**, v. 11, n. 3, p. 2397–2402, 2017.

POLSKY, S.; ELLIS, S. L. Obesity, insulin resistance, and type 1 diabetes mellitus. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 22, n. 4, p. 277–282, 2015.

POLYZOS, S. A.; KOUNTOURAS, J.; MANTZOROS, C. S. Adipose tissue, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. **Minerva Endocrinologica**, v. 42, n. 2, p. 92–108, 2017.

PRAGA, M.; MORALES, E. The Fatty Kidney: Obesity and Renal Disease. **Nephron**, v. 136, n. 4, p. 273–276, 2017.

RAMAMOORTHY, N. Impact of nuclear medicine and radiopharmaceuticals on health-care delivery: Advances, lessons, and need for an objective value-matrix. **Indian Journal of Nuclear Medicine**, v. 33, n. 4, p. 273, 2018.

RAMASAMY, B. R. et al. Massive splenomegaly due to concurrent primary Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infection in a patient on adalimumab. **BMJ case reports**, v. 2017, 2017.

RAO, A.; PANDYA, V.; WHALEY-CONNELL, A. Obesity and insulin resistance in resistant hypertension: Implications for the kidney. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v. 22, n. 3, p. 211–217, 2015.

SA, L. T. M. et al. Biodistribution of nanoparticles: Initial considerations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 70, p. 602–604, 2012.

SADEGHI, M. et al. Regulation of lipid metabolism in adipose depots of fat-tailed and thin-tailed lambs during negative and positive energy balances. **Gene**, v. 641, p. 203–211, 2017.

SAHA, G. B. **Fundamentals of nuclear pharmacy**. 2003.

SAKAI, N. S.; TAYLOR, S. A.; CHOUHAN, M. D. Obesity, metabolic disease and the pancreas—Quantitative imaging of pancreatic fat. **The British Journal of Radiology**, p. 20180267, 2018.

SALVO, I. et al. Formation of the Protein Corona: The Interface between Nanoparticles and the Immune System. **Seminars in Immunology**, v. 34, p. 52–60, 2017.

SANTOS-OLIVEIRA, R. Nanoradiopharmaceuticals: Is that the Future for Nuclear Medicine? **Current Radiopharmaceuticals**, v. 4, n. 2, p. 140–143, 2011.

SCHIAVO, L. et al. Nutritional issues in patients with obesity and cirrhosis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 24, n. 30, p. 3330–3346, 2018.

SERAVALLE, G.; GRASSI, G. Obesity and hypertension. **Pharmacological Research**, v. 122, p. 1–7, 2017.

SHANG, L.; NIENHAUS, K.; NIENHAUS, G. Engineered Nanoparticles Intercating With Cells: Size Matters. **J Nanobiotechnology**, v. 12, n. 5, p. 3155–3170, 2014.

SHAO, D. et al. The shape effect of magnetic mesoporous silica nanoparticles on endocytosis, biocompatibility and biodistribution. **Acta Biomaterialia**, v. 49, p. 531–

540, 2017.

SHETTY, V. B. et al. The time lag prior to the rise in glucose requirements to maintain stable glycaemia during moderate exercise in a fasted insulinaemic state is of short duration and unaffected by the level at which glycaemia is maintained in Type 1 diabetes. **Diabetic Medicine**, v. 35, n. 10, p. 1404–1411, 2018.

SHIPOVSKAYA, A. A.; DUDANOVA, O. P.; KURBATOVA, I. V. The clinical significance of insulin resistance in non-diabetic patients with early forms of non-alcoholic fatty liver disease. **Terapevticheskii Arkhiv**, v. 90, n. 8, p. 63–68, 2018.

SIAFAKA, P. I. et al. Surface modified multifunctional and stimuli responsive nanoparticles for drug targeting: Current status and uses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, 2016.

SOUZA ALBERNAZ, M. et al. Monoclonal Antibodies: Application in Radiopharmacy. **Current Radiopharmaceuticals**, v. 6, n. 4, p. 231–248, 2014.

STARK, W. J. et al. Industrial applications of nanoparticles. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 16, p. 5793–5805, 2015.

SU, Y.-L.; HU, S.-H. Functional Nanoparticles for Tumor Penetration of Therapeutics. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 193, 2018.

SUI, Z. et al. Recent trends in intensive treatments of obesity: Is academic research matching public interest? **Surgery for Obesity and Related Diseases**, 2019.

SUN, Y. B. Y. et al. Smad3 deficiency protects mice from obesity-induced podocyte injury that precedes insulin resistance. **Kidney International**, v. 88, n. 2, p. 286–298, 2015.

TACKE, F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. **Journal of Hepatology**, v. 66, n. 6, p. 1300–1312, 2017.

TALAMINI, L. et al. Influence of Size and Shape on the Anatomical Distribution of Endotoxin-Free Gold Nanoparticles. **ACS Nano**, v. 11, n. 6, p. 5519–5529, 2017.

TEIXEIRA, C. R. V. et al. Comparing the responses of rumen ciliate protozoa and bacteria to excess carbohydrate. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 6, 2017.

TERÁN-NAVARRO, H. et al. Pre-clinical development of Listeria-based nanovaccines as immunotherapies for solid tumours: insights from melanoma. **Oncolimmunology**, v. 8, n. 2, 2019.

TERANISHI, R. et al. Doxorubicin delivery using pH and redox dual-responsive hollow nanocapsules with a cationic electrostatic barrier. **Pharmaceutics**, v. 9, n. 1, 2017.

THOMAS, D. D. et al. Protein sparing therapies in acute illness and obesity: a review of George Blackburn's contributions to nutrition science. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 79, p. 83–96, 2018.

THORP, A. A.; SCHLAICH, M. P. Relevance of sympathetic nervous system activation in obesity and metabolic syndrome. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, 2015.

TIERNEY, T. et al. Carrier particle design for stabilization and isolation of drug nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 518, n. 1–2, p. 111–118, 2017.

TING, G. et al. Nanotargeted Radionuclides for cancer nuclear imaging and internal radiotherapy. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, 2010.

VALLET-REGÍ, M. et al. Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: Current insights. **Molecules**, v. 23, n. 1, 2018.

VAZIRI, N. D. et al. Role of AT-1 receptor in regulation of vascular MCP-1, IL-6, PAI-1, MAP kinase, and matrix expressions in obesity. **Kidney International**, v. 68, n. 6, p. 2787–2793, 2005.

VISWANATH, B.; KIM, S.; LEE, K. Recent insights into nanotechnology development for detection and treatment of colorectal cancer. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 2491–2504, 2016.

WANG, J.; GU, H. Novel metal nanomaterials and their catalytic applications. **Molecules**, v. 20, n. 9, p. 17070–17092, 2015.

WANG, W. J. et al. Thermo-sensitive polymer nanospheres as a smart plugging agent for shale gas drilling operations. **Petroleum Science**, v. 14, n. 1, p. 116–125, 2017.

WOLFRAM, J. et al. Safety of Nanoparticles in Medicine. **Current drug targets**, v. 16, n. 14, p. 1671–81, 2015.

WONG, C. et al. Multistage nanoparticle delivery system for deep penetration into tumor tissue. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 6, p. 2426–2431, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and Overweight. 2017.

WU, R. et al. [Change in plasma nesfatin-1 concentration within high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease rat models]. **Wei sheng yan jiu = Journal of hygiene research**, v. 45, n. 3, p. 452–457, 2016.

XIAO, W.; GAO, H. The impact of protein corona on the behavior and targeting capability of nanoparticle-based delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 552, n. 1–2, p. 328–339, 2018.

XU, J. et al. Renal clearable noble metal nanoparticles: photoluminescence, elimination, and biomedical applications. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 9, n. 5, 2017a.

XU, X. et al. The prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and related metabolic comorbidities was associated with age at onset of moderate to severe plaque psoriasis: A cross-sectional study. **PLoS ONE**, v. 12, n. 1, 2017b.

YAMAMOTO, G. et al. New Irradiation Method with Indocyanine Green-Loaded Nanospheres for Inactivating Periodontal Pathogens. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 154, 2017.

YANG, Q. et al. Leptin induces muscle wasting in *kras* -driven hepatocellular carcinoma (HCC) model in zebrafish. **Disease Models & Mechanisms**, p. dmm.038240, 2019.

YANG, X. et al. Dual-drug loaded nanoneedles with targeting property for efficient cancer therapy. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 15, n. 1, 2017.

YU, T. et al. In vivo biodistribution and pharmacokinetics of silica nanoparticles as a function of geometry, porosity and surface characteristics. **Journal of Controlled Release**, v. 163, n. 1, p. 46–54, 2012.

ZABARSKY, G. et al. Impact of Severe Obesity on Cardiovascular Risk Factors in Youth. **Journal of Pediatrics**, v. 192, p. 105–114, 2018.

ZDROJEWICZ, Z. et al. Medical applications of nanotechnology. **Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)**, v. 69, p. 1196–204, 2015.

ZHANG J, TANG H, LIU Z, C. B. Effects of major parameters of nanoparticles on their physical and chemical properties and recent application of nanodrug delivery system in targeted chemotherapy. **Int J Nanomedicine.**, 2017.

ZHANG, X. Y.; ZHANG, P. Y. Nanotechnology for multimodality treatment of cancer (Review). **Oncology Letters**, v. 12, n. 6, p. 4883–4886, 2016.

ZHAO, D. et al. Natural material-decorated mesoporous silica nanoparticle container for multifunctional membrane-controlled targeted drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 8411–8426, 2017.


ZHAO, J. et al. Gold Nanoparticles in Cancer Therapy: Efficacy, Biodistribution, and Toxicity. **Current pharmaceutical design**, v. 21, n. 29, p. 4240–51, 2015.

ZHONG, Q. et al. Effect of the Route of Administration and PEGylation of Poly(amidoamine) Dendrimers on Their Systemic and Lung Cellular Biodistribution. **Molecular Pharmaceutics**, v. 13, n. 6, p. 1866–1878, 2016.

7 APÊNDICE

7.1 Autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
 fax: (55 81) 2126 8300
 www.ocb.ufpe.br



Recife, 02 de agosto de 2013.

Ofício nº 606/13

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
 Para: **Prof Ralph Santos Oliveira**
 Faculdade de Farmácia
 Centro Universitário Estadual da Zona Oeste
 Processo nº 23076.020578/2013-27

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Desenvolvimento de Nanorradiofármacos.**"

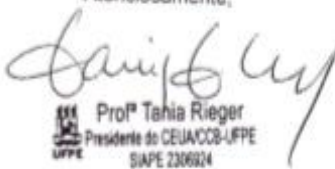
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.


Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério; Animais: ratos;
 Linhagem: Wistar; Idade: 10 semanas; Peso: 180-300 dias; Sexo: machos e fêmeas; Nº total de animais: 30.

Atenciosamente,




Profª Tania Rieger
 Presidente do CEUA/CCB-UFPE
 SIAPE 2306924