

INSTITUTO DE ENGENHARIA NUCLEAR

SUYENE ROCHA PINTO

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO TRANSPLACENTÁRIO DE
NANOPARTÍCULAS RADIOMARCADAS COM TECNÉCIO-99
METAESTÁVEL: AVALIAÇÃO DE RISCO MATERNO E
COMPROMETIMENTO FETAL.**

**Rio de Janeiro
2019**

SUYENE ROCHA PINTO

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO TRANSPLACENTÁRIO DE
NANOPARTÍCULAS RADIOMARCADAS COM TECNÉCIO-99
METAESTÁVEL: AVALIAÇÃO DE RISCO MATERNO E
COMPROMETIMENTO FETAL.**

Dissertação apresentada 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 a obtenção do Grau de Mestre em Ciências em Engenharia Nuclear – Aplicações de Técnicas Nucleares na Indústria, Saúde, Segurança e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Ralph Santos-Oliveira

Rio de Janeiro
2019

PINT Pinto, Suyene Rocha

Estudo do Comportamento Transplacentária de Nanopartículas Radiomarcadas com Tecnécio-99 metaestável: Avaliação de Risco Materno e Comprometimento Fetal. / Suyene Rocha Pinto. – Rio de Janeiro: CNEN/IEN, 2019.

91 f.

Orientador: Ralph Santos-Oliveira

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Engenharia Nuclear, PPGIEN, 2019

1.Nanopartícula – 2.Barreira Transplacentária. – 3. Citotoxicidade

ESTUDO DO COMPORTAMENTO TRANSPLACENTÁRIO DE
NANOPARTÍCULAS RADIOMARCADAS COM TECNÉCIO-99 METAESTÁVEL:
AVALIAÇÃO DE RISCO MATERNO E COMPROMETIMENTO FETAL.

Suyene Rocha Pinto

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 CIÊNCIAS EM ENGENHARIA NUCLEAR – APLICAÇÕES DE TÉCNICAS
NUCLEARES NA INDÚSTRIA, SAÚDE, SEGURANÇA E MEIO AMBIENTE.

Aprovada por:

Dr. Eduardo Ricci-Junior (Faculdade de Farmácia/UFRJ)

Dr. Edward Helal-Neto (PNPD/IEN)

Dra. Maria Angélica Vergara Wasserman (IEN/CNEN)

Dr. Ralph Santos-Oliveira (IEN/CNEN)

Rio de Janeiro
2019

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho à minha querida avó,
Helena Triani (in memoriam), que nos
deixou há pouco tempo, mas fez tanto por
mim ao longo de sua vida. Sinto sua falta.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante a minha caminhada, o que seria de mim sem a fé que eu tenho nele.

A minha mãe, Eliane Rocha, pelo incentivo, paciência, compreensão e amor incondicional. Obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos me mostrando que eu seria capaz mesmo diante de todas as adversidades.

Aos meus irmãos, Yuri e Alessandro por serem meu alívio nos momentos de tensão e por serem os melhores irmãos que eu poderia ter.

Ao meu orientador e valioso amigo Prof. Ralph Santos- Oliveira, que foi meu norte desde o momento que nos conhecemos, sempre esteve ao meu lado nos momentos de alegria e nos momentos de tristeza. Obrigado por nunca ter duvidado da minha capacidade e de acreditar em mim desde o primeiro momento, obrigado por confiar e ajudar na realização dos meus maiores sonhos. Agradeço a Deus por sua vida e amizade e principalmente por me permitir desfrutar da sua presença diariamente.

A amiga querida Marta Albernaz que desde o início de nossa amizade dedicou o seu tempo a transmitir seus conhecimentos sendo a maior incentivadora e espelho de profissional e dedicação ao trabalho, em especial a área que tanto amamos a Radiofamácia.

Aos amigos Filipe Portilho, Claudiana e Larissa pelos momentos que dividimos durante as disciplinas. Foram momentos maravilhosos, e apesar de tudo que passamos nós apoiamos mutuamente e nos divertimos muito.

Aos amigos do laboratório e de vida pela ajuda durante o caminho, por todo apoio. Em especial, a Sara, Thamires e Luís Filipe, que desde a graduação foram os melhores amigos e parceiros para todas as horas.

À todos os amigos do Laboratório de Nanorradiofármacos e Novos Radiofármacos, por todos os momentos de descontração em meios aos nossos experimentos.

À CAPES-CNPQ, pelo suporte financeiro da bolsa de mestrado durante a realização do curso de pós-graduação.

À FAPERJ, pela verba para a compra de equipamentos e insumos para a realização do projeto de pesquisa.

Por fim agradeço imensamente a todos que me apoiaram neste trabalho, acreditaram na minha capacidade e me incentivaram a seguir em frente.

RESUMO

Seja em cosmético ou com finalidade terapêutica, o uso de nanopartículas vem aumentando e assumindo proporção global. No entanto, existem poucos estudos sobre o potencial físico de uso a longo prazo ou uso em condições especiais, como em doenças crônicas, AIDS, mulheres grávidas e outras circunstâncias especiais de saúde. Neste contexto, o estudo da mutagenicidade e da passagem transplacentária representa um importante e modelo fiável para a avaliação primária de potenciais riscos para a saúde, especialmente a saúde materna e infantil. Neste estudo, realizamos avaliações de mutagenicidade, citotoxicidade e passagem transplacentária de nanopartículas de sílica mesoporosa com núcleo magnético, marcadas radioativamente com ^{99m}Tc para determinação de compostos toxicogênicos e risco potencial embrionários e fetal em modelo animal. Nanopartículas de sílica mesoporosa com núcleo magnético foram produzidas e caracterizada pela obtenção de nanopartículas de tamanho ($58,9 \pm 8,1$ nm) em forma esférica e com núcleo magnético intacto. O processo de radiomarcagem com ^{99m}Tc demonstrou alta eficácia e estabilidade em 98% de rendimento ao longo de um período de 8 horas de estabilidade. Os ensaios de mutagenicidade foram realizados utilizando Salmonela estirpes padrão entomic Typhimurium serovar TA98, TA100 e TA102. Ensaios de citotoxicidade foram realizados usando WST-1. Os ensaios de avaliação transplacentária foram realizados utilizando o modelo in vivo com ratos em dois períodos: estágio embrionário e fetal. Os resultados de ambas as análises corroboram que as nanopartículas podem i) gerar danos no DNA; ii) gerar potencial citotóxico e iii) atravessar a barreira transplacentária em ambas as fases e bioacumular em embriões e fetos. Os resultados sugerem que avaliações devem ser realizadas para atestar a segurança, eficácia e qualidade das nanopartículas antes da aprovação irrestrita de seu uso.

Palavras-chave: Nanopartícula, Barreira Transplacentária, Citotoxicidade, Gravidez, Sílica Mesoporosa, Tecnécio-99m.

ABSTRACT

Whether in the cosmetic or as therapeutic, the use of nanoparticles has been increasing and taking on global proportion. However, there are few studies about the physical potential of long-term use or use in special conditions such as chronic, AIDS, pregnant women and other special health circumstances. In this context, the study of the mutagenicity and the transplacental passage represents an important and reliable model for the primary evaluation of potential health risks, especially maternal and child health. In this study, we performed mutagenicity, cytotoxic and transplacental evaluation of magnetic core mesoporous silica nanoparticles, radiolabeled with ^{99m}Tc for determination of toxicogenic and embryonic/ fetuses potential risk in animal model. Magnetic core mesoporous silica nanoparticles were produced and characterized by obtaining nanoparticles with a size of $(58.9 \pm 8.1 \text{ nm})$ in spherical shape and with intact magnetic core. The ^{99m}Tc radiolabeling process demonstrated high efficacy and stability in 98% yield over a period of 8 hours of stability. Mutagenicity assays were performed using Salmonella enteric serovar Typhimurium standard strains TA98, TA100 and TA102. Cytotoxicity assays were performed using WST-1. The transplacental evaluation assays were performed using the in vivo model with rats in two periods: embryonic and fetal stage. The results of both analyzes corroborate that the nanoparticles can i) generate DNA damage; ii) generate cytotoxic potential and iii) cross the transplantation barrier in both stages and bioaccumulates in both embryos and fetuses. The results suggest that complementary evaluations should be conducted in order to attest safety, efficacy and quality of nanoparticles before unrestricted approval of their use.

Keywords: Nanoparticle, Transplacental Barrier, Cytotoxicity, Pregnancy, Mesoporous Silica, Technetium-99m.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Aparelho Reprodutor Feminino	16
Figura 2: Gameta Feminino (Ovócito)	17
Figura 3: Gameta Masculino (Espermatozóide)	17
Figura 4: Sequências de Eventos pós Fecundação.....	18
Figura 5: Blastócito	18
Figura 6: Placenta.....	24
Figura 7: Decíduas	24
Figura 8: Placenta de Gravidez Múltipla	25
Figura 9: Implantação do Feto.....	25
Figura 10: Transporte das Nanopartículas através das Células Epiteliais	35
Figura 11: Escala Nanométricas	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alterações Fisiológicas a curto prazo induzidas pela Gravidez	28
Tabela 2: Classificação de Drogas Utilizadas e Existentes no Mercado	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária - National Health Surveillance Agency
CDER	Centro de Avaliação e Pesquisa de Medicamentos - Center for Drug Evaluation and Research
EPR	Efeito Permeabilidade e Retenção Aumentadas - Enhanced Permeability and Retention
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos - Food and Drug Administration
HCG	Gonadotrofina Coriônica Humana - Human Chorionic Gonadotrophin
MSN's	Nanopartículas de Sílica Magnética - Magnetic Silica Nanoparticles
NP's	Nanopartículas - Nanoparticles
PCL	Policaprolactona - Polycaprolactone
PLA	Ácido Polilático - Polylactic Acid
PLGA	Poli (Ácido Lático-co- Ácido glicólico) - Poly (Lactic acid-co-glycolic acid)
SBIA	Small Business & Industry Assistance - Assistência para pequenas empresas e indústria

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1.Fecundação – Gestação	16
1.2. Placenta	19
1.3. Fisiologia da Gestação	26
1.4. Utilização de Medicamentos durante a Gravidez	28
1.5. Passagem Transplacentária e Riscos ao Feto	31
1.6. Nanotecnologia	34
1.7. Sílica Mesoporosa Magnética	36
1.8. Nanorradiofármacos	38
1.9. Radiofármacos	40
2. OBJETIVO	42
2.1. Objetivo Geral	42
2.2. Objetivo Específico	42
3. METODOLOGIA	43
CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXO A	91

INTRODUÇÃO

A administração de medicamentos em pacientes grávidas compreende uma das situações que necessitam ser amplamente avaliadas devido a fragilidade fetal durante as primeiras semanas da gestação (ABUKABDA et al., 2019; HO et al., 2017). A transferência de parte dos medicamentos ao feto pode gerar intoxicação e alterações permanentes (PINTO et al., 2018a). Durante as primeiras oito semanas os riscos de malformações são superiores, pois, é nesse período que ocorre a formação dos órgãos. Por tanto, alguns critérios devem ser observados durante o tratamento de mulheres gestantes, tais como: idade gestacional e características dos medicamentos a serem utilizados (BROLIO et al., 2010; CAO et al., 2019; HUANG et al., 2019).

O tratamento correto de gestantes deve-se a uma compreensão fisiológica e farmacológica que difere nessas pacientes. A prescrição, nesses casos, baseia-se em dados obtidos de uma população totalmente heterogênea e não representativa, uma vez que se baseiam em resultados obtidos a partir de pacientes masculinos e mulheres não gestantes (ARAÚJO et al., 2013; ROSADO-YÉPEZ et al., 2019). Além disso, é preciso que haja conhecimento realístico a respeito da farmacocinética e farmacodinâmica, uma vez que esta retrata o caminho e a concentração de um medicamento no organismo, dados fundamentais para avaliação do uso de um medicamento por pacientes gestantes (DECK; WINSTON, 2012; GRIFFITHS; CAMPBELL, 2015).

Durante o período gestacional o corpo feminino passa por vários estágios de mudanças fisiológicas complexas que corroboram para a formação da placenta e feto, por este motivo, pode haver intercorrências, algumas relacionadas à própria gravidez, que levam ao uso de medicamentos (FEGHALI; VENKATARAMANAN; CARITIS, 2015). Medicamentos administrados em gestantes chegam ao feto através da placenta, que ao contrário do que se pode imaginar, permite a passagem de diversas substâncias incluindo algumas classes de vírus (COTTRELL et al., 2018).

A Placenta é um órgão fetomaternal, ou seja, formado por tecidos maternal e fetal, além disso, é a responsável pela troca metabólica e gasosa entre mãe e feto, assim como a passagem de nutrientes vitais para o crescimento e desenvolvimento fetal (GUENOT et al., 2019; MÁRCIO LEAL HORTA, TSA, 2002). Desta forma, o feto pode ser afetado pela ingestão de medicamentos de maneira indireta, como no caso de pró-fármacos, onde o medicamento precisa ser metabolizado para garantir um efeito, ou

de maneira direta, causando alterações nas funções da placenta que podem levar a deficiências congênitas e até a morte fetal, ou ainda causando contrações uterinas que levarão danos ao feto ou a um parto prematuro (TORRES-VERGARA; ESCUDERO; PENNY, 2018; YIN et al., 2019).

A grande maioria dos medicamentos não apresenta ensaios clínicos em gestantes, pois, a gravidez é um preceito de restrição para esse tipo de teste (MORFAW et al., 2018; OSORIO-DE-CASTRO; PAUMGARTTEN; SILVER, 2004). É importante ressaltar que mudanças fisiológicas derivadas da gestação podem modificar a farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos, fato este que pode alterar a proporção dose/efeito (ZHANG et al., 2017). Desta forma, a avaliação de segurança de medicamentos e a toxicidade reprodutiva é dificultada, necessitando de uma estratégia para a realização de testes de fase pré-clínica que viabilizem a monitoração e a pós-comercialização (KUNA et al., 2018).

O desenvolvimento de um novo medicamento apresenta fases bem distintas que tem como objetivo assegurar a qualidade e segurança de substâncias que, eventualmente, serão utilizadas como fármacos, além disso, pesquisas nesse sentido representam um importante avanço para economia de um país (VELOSO CAIXETA; BINSFELD, 2013). Um medicamento que é comercializado, certamente passou por esses testes e apresenta uma relação risco/benefício bem definida para que os órgãos responsáveis pela fiscalização e registro permitam a sua utilização. No entanto, a automedicação e o crescimento populacional demandam um investimento maior no desenvolvimento de fármacos, principalmente em fármacos cuja dose para intoxicação do paciente é muito pequena (baixo limite terapêutico) (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018a).

De forma a aumentar a oferta e melhorar a eficácia de diversos medicamentos estudos vem, significativamente avançando nas últimas décadas, visando a produção de nanofármacos (BOMBARDIERI et al., 2010; SARWAL et al., 2019). Esta técnica consiste em produzir medicamentos em escalas nanométricas, ou seja, produzir nanomedicamentos com tamanhos de 1×10^{-9} m (um bilionésimo do metro). Fármacos com tamanho nessa ordem de grandeza, atravessam com facilidades membranas celulares e possibilitando direcionamento (targeting) para o local de interesse tornando-

o mais seletivo e eficazes. Além disso, mudanças físico-químicas podem ser aplicadas, potencializando sua ação.(ALAM et al., 2014; GAMMON; DOLD; JEWELL, 2016).

Dentre as diversas áreas de aplicação da nanotecnologia, a área de nanomedicina/nanofármacos é uma das maiores, pois, permite o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos com grande aplicabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (JEANNOT et al., 2016).

Por este motivo, a preocupação com o uso de nanopartículas em humanos vem aumentando, consideravelmente, principalmente com partículas de 1-100 nm (VALSAMI-JONES; LYNCH, 2015). O processo de absorção das nanopartículas no corpo humano ocorre por vias dérmica, ocular, respiratória e gastrointestinal. A capacidade de acumulação está associada ao tamanho, forma e característica de superfície (MILLER et al., 2017). Assim, uma visão ampla e geral sobre impactos biológicos não são totalmente conhecidos, em particular em populações alvo, como mulheres grávidas, uma vez que o conhecimento sobre a interação e comportamento das NP's com a placenta é limitado (MALYSHEVA; LOMBI; VOELCKER, 2015).

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

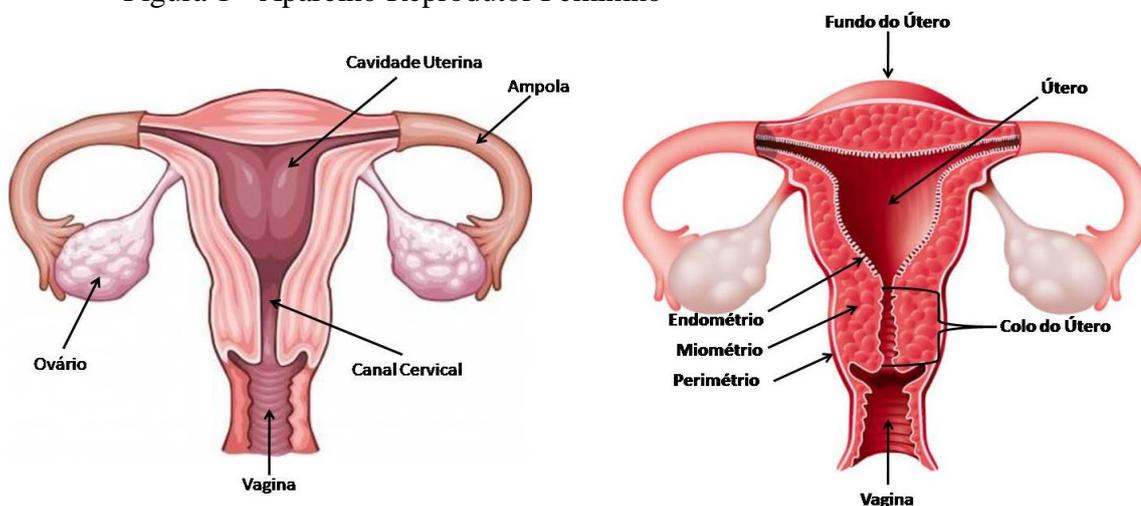
1.1. Fecundação – Gestação

A fecundação pode ocorrer até três dias após a relação sexual devido às características do espermatozóide, contudo, em um prazo de 24 horas após a ovulação na tuba uterina já pode ocorrer a fecundação (Figura 1) (KEITH L. MOORE, 2013; VAILLANCOURT; LAFOND, 2009).

O espermatozóide aproxima-se do ovócito (Figura 2) e no primeiro contato com a membrana plasmática ocorrem modificações chamadas de reação zonal, que evitam que outro espermatozóide (Figura 3) entre no ovócito. Em seguida, por meio de múltiplas divisões meióticas, forma-se o óvulo. Anteriormente à entrada no citoplasma do óvulo, o espermatozóide perde a sua calda, e os pronúcleos masculino e feminino se fundem, ocorrendo a mistura cromossômica parental, dando origem ao zigoto (RAMOS-IBEAS et al., 2019; THEUNISSEN; JAENISCH, 2017).

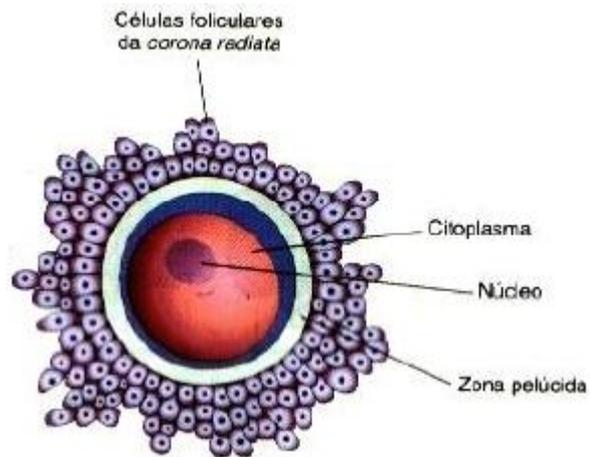
Em um período de até 30 horas, o zigoto sofre repetidas divisões mitóticas, dando origem a mórula (Figura 4) (FONG et al., 2004; ZHIGALINA et al., [s.d.]). Essa é então direcionada para o útero, onde ocorre a divisão em duas partes: i) Trofoblasto e ii) Embrioblasto. O Trofoblasto são células delgadas que darão origem a placenta e o Embrioblasto irá dar origem ao embrião primordial (Figura 5) (GALLEGO et al., 2010; SATHANANTHAN, 1997).

Figura 1 - Aparelho Reprodutor Feminino



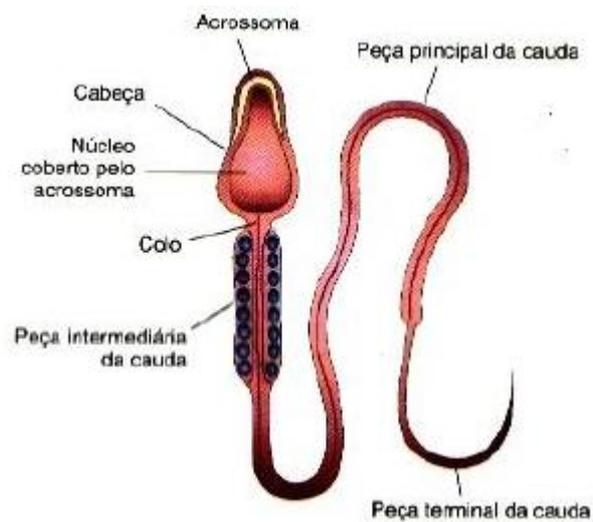
Fonte: Adaptação de Moore, 2013

Figura 2 - Gameta Feminino (Ovócito)



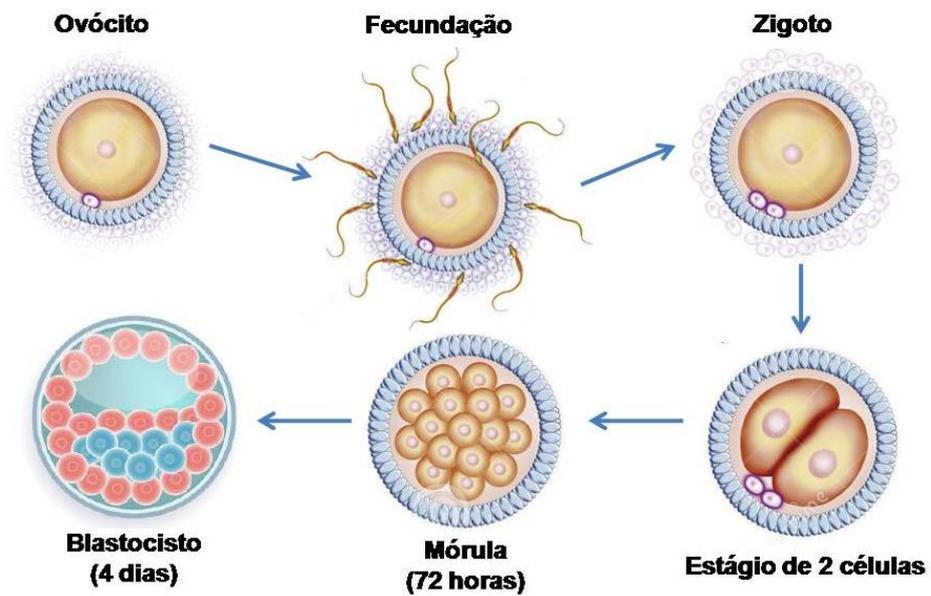
Fonte: Moore, 2013

Figura 3 - Gameta Masculino (Espermatozóide)



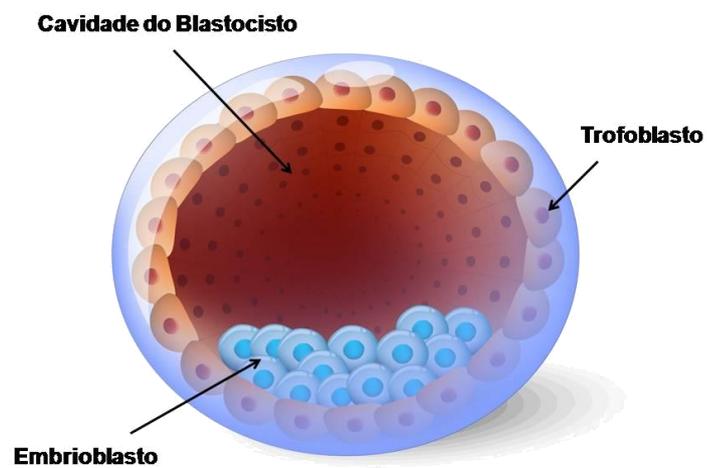
Fonte: Moore, 2013

Figura 4 - Sequência de Eventos Pós Fecundação



Fonte: Adaptação de Moore, 2013

Figura 5 - Blastócito



Fonte: Adaptação de Moore, 2013

1.2. Placenta

A Placenta é um órgão dividido em porções fetais e maternas. Juntamente com o cordão umbilical, a placenta é responsável pela transferência de substâncias entre mãe e feto (LEE et al., 2016; SALAZAR et al., 2019). Desempenham funções que ao nascimento serão realizadas pelos pulmões e rins, tais como passagem de nutrientes e oxigênio materno para o feto, balanço hídrico, excreção de dióxido de carbono e conservação do pH fetal (CHAVES et al., 2009; STANLEY; BAILLARGEON; SELK, 2019).

Durante todo o período de gravidez a placenta aumenta de tamanho em decorrência da expansão uterina. Sua área superficial pode corresponder 15 a 20% da área do útero (SHALLIE; NAICKER, 2019; VEGA; MAURO; WILLIAMS, 2019). A placenta tem características discóides com diâmetros de 15 a 25cm, possui cerca de 3cm de espessura e pesa de 500 a 600g (Figura 6). Em até 30 minutos após o nascimento a placenta é expelida do útero (T.W.SADLER, 2016; VOUSDEN; NATHAN; SHENNAN, 2018).

Uma placenta madura possui cerca de 150mL de sangue que são trocados de três a quatro vezes por minuto. O sangue materno e fetal é separado por uma membrana formada por quatro camadas, mas essa membrana se torna mais fina a partir do quarto mês e proporciona um aumento na troca sanguínea entre mãe e feto. As principais funções da placenta envolvem a troca de produtos gasosos e metabólicos, armazenamento, excreção, proteção e produção de hormônios (BUSE; MARKERT, 2019; IMMANUEL; SIMMONS, 2018).

A troca gasosa, por exemplo, ocorre por difusão simples onde o feto é capaz de extrair até 40 mL de oxigênio por minuto da circulação materna e qualquer interrupção neste fornecimento, mesmo que por um breve momento, pode ser letal para o feto. Ainda neste sentido, a troca de nutrientes e eletrólitos, tais como aminoácidos, ácidos graxos livres, vitaminas e carboidratos é exponencialmente aumentados com o decorrer da evolução da gestação (GOMES FERNANDES et al., 2018; MANTAKAS et al., 2018; NOGUES et al., 2019; SEFEROVIC et al., 2019).

A função da placenta em proteção e nutrição do feto a capacita para que a partir do quarto mês de gestação ela possa produzir progesterona para suprir

o feto caso a mãe tenha algum problema que leve a não produção deste hormônio. Além disso, a placenta produz níveis elevados do hormônio estrogênio, principalmente estriol, que é o responsável pelo crescimento uterino e desenvolvimento de glândulas mamárias (BOVE et al., 2018; VEGA; MAURO; WILLIAMS, 2019).

Muito embora seja chamada de *barreira placentária*, a placenta não é uma barreira efetiva já que inúmeras substâncias são capazes de atravessá-la sem muitas dificuldades. Um grande exemplo são os vírus como o citomegalovírus, rubéola, varíola, varicela, sarampo e poliomielite que atravessam a placenta com facilidade e uma vez instalados podem levar defeitos congênitos e morte do feto. Além dos vírus, substâncias como fármacos e metabólitos de fármacos atravessam a placenta e causam danos graves ao embrião (KARAHODA; CECKOVA; STAUD, 2019; KEITH L. MOORE, 2013; MARANDA; SUNSTRUM; DROUIN, 2019; PAPANINI et al., 2019)

A placenta primitiva é formada na segunda semana de gestação quando se inicia uma rápida proliferação dos trofoblastos (FURUKAWA; TSUJI; SUGIYAMA, 2019). O blastócito invade e se aprofunda no endométrio uterino e partir disso, ocorre o desenvolvimento do saco coriônico e das vilosidades coriônicas. A parte pertencente ao feto da placenta adere a parte materna através do citotrofoblasto que é a camada externa das células trofoblásticas contidas na superfície maternal da placenta (DESOYE, 2018; TURCO et al., 2018). No final da terceira semana as células mesequimais da vilosidade coriônica se diferenciam em capilares sanguíneos que dará origem a rede capilar arteriovenosa. Esses capilares se ligam a vasos sanguíneos do cório e estabelecem comunicação com o embrião através de uma estrutura que se especializará em cordão umbilical (SIBLEY et al., 2018; THOENE et al., 2019).

O endométrio gestacional passa a ser chamado de *decídua*, um anexo embrionário pertencente somente a classe dos mamíferos que demarca a bolsa amniótica e que se desprende após o parto (HAWKINS et al., 2018; KOREN; ORNOY, 2018). Este anexo é dividido em três partes: i) *decídua basal*, nome dado a região maternal, entre o blastócito e o endométrio; ii) *decídua capsular*, região afastada do feto e compreende o blastócito implantado coberto pelo

endométrio e separado da cavidade uterina; iii) *decídua parietal*, todos as regiões do endométrio próximas ao embrião (Figura 7) (BURTON; JAUNIAUX, 2018; D'IPPOLITO et al., 2018; MUTER et al., 2018; OKADA; TSUZUKI; MURATA, 2018).

Não obstante, a circulação placentária materna e fetal sofre intensas mudanças. O sangue materno oxigenado adentra a decídua basal pelas artérias espiraladas e preenche os vilos coriônicos (JAMES et al., 2018; PRATESI et al., 2018). Posteriormente, o sangue desoxigenado deixa esses espaços pelas veias endometriais através das contrações periódicas uterinas. Estas contrações são as responsáveis pela drenagem sanguínea dos espaços intervilosos (CARR et al., 2015). Neste sentido, a circulação fetal também possui as suas particularidades. O sangue chega ao feto através das veias coriônicas, e o sangue desoxigenado deixa o feto através das artérias umbilicais. Estas artérias estão ligadas a superfície da placenta e se dividem em muitos ramos até o vilos coriônico. Estas veias e artérias se confluem e formam a veia umbilical (REDLINE, 2015; SHIVALLI, 2015; SZUKIEWICZ et al., 2018).

Em caso de múltipla gravidez, a placenta será dependente de dois fatores: i) o número de zigotos os quais membranas e feto derivam e ii) o momento da separação do blastômero (MATSUBARA; TAKAHASHI; USUI, 2018). Nesse caso se pode destacar os casos de gravidez dizigoto ou fraterna como a mais comum. Nesta gravidez, os fetos são derivados de dois zigotos que serão implantados separadamente e por este motivo cada um desenvolverá sua própria placenta, âmnio e saco coriônico (Figura 8) (LEVIN et al., 2018; SULUKHIA et al., [s.d.]). Durante o desenvolvimento da gravidez as placentas podem se unir devido à proximidade, este fato também pode ocorrer com o saco coriônico. Os indivíduos resultantes desta união possuirão constituição genéticas distintas e podem ou não ser do mesmo sexo (BACH et al., 2017; BOEKHOFF et al., 2018; ZHOU; HUANG, 2018).

Um outro tipo de gravidez múltipla é a gestação de gêmeos monozigótico, neste caso os fetos são resultantes de um único zigoto e podem ou não dividir suas placentas, âmnio e saco coriônico (GLANC et al., 2017; SCHULTZ et al., 2017). Acredita-se que nesse caso os fetos gêmeos sejam consequência de uma divisão completa do zigoto em momentos diferentes ou da separação precoce de um blastômero em dois na mesma zona pelúcida (KO

et al., 2018). Após o desaparecimento desta zona os blastômeros são implantados separadamente dando origem a dois ou mais fetos (Figura 9). Casos de gestação tripla, quádrupla ou quádrupla são extremamente raros, e podem ser derivados de um mesmo zigoto ou mais de um (FILL Malferttheiner et al., 2018; OBERG et al., 2018).

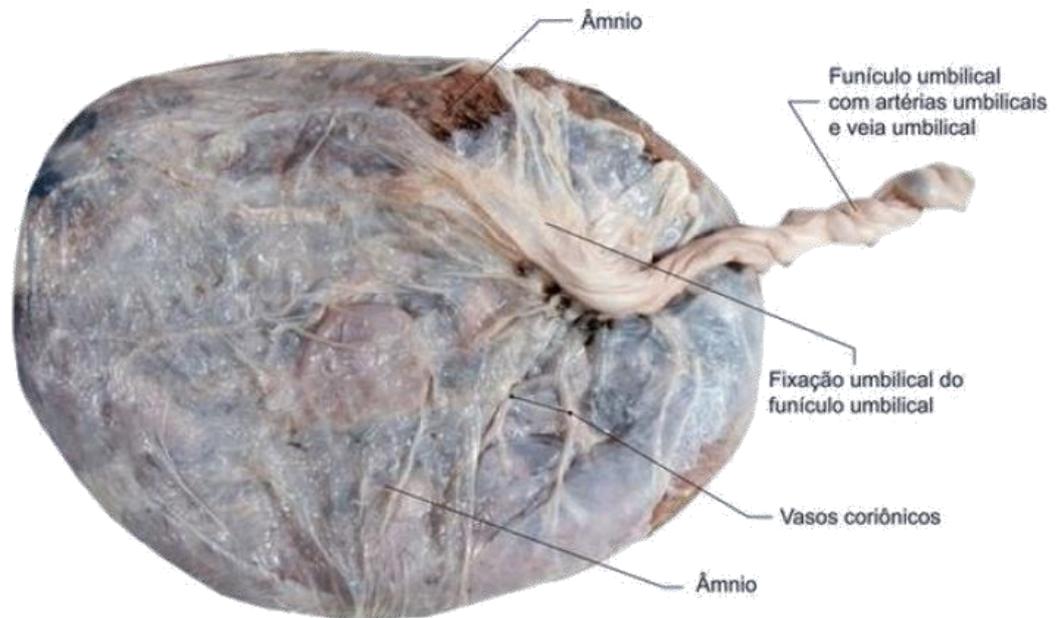
A placenta é um órgão que assim como os outros pode apresentar problemas na sua formação ou no seu funcionamento, por isso existem algumas anomalias que podem acometer a placenta durante a gravidez e no pós parto (PERRIERA; ARSLAN; MASCH, 2017; ZHOU; HUANG, 2018). Um destes problemas é o descolamento de placenta, que configura um desprendimento da placenta da parede do útero e pode ocorrer em consequência a quedas, acidentes automobilísticos, excesso de atividade física, infecções, deficiências de coagulação, falha em procedimentos cirúrgicos anteriores, entre outros (CARR et al., 2015). Não há tratamento para essa situação, se recomenda o repouso absoluto e acompanhamento médico. Geralmente aguarda-se até que a gestação atinja a 34ª semana para antecipação do parto, uma vez que esta condição coloca em risco a vida da gestante e do feto (CHEN et al., 2019; CUI et al., 2017).

Outro problema relacionado a este órgão é a insuficiência placentária. Neste caso a placenta oferece uma quantidade menor que a necessária de sangue ao feto. Geralmente está relacionada a problemas maternos como diabetes e hipertensão, mas também ocorre pelo uso de medicamentos, fumo ou ingestão de drogas (SCHJOLDAGER et al., 2017). O tratamento consiste no diagnóstico e tratamento da doença subsequente. Recomenda-se repouso e acompanhamento médico contínuo. A placenta prévia é outra situação relacionada ao posicionamento da placenta (BERLAC et al., 2017). Neste caso, a placenta se implanta na parte inferior da região uterina cobrindo parcialmente ou totalmente o colo do útero. Quando esta condição é observada no início da gestação ela não é tratada como um problema já que a placenta ainda pode movimentar-se e mudar de local. Após o avanço da gestação, se não houver a mudança de posição da placenta podem ocorrer sangramentos e parto prematuro (GIBBINS et al., 2018; HADDAD et al., 2018). Em fases mais avançadas da gravidez, se esta condição for observada, recomenda-se o parto cesariana (MATSUBARA; BABA; TAKAHASHI, 2018).

A placenta acreta é uma condição caracterizada pela implantação profunda da placenta na parede do útero ou a decídua, é uma condição obstétrica grave (HUSSEIN et al., 2019; MOHR—SASSON et al., 2018). Neste caso, após o parto, se a placenta for removida podem haver hemorragias, além disso, podem ocorrer parto prematuro, sangramentos ao final da gestação e danos ao útero que levem a histerectomia (remoção total do útero e anexos) (KER; LONG; SHEN, 2018; TAKEDA et al., 2018; ZHANG et al., 2018a). Acredita-se que esta condição está associada a ocorrência de placenta previa em algum momento da gestação ou a cesarianas anteriores (DOLIN; MEHTA-LEE, 2018). Após o parto pode haver a necessidade de procedimentos como a curetagem ou curagem uterina, técnica cirúrgica que consiste na retirada de material placentário ou endometrial da cavidade uterina. Similar a placenta acreta, ainda podem ocorrer casos de placenta increta, que consiste na implantação da placenta em camadas mais profunda da região uterina atingindo a região do miométrio (muscular) e placenta percreta, neste caso a placenta penetra tão profundamente que atinge a região do peritônio visceral (BOOKER; MOROZ, 2018; KAUFMAN; TADROS, 2018; XIONG et al., 2019). Em ambas as situações o tratamento consiste em intervenção cirúrgica devido as chances de hemorragia (NILES et al., 2019; ZHANG et al., 2018b).

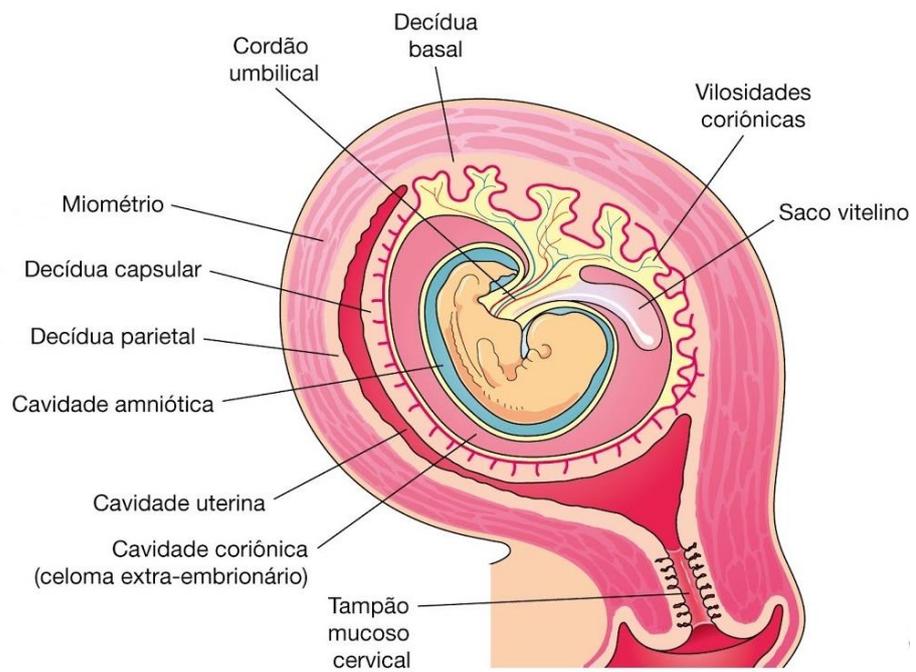
Uma outra condição que pode ocorrer com a placenta após o parto é a retenção placentária, neste caso, depois da saída do feto a placenta não é expulsa em sua totalidade permanecendo retida em partes na região uterina (ISHIBASHI et al., 2018; OZDEMIRCI et al., 2019; XIE et al., 2017). Esta situação pode ser percebida semanas após o parto, pois, causam sintomas tais como: secreções vaginais com mau odor, febres, cólicas e produção tardia de leite (CUI et al., 2017; XIONG et al., 2019). Sendo assim é possível administrar medicamentos que causem a expulsão da parte restante ou a utilização de ferramentas cirúrgicas para a retirada manual. Nestas situação, recomenda-se que a paciente faça uso de antibióticos para o controle de possíveis infecções (ALBRIGHT et al., 2019; ALOUINI et al., 2019; PENG et al., 2018).

Figura 6 - Placenta Humana



Fonte: Atlas da Embriologia Humana – Netter, 2016

Figura 7 - Decíduas durante a gestação



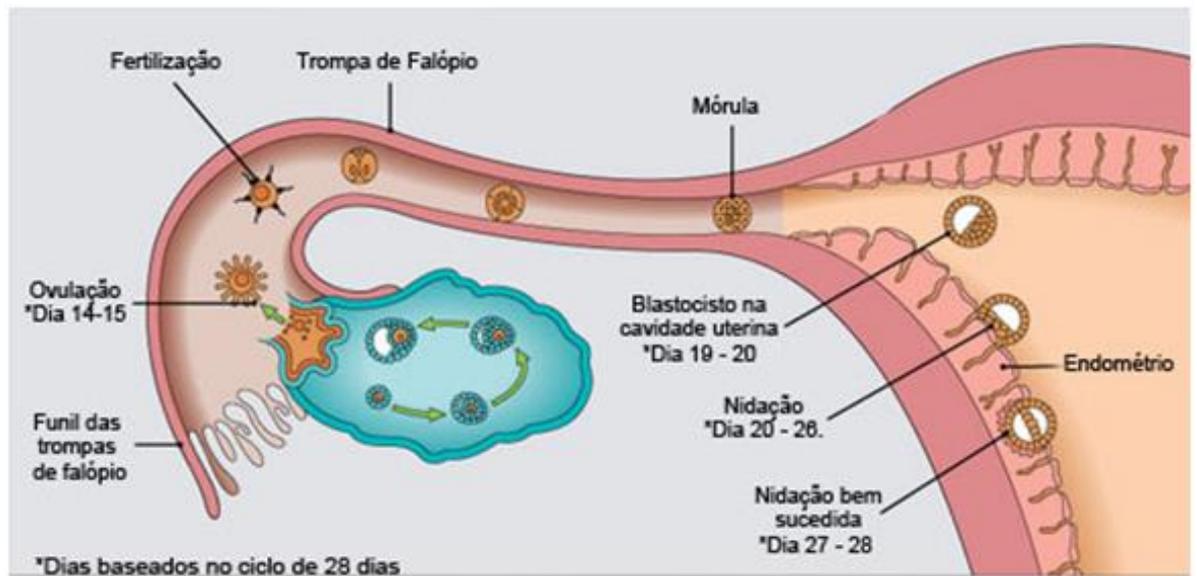
Fonte: Moore, 2013

Figura 8 - Placenta de Gravidez Múltipla



Fonte: Fleury, 2018

Figura 9 - Implantação do Feto



Fonte: Stevens & Lowe – Histologia Humana, 2014

1.3.Fisiologia da Gestação

Durante o período de gestação, toda a fisiologia feminina é alterada em prol de uma adaptação necessária para a formação do feto, desta forma, toda a farmacocinética e farmacodinâmica estão alteradas (COLLIER et al., 2019; HALPERN et al., 2019). Nesse período, há mudanças na motilidade intestinal e esvaziamento gástrico. Não obstante, há um aumento intrínseco no volume sanguíneo e taxa de filtração glomerular fica aumentada (JOGIRAJU et al., 2017; MALM; ELLFOLK, [s.d.]; PARIENTE et al., 2016).

No decorrer da gravidez há um aumento significativo no volume sanguíneo, cerca de 40%. Esse aumento é observado na expansão do número de elementos sanguíneos, como por exemplo, eritrócitos e leucócitos na circulação (CECILIO et al., 2015; HEEREN et al., 2015). Neste mesmo sentido, também é possível observar um aumento do volume plasmático em detrimento ao desempenho clínico variante de uma gestante para outra durante o período gestacional. Este aumento se faz necessário para arcar com a modificação do sistema vascular e a queda do débito cardíaco materno (ILACQUA et al., 2018; TABUCHI et al., 2018).

Ao longo da gestação há uma maior necessidade de transporte de oxigênio sanguíneo para o feto, por esse motivo, o número de glóbulos vermelhos é controlado em função diretamente da viscosidade sanguínea e resistência vascular periférica e ficam mais evidenciadas a partir da 20ª semana de gestação (ALBERTINI, 2018; IMPERIO et al., 2019; PRADILLO; SANTOS, 2018). Além das modificações sanguíneas, a gestação é marcada pela omissão do sistema imunológico. Tal fato está associado a acomodação do feto no organismo materno e pode ser observado pela baixa na produção de citocinas durante toda a gestação (GOONEWARDENE; SHEHATA; HAMAD, 2012; NISHIGUCHI et al., 2019).

As alterações relacionadas ao endotélio vascular, ao fluxo sanguíneo, fatores de coagulação e anticoagulação e fibrinogênio ocorrem devido aos mecanismos adaptativos da gestação, porém, podem gerar estados de hipercoagulação e compressão dos vasos que elevam os riscos de trombose na gravidez (COTTRELL et al., 2018; SOMSUAN et al., 2019). Todas essas

alterações acontecem concomitantemente ao aumento dos hormônios estrogênio e progesterona e o aumento da massa corporal juntamente a redução metabólica (DZIEKONSKI et al., 2018; LIAO, 2019; ODALOVIC et al., 2013).

Outras mudanças importantes ocorrem no perfil endócrino, uma vez que as adaptações fisiológicas maternas são hormônio-dependente. Entre as alterações merecem destaque: elevação do estrogênio, este hormônio é o responsável por uma maior deposição de tecido adiposo nos seios, atua sobre a produção de leite, tamanho dos ductos e relaxamento dos ligamentos pélvicos permitindo uma maior facilidade para a passagem do feto no momento do nascimento (DEKKERS et al., 2019; SACHDEVA; PATEL; PATEL, 2009).

A progesterona atua diretamente no preparo do útero para a recepção do óvulo fertilizado, além disso, atua na secreção de leite pelas mamas. Atua na inibição da contratura uterina impedindo que o óvulo fertilizado seja expulso do útero nos estágios iniciais, e nos estágios mais avançados da gravidez, evita que o feto em desenvolvimento seja expulso antes do momento do nascimento (NILES et al., 2019; ZAKEN; KOHEN; ORNOY, 2000).

A gonadotrofina coriônica humana (HCG) é a responsável pelo funcionamento do corpo lúteo nos primeiros meses de gestação, sem a presença do corpo lúteo não há secreção de estrogênio e progesterona e o desenvolvimento do feto seria limitado levando a sua eliminação em poucos dias após a fecundação (XIONG et al., 2019; YAKOUB; BHUTTA, 2011).

A somatomotropina coriônica é a responsável pela nutrição fetal e possui ações importantes sobre o metabolismo da glicose materna. Este hormônio auxilia no crescimento fetal e suas funções nesse momento são semelhantes às funções do hormônio do crescimento (DEFOORT; KIM; WINN, 2006; HENDERSON; MACKILLOP, 2011; NGALA et al., 2017).

Além de todas as modificações hormonais relativas, diretamente, aos hormônios envolvidos na gestação, todas as glândulas endócrinas sofrem alterações, a exemplo disso tem-se a tireóide que nesse momento passa a mimetizar um comportamento hipotireóidico, causando sintomas tais como: taquicardia e palpitações, todos esses eventos têm início na 6^o semana de gestação e permanecem até a 30^o semana (BAKER et al., 2017; LIU et al., 2019; WŁOCH; PAŁASZ; KAMIŃSKI, 2009).

Tabela 1 - Alterações Fisiológicas a curto prazo induzidas pela gravidez.

Sistema (Referência)	Parâmetro	Não Grávidas	Grávidas
Cardiovascular	Débito cardíaco [L/ Min]	4.0	6.0
	Frequência cardíaca [batimentos por minuto]	70	90
	Volume de braçada [mL]	65	85
	Volume Plasma [L]	2.6	3.5
Respiratório	Capacidade pulmonar total [mL]	4225	4080
	Volume residual [mL]	965	770
	Volume corrente [mL]	485	680
Fígado	Fluxo sanguíneo da veia porta [L / min]	1.25	1.92
	Fluxo sanguíneo da artéria hepática [L / min]	0.57	1.06
Renal	Taxa de filtração glomerular [mL / min]	97	144
	Creatinina sérica [mg / dl]	0.7	0.5

Fonte: Adaptação Feghali, 2015

1.4.Utilização de medicamentos durante a gestação

Os medicamentos são parte fundamental para garantia de bem estar ao paciente, seja ele físico ou mental. O uso de medicamentos está associado à manutenção da vida, uma vez que proporciona uma redução significativa na incidência de doenças, bem como são fundamentais para a resolução de riscos inerentes ao ser humano (ANVISA, 2016; FEGHALI; VENKATARAMANAN; CARITIS, 2015). Por tanto, alguns critérios devem ser utilizados para o estabelecimento de uma relação risco/benefício durante um tratamento medicamentoso evitando que os efeitos adversos sejam maiores que os efeitos terapêuticos (BOOKSTAVER et al., 2015; MOSEGUI, 2010; ÖZTÜRK et al., 2018).

A gestação é um período onde todas as alterações fisiológicas maternas progredem a favor do desenvolvimento fetal e da placenta. Estas alterações podem culminar no progresso de doenças anteriormente existentes ou resultar

em distúrbios relacionados a própria gestação (HAAS et al., 2012; ITO, 2016). Neste mesmo sentido, o comportamento farmacológico dos medicamentos é completamente alterado durante a gestação. A biodisponibilidade de medicamentos está associada a sua chegada a corrente sanguínea. O fluxo sanguíneo do local e a vasodilatação estão relacionados ao tempo desde a absorção até o efeito do medicamento. Durante a gestação são observados náuseas e vômitos nos estágios iniciais, além disso, a produção de ácidos gástricos é diminuída enquanto a secreção de muco é aumentada, somado a isso, se pode ainda destacar as disfunções de motilidade intestinal (BOGEN et al., 2013). Tais fatos têm influência direta no pH da região estomacal e eliminação de substâncias do corpo, e conseqüentemente, influenciam na biodisponibilidade dos fármacos que são administrados, principalmente por via oral (AYAD; COSTANTINE, 2015; MULLER et al., 2010).

Dessa forma, e dada as dificuldades associadas às metodologias efetivas que assegurem a eficácia e segurança do medicamento em condições de gravidez estudos pormenorizados são necessários, de modo a evitar situações como a ocorrida com a talidomida (MANSOUR; BAPLE; HALL, 2019; ZENG et al., 2019). Nas décadas seguintes ao ocorrido com a talidomida, alertas sobre o uso de medicamentos durante o período de gestação foram amplamente divulgados. Culminando com a publicação em 1979, pelo FDA das cinco categorias e risco potencial, que um medicamento pode causar, quando usados durante a gravidez (Tabela 2) (FDA/CDER/SBIA, 2015).

De modo a evitar-se a repetição de um evento semelhante, em especial com o avanço da nanomedicina e da nanotecnologia farmacêutica, estudos nesse campo devem ser priorizados (EMA; GAMO; HONDA, 2016; MUOTH et al., 2016). A aplicação de nanopartículas (NP's) na medicina oferta vantagens exclusivas no direcionamento de medicamentos para células ou tecidos específicos uma vez que, permite o decoramento superficial com diferentes ligantes e assim minimizar efeitos adversos indesejáveis (LOFTHOUSE et al., 2016; VERNER et al., 2016).

O desenvolvimento de terapias fundamentadas na utilização de NP's, em especial as terapias voltadas ao tratamento de gestantes e/ou fetos, deve incluir uma profunda compreensão sobre os mecanismos de transferências placentária, bem como as características da funcionalização de NP's e o

comportamento no organismo humano (BROOKFIELD et al., 2016). Este detalhamento se torna imprescindível para o avanço do tratamento de mulheres gestante, desta forma permitir que erros sejam evitados e que o uso de medicamentos por mulheres gestante não represente riscos ao feto (KACHUEE et al., 2019; MAO et al., 2019).

Tabela 2 - Categoria de Riscos para a Gravidez segundo a FDA.

CATEGORIA DE RISCO PARA A GRAVIDEZ			
Categoria A	Estudos controlados mostram não haver risco.	Estudos controlados e realizados adequadamente em mulheres grávidas não mostram riscos para o feto	<u>Levotiroxina</u> , <u>Ácido Fólico</u> , <u>Liotironina</u>
Categoria B	Sem evidência de risco humano	Estudos realizados em animais mostram riscos que não podem ser comprovados. Na espécie humana ou não há estudos adequados ou os testes em animais foram negativos.	<u>Metformina</u> , <u>Hidroclotiazida</u> , <u>Ciclibenzaprina</u> , <u>Amoxicilina</u> , <u>Pantoprazol</u>
Categoria C	O risco não pode ser afastado	Não há estudos em humanos. Estudos em animais podem ser positivos ou ainda não terem sido realizados. Os benefícios em potencial justificam o uso.	<u>Tramadol</u> , <u>Gabapentina</u> , <u>Amlodipina</u> , <u>Trazodona</u>
Categoria D	Evidência positiva de risco	Dados obtidos pós comercialização ou preliminarmente demonstram riscos ao feto. Os benefícios em potencial podem ser maiores que os riscos em potencial.	<u>Lisinopril</u> , <u>Alprazolam</u> , <u>Losartana</u> , <u>Clonazepam</u> , <u>Lorazepam</u>
Categoria X	<u>Contra-indicada na gravidez</u>	Estudos em humanos e animais e dados pós comercialização demonstram riscos ao feto e não justificam sua utilização.	<u>Atorvastatina</u> , <u>Simvastatina</u> , <u>Varfarina</u> , <u>Metotrexato</u> , <u>Finasterida</u>

Fonte: Adaptação de FDA, 2015

1.5. Passagem Transplacentária e Risco ao Feto

Os medicamentos candidatos a introdução no mercado passam por uma avaliação de *toxicidade de desenvolvimento reprodutiva* realizada pelo Food and Drug Administration (FDA) (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018b). Esta avaliação preocupa-se com a análise de segurança de estudos realizados em animais e busca identificar riscos potenciais

destes medicamentos a fertilidade masculina e feminina, saúde maternal e fetal durante a gestação e saúde neonatal pós o uso destes medicamentos durante a amamentação (GRANDIN et al., 2019; LEWIS; CHILDS; CALDER, 2018; TARUI et al., 2018). Os dados oriundos destes estudos são fundamentais para a avaliação da segurança humana, uma vez que esta toxicidade não pode ser avaliada em humanos. Os dados em humanos estarão disponíveis apenas após registro e relatórios de caso (CAVALLI; BARALDI; CUNHA, 2006; CHAVES et al., 2009; U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018a).

Durante a gestação pode ser necessário o uso de diversos medicamentos (MARIETTE et al., 2018; ZHENG et al., 2019). Nas últimas décadas diversos estudos abordaram a utilização de classes medicamentos e seus efeitos sobre a gestação e o feto. Dentre essas classes destacam-se os anticonvulsivantes e os anestésicos (CARVALHO et al., 2018; RIBEIRO et al., 2018; SOUZA et al., 2019).

Foi comprovado que a placenta possui transportadores com funções de eliminação da circulação fetal de substâncias consideradas tóxicas, isso inclui substâncias endógenas e exógenas (BARDON et al., 2017; SAKAMOTO et al., 2018; UGELE et al., 2003; YOUNG; ALLEN; AUDUS, 2003). Entretanto, estes transportadores interagem apenas com alguns compostos e a forma como isso ocorre ainda não pode ser totalmente esclarecida devida a dificuldade de realização de testes durante o período de gestação. Segundo Langer e Kraemer, um exemplo de fármaco que é retirado da circulação fetal e retoma apenas a circulação materna é o glibenclamida, um hipoglicemiante oral, utilizado em pacientes com diabetes gestacional (HU et al., 2017; JEONG et al., 2018; KRAEMER et al., 2006; LANGER et al., 2000).

Neste mesmo sentido, doenças neurológicas como a epilepsia, afetam pessoas em todo o mundo e a utilização de medicamentos carece de um consenso uma vez que, ainda não foi demonstrado a segurança de nenhum anticonvulsivante para uso durante a gravidez (ISHIGURO et al., 2018; KOREN; BERKOVITCH; ORNOY, 2018). Fricker-Galindo e Singh demonstram que as drogas antiepilépticas, tais como: carbamazepina, oxcarbazepina, valproato, hidantoína, fenitoína e primidona, são capazes de

atravessar a placenta e atingirem concentrações fetais iguais ou muito maiores que a materna (FRICKE-GALINDO et al., 2018; SINGH; GUPTA, 2018).

Uma das classes medicamentosas de uso recorrente durante a gestação é a classe dos anestésicos. Dentre os fármacos dessa classe, o mais utilizado para a condução do trabalho de parto é a lidocaína, que é transportado através da placenta por difusão simples, ou seja, ele é dependente do gradiente de concentrações do ativo (COMPTOUR et al., 2016; GRØNNESTAD et al., 2017; WANG et al., 2016). As concentrações sanguíneas e a distribuição fetal não podem ser determinadas. Também pertencente a esta classe, a bupivacaína que é a anestesia de escolha para aplicação epidural. Este medicamento possui alta toxicidade ao sistema nervoso central desencadeando crises convulsivas e a sua margem de segurança é menor comparada a outros anestésicos (ADIBI; ZHAO, 2017; LUFFER-ATLAS et al., 2018; QIAO et al., 2018).

A bupivacaína atravessa a placenta por difusão passiva, ou seja, é dependente das concentrações de proteínas plasmáticas maternas e fetais. A capacidade da placenta de acumular bupivacaína está diretamente relacionada ao pH fetal (DUARTE et al., 2011; MORISHIMA et al., 2000). Este medicamento pode causar bradicardia e hipotonia generalizada ao feto. Além disso, frequentemente, a bupivacaína é associada a opióides, tais como a fentanila e a sulfentanila para anestesia e analgesia obstétrica (DE BARROS DUARTE et al., 2009; MACCHIAVERNI et al., 2015; PONTICELLI; MORONI, 2018). Mesmo usadas a nível espinhal durante o trabalho de parto, a fentanila pode atingir níveis sistêmicos e causar efeitos duradouros que levem a bradicardia, diminuição do tônus e depressão respiratória ao feto. Este fato está ligado, geralmente, a doses repetitivas de analgesia durante o trabalho de parto (HEIKKINEN et al., 2017; MOISÉS et al., 2005; PAN et al., 2017).

A passagem de substâncias pela barreira transplacentária em diferentes fases da gestação expõe a região intra-uterina e facilita a manifestação de um desenvolvimento anormal do feto. Nas duas primeiras semanas de gestação as células embrionárias são indiferenciadas e totipotentes, se houver lesão química as células podem se regenerar e evoluírem normalmente (AENGENHEISTER et al., 2018; CARVALHO et al., 2018; O'CONNOR, 2018). Entretanto, em casos onde a lesão química é extensa, ou seja, atinge um grande número de células, pode ocorrer a morte precoce do embrião. A partir

da terceira semana tem início um período de intensa proliferação e diferenciação celular onde serão formados todos os órgãos e sistemas embrionários (CHAI; CHENG; JIANG, 2019; FRACCHIOLLA et al., 2017). Neste período qualquer alteração no desenvolvimento celular resulta em malformações, por isso, considera-se os três primeiros meses de gestação como fundamentais e determinantes para o desenvolvimento correto do feto (CASTANHA et al., 2016; DZANIBE et al., 2016; NITSCHKE et al., 2016; SCHUURMAN et al., 2019; VERSMISSEN et al., 2016).

Durante o período organogênese, ou seja, momento onde os folhetos germinativos diferenciam-se e formam os órgãos e sistemas internos, a exposição intra-uterina a agentes químicos podem interferir no crescimento fetal e no desenvolvimento dos sistemas em formação, principalmente o sistema nervoso central (PERAZZOLO et al., 2017; SCHALKWIJK et al., 2018; TANAKA et al., 2017). As exposições nesse período podem levar a uma deficiência intelectual (retardo mental) e alterações funcionais dos órgãos atingidos (FUJITANI et al., 2015; ISHIHARA-HATTORI; BARROW, 2016; ZHANG et al., 2016).

1.6.Nanotecnologia

A nanotecnologia é um ramo da ciência que se dedica ao estudo de estruturas em escalas atômicas e moleculares. Ela pode ser aplicada as mais variadas áreas de estudo, contudo, nas últimas décadas o setor que mais vem se destacando é o desenvolvimento de nanopartículas aplicadas a terapia e diagnóstico de doenças (AMIRI; SALAVATI-NIASARI; AKBARI, 2019; CHENG et al., 2019; SIVASUBRAMANIAN; CHUANG; LO, 2019; TERÁN-NAVARRO et al., 2019). O mercado em nanomedicina avaliado em 350.8 bilhões de dólares, vem revolucionando a medicina e permitindo a utilização de partículas nanométricas para fins diagnósticos e terapêuticos (GRAND VIEW RESEARCH, [s.d.]). Além disso, proporciona um tratamento menos invasivo e de alta eficácia (ARAMI et al., 2019; BHARDWAJ; KAUSHIK, 2017; CAI et al., 2019; HUSSAIN et al., 2019; SALEH et al., 2019).

O sucesso no uso de nanotecnologia na medicina se deve as características únicas que uma nanopartícula pode apresentar, dentre elas podemos destacar a biodegradabilidade, biocompatibilidade e escalabilidade industrial, efeito de permeabilidade e retenção (efeito EPR) e baixa toxicidade (BOHREY; CHOURASIYA; PANDEY, 2016; BRAND et al., 2017; LADJU et al., 2018; MAURER-SPUREJ; CHIPPERFIELD, 2016; MOUSAVI et al., 2019; PRASAD et al., 2018; RAU; DE SANTIS; CIOFANI, 2017; RAVANSHAD et al., 2018).

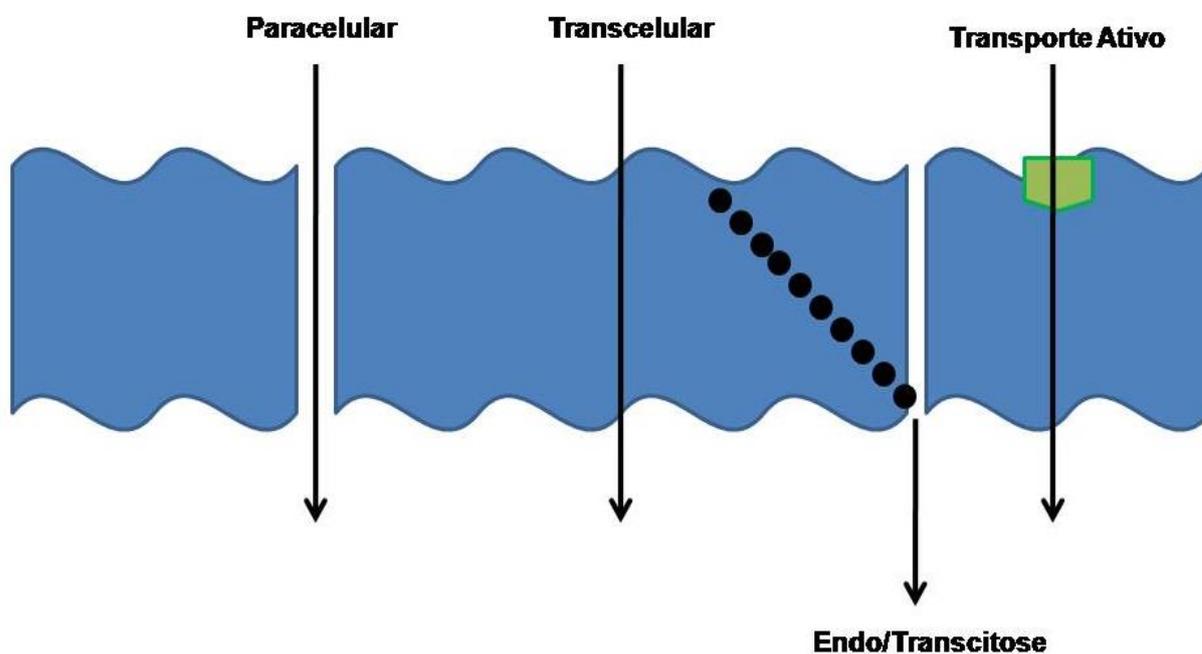
Não obstante a nanotecnologia permite o aperfeiçoamento de medicamentos já em uso, em especial aumentando seu direcionamento a um alvo específico, assim como melhorando seu perfil de liberação aumentado e possibilitando a identificação de alvos intracelulares. Alguns nanomedicamentos apresentam ensaios promissores, em especial na oncologia, estando muitos em fase de testes clínicos. A característica que mais chama atenção nesses nanomedicamentos é a diminuição dos efeitos adversos (CHEN et al., 2017; GROTZ et al., 2018; KORANI et al., 2018; PATRA et al., 2018; RAMANATHAN et al., 2018; SAIDI; FORTUIN; DOUGLAS, 2018; SELVAM et al., 2018; SHANMUGANATHAN et al., 2019; UPPAL et al., 2018; WEN et al., 2018; YANG et al., 2017).

Os nanomedicamentos podem apresentar algumas características intrínsecas, dentre elas: i) tamanho, ii) potencial zeta; iii) agentes decoradores de superfície, iv) área superficial, v) biodistribuição, vi) biocompatibilidade, vii) toxicidade que podem influenciar no seu perfil farmacoterapêutico (CHATURVEDI et al., 2018; IQBAL et al., 2018; NADIMI et al., 2018).

Todavia, a utilização de nanomedicamentos, representa uma área com diversas aplicações, principalmente por permitir o encapsulamento de moléculas diferenciadas, como peptídeos, proteínas, anticorpos monoclonais e os mais variados fármacos (DIANAT-MOGHADAM et al., 2018; MARELLA; TOLLAMADUGU, 2018; REMIÃO et al., 2018; UTKIN, 2018). Além disso, permite a aplicação do uso de biomoléculas nas mais variadas áreas, sejam elas a terapia gênica, biotecnologia, biossensores e biomarcadores, imagiologia e transporte de fármacos (GU et al., 2018; HUSSAIN et al., 2019; KALANGI et al., 2018; KHEIRKHAH et al., 2018; MISHRA et al., 2018; SARWAL et al., 2019; SCHORZMAN et al., 2018; SINGH et al., 2018).

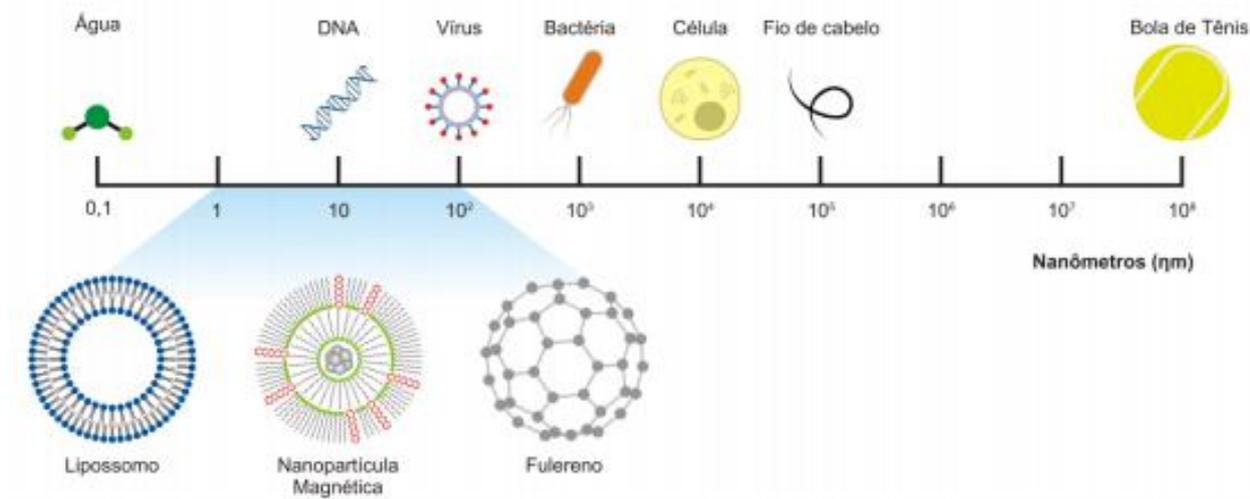
Os nanomedicamentos possuem duas formas distintas de atingirem seus alvos, o primeiro é o mecanismo transcelular, neste processo as nanopartículas são captadas pelas células (transcitose). Inicialmente ocorre endocitose na membrana celular e as nanopartículas são transportadas por entre as células (Figura 10) (BATTISTELLI; SALUCCI; FALCIERI, 2018). O segundo mecanismo é chamado de paracelular, este é dependente de fatores tais como: propriedades físico-químicas das partículas, presença de ligantes e a fisiologia do trato gastrointestinal. Neste mecanismo, as partículas passam pelos espaços intracelulares e por este motivo o transporte pode ser limitado devido ao pouco espaço entre as junções epiteliais (Figura8) (MANAGULI et al., 2018; SHARMA et al., 2018; XU et al., 2018).

Figura 10 - Transporte das Nanopartículas através das células Epiteliais



Fonte: Adaptação de Fangueiro, 2012

Figura 11 - Escala Nanométricas com exemplos de Nanopartículas



Fonte: Adaptação de Iocca, 2013

1.7. Sílica Mesoporosa Magnética

Com o avanço das pesquisas na área nanotecnologia aplicadas a medicina e a farmácia, novas matérias têm ganhado espaço como promessa de nanopartículas cada vez mais específicas. As nanopartículas inorgânicas vêm se destacando nas últimas décadas como promissores sistemas de entrega (DDS) (ANSARI et al., 2018; FU et al., 2018; SAKHTIANCHI et al., 2019). Dentre elas, podemos destacar a sílica mesoporosa (MSN's), capaz de atingir tamanhos desde 2 a 50nm, as MSN's apresentam grande volume de poros, poros uniformes, extensa área superficial e fácil funcionalização. Devido a sua capacidade em comportar diferentes substâncias e as suas propriedades estruturais, a terapia com esse tipo de partícula é a chave para a uma inovação no que se diz respeito a liberação controlada de medicamentos (LI et al., 2018; WAN et al., 2018; XUN et al., 2019).

O diâmetro dos poros é um importante fator para selecionar materiais biologicamente ativos para serem incorporados no interior da cavidade mesoporosa (DAS et al., 2018; TANG et al., 2018). Este fator também atua

como parâmetro para o controle de liberação da substância. A superfície desta nanopartícula determina a capacidade de cargas que podem ser incorporadas no interior da molécula, ou seja, quanto maior a superfície, maior o número de moléculas que podem ser incorporadas. Estas nanopartículas são bem toleradas pelo organismo humano sendo comprovado por estudos de hemocompatibilidade (WANG et al., 2015, 2018; XUAN et al., 2018).

Todas as características das MSN's as tornam nanocarreadores únicos e ideais para proteger e transportar substâncias até o local de destino. Além disso, é possível adicionar agentes de direcionamento na superfície externa e encaminhar as MSN's para tecidos não saudáveis com a intenção de aumentar a especificidade e diminuir os efeitos adversos indesejáveis (CHANG et al., 2018; PORTILHO et al., 2018a).

Ainda sobre novos biomateriais promissores para uso na medicina podemos destacar a magnetita. A magnetita é um material magnético ao qual se tem registros de uso há mais de 3500 anos. As nanopartículas magnéticas representam uma opção atrativa para uso em biotecnologia devido as suas características, tais como: capacidades adaptativas do tamanho superficial, podem ter de 2 a 500nm, e por fim, por ser um material magnético, se comportam segundo a lei de Coulomb e desta forma obedecem a um campo magnético (LI et al., 2017; PISANI et al., 2017; TERUEL et al., 2018). Entretanto, alguns critérios devem ser observados para otimização do uso desta nanopartícula, dentre eles destacam-se: i) tamanho de partículas, quanto menor o tamanho mais fácil será a difusão tissular, além disso, longo tempo de sedimentação e grande área de superfície efetiva; ii) características superficiais que facilitem o encapsulamento protegendo da degradação e conferindo biocompatibilidade; iii) boa resposta magnética para evitar acúmulo no sangue (BAZMANDEGAN-SHAMILI et al., 2017; YAO et al., 2017).

Diversos estudos têm demonstrado que a magnetita é uma substância promissora, pois, permite adaptações superficiais que a protege da degradação, previne uma agregação, promove a separação celular, aumenta o contrastes de ressonâncias magnéticas, imobiliza proteínas através do revestimento das nanopartículas com sílica, entre outros (LU, 2017; YU; ZHU, 2016). Por estes motivos, compostos de sílica mesoporosa e nanopartículas magnéticas veem sendo conjugadas para uso como biomateriais devido aos seus potenciais

individuais que quando combinados produzem um material biocompatível, biodegradável, atóxico e de baixo custo. Além disso, durante a síntese é possível empregar o uso de copolímeros que possibilitam o controle dos poros e conseqüentemente uma maior estabilidade desta nanopartícula (AN et al., 2016; SHAO et al., 2017; YAO et al., 2017).

1.8.Nanorradiofármacos

A utilização de nanotecnologia na medicina nuclear vem revolucionando as técnicas de imagens para o diagnóstico de tumores. A combinação de radioisótopos a nanofármacos (nanorradiofármaco) vem se mostrando promissora principalmente para a redução de efeitos adversos e diminuição da dose de medicamentos considerados de alta toxicidade para os pacientes (LIGIERO et al., 2016; PINTO et al., 2018b; PORTILHO et al., 2018b).

Além dos benefícios mencionados, a aplicação da nanotecnologia na produção desta classe de medicamento, pode-se destacar a possibilidade de proteção do nanorradiofármaco as condições adversas do ambiente tumoral (oxidação, pH entre outros) e ação enzimática, conservando a integridade deste fármaco, aumenta a biodisponibilidade e impedindo a sua degradação (BELTRAN-HUARAC et al., 2018; KHALID et al., 2017; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ; ESTELRICH; BUSQUETS, 2016).

A demais, proporciona proteção do nanorradiofármaco contra o reconhecimento responsáveis pela resistência medicamentosa, melhora propriedades farmacológicas, toxicológicas e terapêuticas durante o diagnóstico de câncer (KHODABANDEHLOO; ZAHEDNASAB; ASHRAFI HAFEZ, 2016; LUJAN; SAYES, 2017; MILLER et al., 2017; YAKOH et al., 2015).

As mais recentes pesquisas no campo da nanomedicina se dedicam a investigações de novas soluções para o campo do diagnóstico e tratamento efetivo. Neste sentido, o desenvolvimento de nano e micro carreadores são de grande utilidade para o controle e distribuição de radiofármacos nos tecidos alvo (MANSOUR et al., 2019; MIN et al., 2016). Por este motivo, o desenvolvimento de sistemas que permitam a liberação controlada possibilita

uma maior eficiência e diminuição de efeitos colaterais (FRANCHI et al., 2016; KARIMPOUR et al., 2019; LIU; LIU; WU, 2019). Diversos campos da medicina veem apostando na integração de sistemas nanoestruturados e fármacos como o objetivo de ultrapassar as limitações normalmente encontradas em tratamentos convencionais (SHIOZAKI et al., 2016; ZHANG et al., 2019).

O teranóstico é a combinação de terapia e diagnóstico que utiliza vias biológicas do corpo humano para obtenção de imagens diagnósticas e administração de doses terapêuticas. O principal objetivo deste procedimento é a individualização do tratamento e a criação de perfis genéticos específicos para cada paciente melhorando a eficácia e segurança dos tratamentos utilizados (TAN et al., 2019; WANG et al., 2019; YURYEV et al., 2016).

Para isso, o uso da nanotecnologia é indispensável, pois, ela proporciona a aplicação de nanofármacos e nanorradiofármacos de forma integrada proporcionando o monitoramento em tempo real do direcionamento e transporte destes fármacos e a resposta terapêutica associada (HURST; DELONG, 2016; NAGESETTI; MCGORON, 2016). Um exemplo da aplicabilidade desta tecnologia é a determinação de um alvo molecular específico, e posteriormente administra-se um agente terapêutico nanoestruturado que será direcionado contra este alvo devido as características superficiais modificadas exclusivamente para esta finalidade (LI et al., 2019; TABATABAEI et al., 2019; ZHENG et al., 2019).

Além disso, o diminuto tamanho das nanopartículas permite que elas sejam administradas pelas mais variadas vias e desta maneira é possível modernizar a abordagem de tentativa e erro usados para adequação dos tratamentos (MAYNE; WHITING; ADAMATZKY, 2018). Desta forma, é possível observar que o uso de nanoestruturas demonstra melhorar as propriedades terapêuticas, farmacológicas e toxicológicas dos fármacos durante o tratamento e diagnóstico (CHEN et al., 2017; KEY et al., 2016; SALVI et al., 2018; SHIOZAKI et al., 2016; SUN et al., 2016; TOMA et al., 2015).

1.9. Radiofármacos

Em 1903 o prêmio Nobel em química foi concedido a Marie Curie, Pierre Curie e Henry Becquerel por suas descobertas na área da radioatividade. O fenômeno da radioatividade do urânio foi descrito em 1886 por Henry Becquerel, mais tarde, em 1898 Marie e Pierre Curie descobriram os elementos rádio e polônio. Ainda nesse período, em 1895 Wilhelm Conrad Roentgen apresentou ao público sua recente descoberta, os raios-X (NITIPIR et al., 2017).

Wilhelm Roentgen dedicou parte de sua vida aos estudos com raio-x e foi capaz de demonstrar que o posicionamento de membros do corpo humano entre o dispositivo e papel fotográfico gerava uma foto que detalhavam a estrutura óssea interna da região. Logo após a descoberta dos raios-X pouco se sabia sobre as suas propriedades, mas em pouco tempo foi possível observar que exposições repetitivas e sem proteção levavam a vermelhidões na pele e ulcerações (JALILIAN et al., 2016).

Tais descobertas foram fundamentais para a medicina diagnóstica já que a partir deste momento era possível avaliar os órgãos internos, bem como visualizar as partes ósseas. A técnica foi otimizada e desta forma, com auxílio de contrastes, era possível avaliar vasos sanguíneos, vesículas biliares e sistema digestivo e desta forma chegar a um diagnóstico e proporcionar um tratamento mais adequado para os pacientes (MARCUS, 2018; PINTO et al., 2018b).

A primeira utilização de radionuclídeos em humano data de 1927 com a administração de radônio para a avaliação da circulação sanguínea. Posteriormente, em 1938 foram realizados os primeiros estudos sobre a funcionalidade da tireóide com Iodo-131. Estes eventos marcam o início do uso sistêmico de radionuclídeos na medicina. Em 1937 Emilio Segré e Ernest Lawrence realizaram experimentos com molibdênio em um ciclotron e observaram a emissão de formas, até então desconhecidas, de radioatividade. A partir disso, foi desenvolvido o primeiro elemento químico artificial, chamado de Tecnécio (KANNAN et al., 2014).

O Tecnécio-99m é um radionuclídeo filho do molibdênio-99, que decai por transição isomérica com emissão de raios gamas de 140 keV, possui uma meia-vida de 6 horas e é de extrema importância para a medicina nuclear, pois, permite reduzir a dose de radiação aplicada nos pacientes em exames de

imagem. A produção de radionuclídeo com parâmetros adequados de qualidade tornou-se possível após a compra pela Abbott Laboratories em 1948 dos direitos de produção. A partir de então, radiofármacos devidamente preparados para uso médico passaram a ser comercializados (GREEN, 2012; KHALID et al., 2017).

Em 1958 Powell Richards e Walter Tucker desenvolveram o gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ e sugeriram o uso de Tecnécio-99m como marcador radioativo para diversas aplicações médicas. O sistema consiste em uma coluna cromatográfica envolta com alumina (Al_2O_3) adsorvida de molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$). O decaimento de Molibdênio-99 em Tecnécio-99m forma o pertecnetato ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4$). O pertecnetato é extraído da coluna a partir de uma solução salina (NaCl 0,9%) injetada no gerador (HOU et al., 2016; KHALIL et al., 2011).

Sendo assim, pode-se definir radiofármacos como medicamentos compostos por um elemento radioativo (radioisótopo) e uma substância química similar a um órgão ou tecido onde será processada (carreador). Estes medicamentos são utilizados na medicina nuclear para exames diagnósticos de imagem e radioterapia. Possuem uma biodistribuição no organismo que possuem afinidade pelo órgão ou tecido que se pretende avaliar. As imagens possuem qualidade diretamente relacionada ao radiofármaco de escolha (BOSCHI et al., 2017).

2. OBJETIVO

2.1.Objetivo Geral

Neste estudo foram avaliados aspectos de forma sistemática e analítica, a fim de subsidiar a segurança e toxicologia relacionadas às nanopartículas. Desta forma, foram feitas avaliações sobre o comportamento genotóxico e transplacentária de nanopartículas de sílica mesoporosa com núcleo magnético.

2.2.Objetivos Específicos

- i) Produção de nanopartículas de sílica mesoporosa com núcleo magnético;
- ii) Caracterização das nanopartículas para determinação em formas esféricas e núcleo magnético intacto;
- iii) Marcação da nanopartícula de sílica mesoporosa com núcleo magnético com Tecnécio-99m;
- iv) Ensaio de avaliação transplacentária *in vivo* nos estágios embrionários e fetal.

3. METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho encontra-se descrita no artigo intitulado *Cytotoxicity, genotoxicity, transplacental transfer and tissue disposition in pregnant rats mediated by nanoparticles: the case of magnetic core mesoporous silica nanoparticles* publicado na revista *Artificial Cells, Nanomedicine, And Biotechnology*, no ano de 2018 sobre própria autoria.



Cytotoxicity, genotoxicity, transplacental transfer and tissue disposition in pregnant rats mediated by nanoparticles: the case of magnetic core mesoporous silica nanoparticles

Suyene Rocha Pinto^a, Edward Helal-Neto^a, Francisco Paumgarten^b, Israel Felzenswalb^c, Carlos Fernando Araujo-Lima^c, Ramón Martínez-Mañez^{d,e,f}  and Ralph Santos-Oliveira^{a,g} 

^aNuclear Engineering Institute, Brazilian Nuclear Energy Commission, Rio de Janeiro, Brazil; ^bNational School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil; ^cDepartament of Biophysics and Biometrics, Environmental Mutagenesis Laboratory, Rio de Janeiro State University, Institute of Biology Roberto de Alcântara Gomes, Rio de Janeiro, Brazil; ^dInstituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), Universitat Politècnica de València, Universitat de València, Valencia, Spain; ^eDepartamento de Química, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Spain; ^fCIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Valencia, Spain; ^gLaboratory of Nanoradiopharmaceuticals and Radiopharmacy, Zona Oeste State University, Rio de Janeiro, Brazil

ABSTRACT

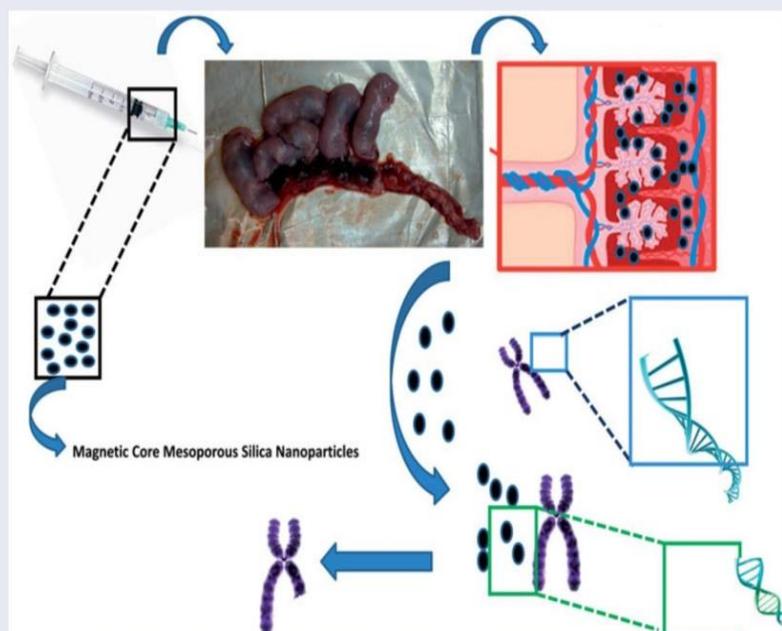
Whether in the cosmetic or as therapeutic, the use of nanoparticles has been increasing and taking on global proportion. However, there are few studies about the physical potential of long-term use or use in special conditions such as chronic, AIDS, pregnant women and other special health circumstances. In this context, the study of the mutagenicity and the transplacental passage represents an important and reliable model for the primary evaluation of potential health risks, especially maternal and child health. In this study we performed mutagenicity, cytotoxic and transplacental evaluation of magnetic core mesoporous silica nanoparticles, radiolabeled with ^{99m}Tc for determination of toxicogenic and embryonic/fetuses potential risk in animal model. Magnetic core mesoporous silica nanoparticles were produced and characterized by obtaining nanoparticles with a size of (58.9 ± 8.1 nm) in spherical shape and with intact magnetic core. The ^{99m}Tc radiolabeling process demonstrated high efficacy and stability in 98% yield over a period of 8 hours of stability. Mutagenicity assays were performed using Salmonella enteric serovar Typhimurium standard strains TA98, TA100 and TA102. Cytotoxicity assays were performed using WST-1. The transplacental evaluation assays were performed using the *in vivo* model with rats in two periods: embryonic and fetal stage. The results of both analyzes corroborate that the nanoparticles can i) generate DNA damage; ii) generate cytotoxic potential and iii) cross the transplantation barrier in both stages and bioaccumulates in both embryos and fetuses. The results suggest that complementary evaluations should be conducted in order to attest safety, efficacy and quality of nanoparticles before unrestricted approval of their use.

ARTICLE HISTORY

Received 15 January 2018
Revised 28 March 2018
Accepted 29 March 2018

KEYWORDS

Nanoparticles; magnetic mesoporous silica; smart device; cancer; imaging



Introduction

Several studies have suggested that the same properties that make nanomaterials physicochemical attractive may also be responsible for harmful effects on organisms [1–3]. For example, agglomeration/dispersion capacity may facilitate the translocation of nanoparticles (NPs) into environmental compartments and cause cumulative damage to the food chain. Because of their small size, NPs may have greater permeability through the skin, mucous membranes and cell membranes, as well as having their toxic effect increased, since the large number of atoms in the surface area of the particle promotes superior reactivity [4,5]. Although inhalation is the most likely exposure route for NPs during manipulation and synthesis processes, nanoparticles can also be incorporated into the body through the skin or through ingestion [4,6–11]. Dermal exposure can occur, for example, while using epidermal creams containing NPs, such as sunscreens. In healthy skin, the epidermis provides excellent protection against the entry of these nanoparticles into the dermis; however, damaged skin allows nanoparticles to access the dermis as well as the region's lymph nodes [4,12]. However, the ingestion of NPs can occur mainly by the consumption of contaminated food and water [2]. It is important to emphasize that the projection of NPs for therapeutic purposes (such as drug carriers, for example) may result in a new route of exposure, intravenous injection, in which NPs are designed to target specific tissues, escape phagocytic processes and cross the blood–brain barrier [13,14].

The NPs may reach the cells and be internalized by two main processes: plasma membrane diffusion (directly or through membrane channels) [15] or by endocytosis, an energy-dependent mechanism involving different routes [16–19]. If NPs are of adequate size and shape, they can then fit into membrane receptors facilitating receptor-mediated endocytosis [17,19]. However, the most likely mechanisms are the entry of these particles through specialized plasma membrane structures called caveolae (endothelium-dependent endocytosis) and/or clathrins (clathrin-dependent endocytosis). These structures form vesicular invaginations of up to 80 or 120 nm, respectively, allowing the internalization of molecules present in the extracellular environment [19–21]. There are reports that describe recruitment of internalized NPs to lysosomes for subsequent cell excretion. However, usually, NPs increase the permeability of the lysosomal membrane escaping into the cytoplasm and penetrating to other organelles, such as the mitochondria and the nucleus [22,23]. Once inside the cell, NPs can generate reactive oxygen species (ROS), causing the so-called oxidative stress, an imbalance between the generation of harmful ROS and the capacity of the cells to neutralize these oxidants that causes severe cellular dysfunction [24,25]. This tendency to generate oxidant compounds may be related to three main factors: (i) the physicochemical properties of the nanoparticle, such as the presence of metal residues that have the potential to convert the metabolic products of cellular oxygen (such as H_2O_2) into highly reactive hydroxyl radicals, via Fenton-type reactions, (ii) the ability of NPs to stimulate target cells to produce oxidant compounds, either by impairment of mitochondrial

electron transport or by induction of enzymatic disorders, and (iii) the ability of NPs to trigger a signaling cascade that culminates in inflammatory responses, which leads to secondary formation of oxidant compounds resulting in a vicious cycle of organ-damaging events [4,19,25].

Besides damage to membranes and organelles, ROS can also induce lesions in the genetic material by breaking single- or double-stranded DNA, or adducting and crosslinking reactions. These damages can trigger various cellular responses, including cell cycle blockage, apoptosis or even activate different repair mechanisms. If unrepaired, such genetic damages, generated by the indirect interaction of NPs with DNA have the potential to initiate and promote carcinogenesis [19,26–29]. NPs that are small enough, can be transported or diffused through the nuclear pore complex (<8 nm), accumulating in the nucleus and interacting with the DNA during mitosis. Interferences during the mitotic process, especially with the microtubules, can generate aneuploid cells, characterized by the gain or loss of an extra chromosome and corresponding to a serious mutation. Another aspect is the ability of NPs to cross the placental barrier and thus accumulate in the early embryonic stages. It is noteworthy that at these primordial stage of fetal development (<3 months of gestation), cells are in profuse mitotic phase, as an enormous degree of complex cellular differentiation. Thus, interferences caused by NPs may correspond to uncontrollable fetal mutations and, consequently, be a risk factor for gestation, which could limit the use of nanoparticles in gestational periods [19,26–29]. Given the complexity of the topic and the limited information on genotoxicity mechanisms as well as fetal interference by the transplacental passage of nanoparticles, in this study, we evaluated both aspects in a systematic and analytical way, in order to subsidize toxicological and safety aspects related to the use of nanoparticles. Thus, we evaluated the genotoxic and transplacental behavior of nanoparticles of mesoporous silica with magnetic core.

Material and methods

Preparation of magnetic core mesoporous silica nanoparticles

Reagents and materials

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

Synthesis of oleate-coated iron oxide nanoparticles

Iron oxide nanoparticles (Fe_3O_4 magnetite nanocrystals) were obtained by a modified coprecipitation method [30]. 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.

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, Melville, NY, USA) 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 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.

Characterization of magnetic core MSNs

Powder X-ray diffraction

The synthesised materials were characterised by powder X-ray diffraction (PXRD), transmission electron microscopy (TEM) and N₂ adsorption–desorption analysis. PXRD measurements were obtained using a Bruker AXS D8 Advance diffractometer (Oak Park, IL, USA) equipped with CuK α radiation and working at 40 kV/40 mA. PXRD measurements were performed at high angle ($2\theta = 15\text{--}68^\circ$) and low angle range ($2\theta = 1.3\text{--}8.3^\circ$).

Transmission electron microscopy

TEM images were taken on a 100 kV JEOL JEM-1010 microscope (Akishima, Tokyo, Japan) operated with AMT image capture engine software. TEM samples were prepared by adding 10 μ l 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 (Northampton, MA, USA).

N₂ adsorption–desorption

N₂ adsorption–desorption measurements were conducted in a TriStar II Plus surface area and porosity analyzer from Micromeritics (Norcross, GA, USA). 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.

Magnetic properties from the magnetic core mesoporous silica

Magnetization measurements were performed on a superconducting quantum interference device (SQUID) magnetometer at 298 K. All the measurements were performed at room temperature.

Labeling magnetic core MSNs with ^{99m}Tc

The labeling process was done by the direct radiolabeling process. In this methodology, we used 150 μ g of magnetic mesoporous silica. Briefly, 100 μ Ci (\sim 300 μ L) of ^{99m}Tc was incubated with a stannous chloride (SnCl₂) solutions (80 μ g/mL) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) for 20 min at room temperature. Then, this solution was incubated with 150 μ g magnetic mesoporous silica for another 10 min in order to label their structures.

Quality control of the labeling process with ^{99m}Tc

In order to confirm the efficacy of the magnetic core mesoporous silica labeling process, paper chromatography was done using Whatman paper No. 1 using 2 μ l of the labeled-nanoparticle and acetone (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) as mobile phase. The radioactivity of the strips was verified in a γ -counter (Perkin Elmer Wizard[®] 2470, Shelton, CT).

Mutagenicity

Salmonella/microsome mutagenicity test

The features of *Salmonella enteric* serovar Typhimurium standard strains TA98, TA100 and TA102 [30] were phenotypically checked immediately before to use on the experiments.

The test tube contained a mixture of 100 μ L of one of the five concentrations (final concentrations varying from 15.6 to 250 μ M) plus either 500 μ L sodium phosphate buffer (27.6 g/L NaH₂PO₄·H₂O and 28.4 g/L Na₂HPO₄; 0.2 M, pH 7.4) or a metabolic fraction (S9 Mix 4%; Molecular Toxicology Inc., Moltex, TM) composed of a homogenate of Sprague Dawley rat liver cells pretreated with polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254), as well as 100 μ L of the bacterial suspension (2×10^9 cells/mL). After pre-incubation for 20 min with stirring, at 37 °C, 2 ml top agar (7 g/L agar; 5 g/L NaCl; 0.0105 g/L L-histidine; 0.0122 g/L biotin; pH 7.4, 45 °C) was added to the test tube, and the final mixture was poured onto a Petri dish with minimal agar (15 g/L agar, Vogel-Bonner E medium $10 \times$ (10 g/L MgSO₄·7H₂O; 100 g/L C₆H₈O₇·H₂O; 500 g/L K₂HPO₄; 175 g/L Na(NH₄)HPO₄·4H₂O) containing 20 g/L glucose. This final mixture was incubated at 37 °C for 72 h, and the His⁺ revertant colonies were counted. The positive controls for assays in the absence of S9 mix were: 4-nitroquinoline-N-oxide (4-NQNO) (CAS: 56–57-5) at 1.0 μ g/plate, for TA98; sodium azide (SA) (CAS: 26628–22-8) at 0.5 μ g/plate, for TA100. In the presence of S9 mix, the positive controls were: 2-aminoanthracene (2-AA) (CAS: 613–13-8) at 1.0 μ g/plate for TA100; and benzo[a]pyrene (B[a]P) (CAS: 50–32-8) at 20 μ g/plate for TA98. The substance or sample was considered positive for mutagenicity when the number of revertant colonies in the assay was at least twice the number of

spontaneous revertants (mutagenicity index, $MI \geq 2$), and when a significant response to the analysis of variance (ANOVA, $p \leq .05$) and reproducible positive dose–response curve ($p \leq .01$) were found. MI was calculated by dividing the number of His^+ induced in the sample by the number of His^+ in the negative control. All the experiments were done in triplicate and repeated at least twice [31,32].

Cytotoxicity assays

The water-soluble tetrazolium salt assay (WST-1) {4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate} and Cytotoxicity Detection Kit (LDH) were obtained from Roche Co., South San Francisco, CA and Mannheim, Germany, respectively. About 24 h after $1-2 \times 10^5$ HepG2 cells were seeded into each well of a sterile flat-bottomed 96-well plate, and incubated with 15.3, 31.6, 62.5, 125 and 250 μM of sample for 24, 48 and 72 h.

For WST-1 assay, after treatment the culture medium was replaced by 90 μL fresh culture medium and 10 μL WST-1 reagent and incubated at 37 °C and 5% CO_2 for 3 h. The absorbance was then measured at 450 nm using a Polaris Microplate Reader (Celer, Brazil) according to the kit protocol. The intensity of the yellow color in the negative control wells was designated as 100% viability and all further comparisons were based upon this reference level [33].

The LDH activity cytotoxicity assay was carried out according to the manufacturer's instructions. Briefly, 100 μL supernatant was transferred from each well to a 96-well flat-bottomed plate and 100 μL reaction mixture freshly prepared were added to each well. The plates were incubated for 30 min at 20 °C in the dark and absorbance was measured at 492 nm using a Polaris Microplate Reader. Blank values indicating the absorbance of the LDH were subtracted from all samples. The percentage of cytotoxicity was calculated according to the kit protocol. Data were presented as the mean \pm standard deviation (SD) of triplicate measurements. Sterile dimethyl sulfoxide was used as negative control and Triton X-100 as the positive control [34].

Transplacental transfer and tissue deposition in pregnancy

Nulliparous female Wistar rats, aged 6–7 weeks and weighing 200–250 g, from FIOCRUZ breeding stock were used. Animals were maintained under controlled temperature ($23 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$) with water and food *ad libitum*. Timed pregnant rats were administered intravenously (into the lateral tail vein) with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled magnetic core mesoporous silica nanoparticles (3.7 MBq/0.2 ml) on gestation day 11 (GD11, $N=3$), or on GD 20 ($N=3$). Two non-pregnant females were similarly treated. Twenty-four hours after the intravenous injection, all rats were euthanized with an overdose of isoflurane. Following euthanasia confirmation by thoracotomy, maternal organs/tissues (blood, heart, brain, stomach, small intestines, colon, urinary bladder, kidneys, lungs, liver, spleen, pancreas, skeletal muscle, femur, bone marrow, thymus, uterus, abdominal fat, adrenals, ovaries), placentas and embryos or fetuses were removed, weighed, and placed into vials for measurement of radioactivity. Brain, liver, lungs, spleen, thymus, heart and the

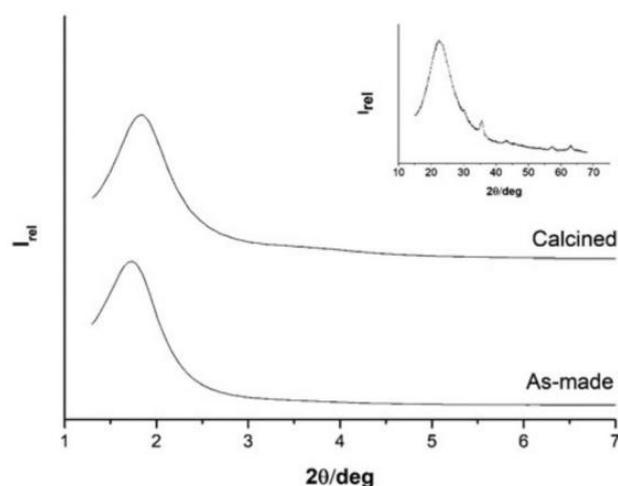


Figure 1. Powder X-ray diffraction patterns of (bottom) as-made magnetic core MSNs ($S0-1$) and calcined magnetic core MSNs ($S0-2$). Inset shows the peaks corresponding to magnetite nanocrystals and the characteristic broad peak of amorphous silica.

carcass of fetuses were also put into individual vials for measurement. 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 (CEUA-IPEN 182/2017). It is important to note that on average each pregnant rat have between 10 and 12 new animals (brood).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using Origin Pro 8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA) software. Results are shown as mean \pm SD. p values $< .05$ were considered significant.

Results and discussion

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 as-made ($S0-1$) and calcined ($S0-2$) magnetic core MSNs (Figure 1). The slight shift of the peak to higher angles indicates 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 Figure 1).

The mesoporous structure of $S0-2$ magnetic core MSNs was also analyzed by TEM and the size of the primary nanoparticles was determined by image analysis ($58.9 \pm 8.1 \text{ nm}$, $n = 100$). The data was represented in a histogram, which shows the particle size distribution of the $S0-2$ nanoparticles (Figure 2).

The N_2 adsorption–desorption isotherms of the magnetic core MSNs presented a typical type IV behaviour (Figure 3), characteristic of mesoporous materials. From the isotherm curve, a specific surface area of 872 m^2/g was estimated

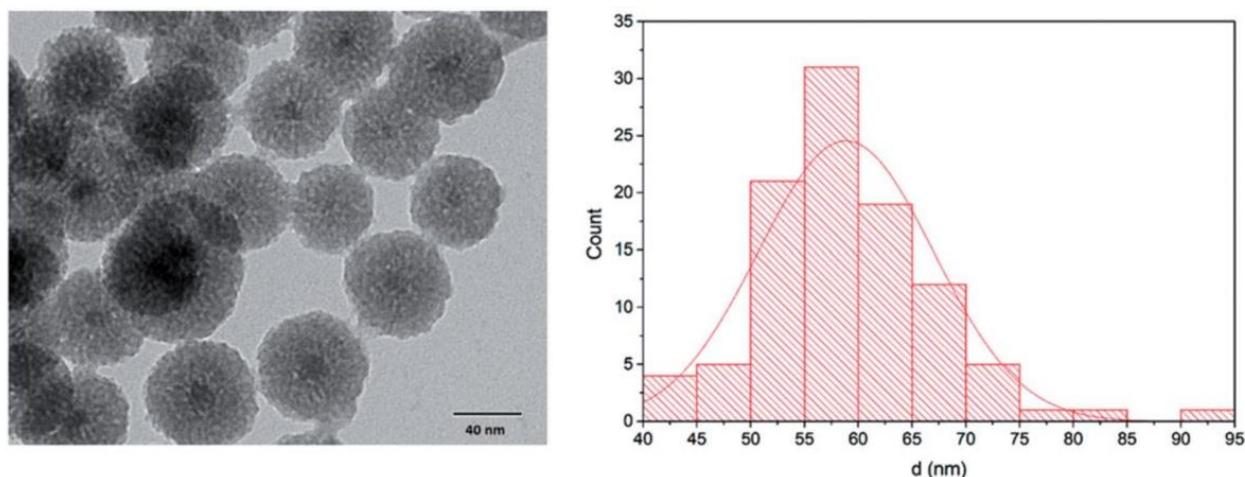


Figure 2. Left: TEM images of calcined $S0-2$ nanoparticles. Right: Size histogram and normal size distribution of calcined $S0-2$ nanoparticles.

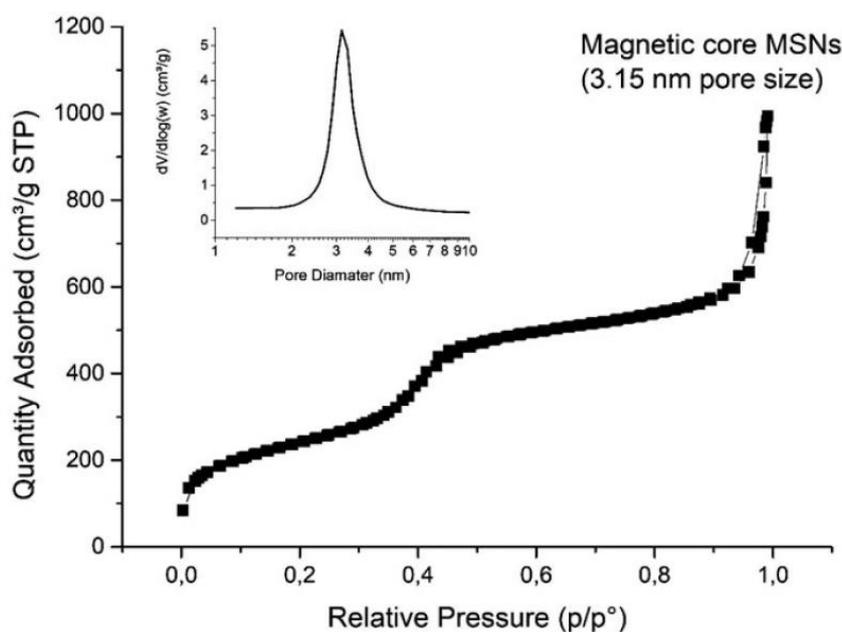


Figure 3. N_2 adsorption-desorption isotherm of calcined $S0-2$ nanoparticles. Inset shows the pore size distribution of the material.

along with a pore volume of $0.85 \text{ cm}^3/\text{g}$ and an average pore diameter of 3.15 nm .

The magnetization properties of the developed nanoparticles were determined using an SQUID magnetometer. The magnetic curves of the material (Figure 4) show the superparamagnetic behaviour produced by the Fe_3O_4 nanocrystals in the core of the nanoparticles. The obtained saturation magnetization value for the final $S0-2$ nanoparticles (1.6 emu/g) is consistent with those reported for similar magnetic core MSNs.

Labeling magnetic core MSNs with ^{99m}Tc

The magnetic core mesoporous silica nanoparticles were successfully labeled ($>98\%$) with ^{99m}Tc generating a clear suspension with visible precipitate, that passed through 200 nm filter.

Quality control of the labeling process with ^{99m}Tc

The effectiveness of the labeling process was confirmed by paper chromatography which indicated almost no significant dissociation of technetium-99m from the magnetic core mesoporous silica nanoparticles for a period as long as 8 h , as shown in Table 1.

Mutagenicity

Salmonella/microsome mutagenicity test

Mutagenicity assay results (Table 2) demonstrate that magnetic core mesoporous silica nanoparticles can induce DNA lesions on G:C base pairs, by frame shift (indel damage), detected by positive results on TA98 revertants at $250 \text{ } \mu\text{g}/\text{plate}$. Magnetic core mesoporous silica nanoparticles can also induce G:C to A:T substitution, a DNA damage detected by TA100 strain, represented by significantly higher revertant

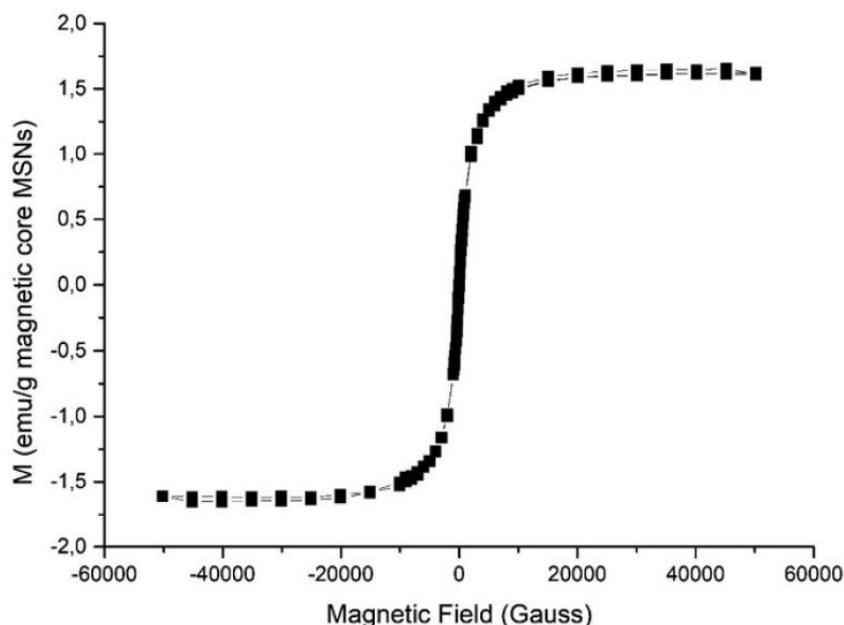


Figure 4. Magnetization curves of calcined 50-2 nanoparticles measured at 298 K.

Table 1. Percentage of labeled magnetic core mesoporous silica nanoparticles observed over time, after ascending chromatograms of ^{99m}Tc compared with free pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$).

Time (h)	Labeling (%) magnetic core mesoporous silica
0	99.8 ± 1.2
1	99.1 ± 0.6
2	99.3 ± 0.9
4	98.5 ± 0.4
8	98.1 ± 0.8

colony counts at 125 and 250 $\mu\text{g}/\text{plate}$ incubation. Besides this, magnetic core mesoporous silica nanoparticles also induced bacterial cytotoxicity at higher concentration in both TA98 and TA100. On the other hand, magnetic core mesoporous silica nanoparticles apparently cannot induce A:T pair-based lesions, once no significantly mutagenicity increase on or decrease on bacterial survival on experiments using TA102 was detected.

Cytotoxicity assays

Eukaryotic cytotoxicity assays show that exposure to magnetic core mesoporous silica nanoparticles induces dose-dependent and time-dependent cytotoxic responses to HepG2 cells. After 24 h of exposure (Figure 5(a)), cell membrane damage detected by LDH assay, was more prominent (four-fold) than mitochondrial dysfunction detected by WST-1 assay. At this time point, LC_{50} were 41.9 ± 3.5 on LDH and 159.7 ± 9.3 on WST-1 endpoints (Figure 5(d)). After 48 h of exposure (Figure 5(b)), the differences between membrane damage and mitochondrial dysfunction tended to reduce (2.2-fold), mainly at higher concentrations. After 48 h, the LC_{50} were 28.5 ± 5.0 on LDH and 62.7 ± 9.7 on WST-1 (Figure 5(d)). At 72 h of exposure (Figure 5(c)), MSN induced the most relevant subcellular injuries, regarding the lower

Table 2. Mean values ± SD (IF) of *Salmonella entericaserovar* Typhimurium His^+ revertant colonies of TA98, TA100 and TA102 strains on Ames Test after incubation with Magnetic core mesoporous silica nanoparticles (MSN).

μg	Ta98		Ta100		Ta102	
	$\text{His}^+ \pm \text{SD}$	Survival	$\text{His}^+ \pm \text{SD}$	Survival	$\text{His}^+ \pm \text{SD}$	Survival
0	23 ± 5 (1.0)	100%	106 ± 9 (1.0)	100%	369 ± 46 (1.0)	100%
15.6	23 ± 3 (1.0)	79%	103 ± 18 (1.0)	100%	379 ± 39 (1.0)	100%
31.3	24 ± 2 (1.0)	59%	102 ± 10 (1.0)	84%	392 ± 11 (1.1)	100%
62.5	26 ± 2 (1.1)	58%	124 ± 16 (1.2)	74%	430 ± 14 (1.2)	100%
125	28 ± 2 (1.2)	51%	177 ± 10 (1.7) ^a	72%	466 ± 12 (1.3)	100%
250	37 ± 3 (1.6) ^a	28% ^a	55 ± 4 (0.5) ^a	44% ^a	500 ± 14 (1.4)	100%

SD: standard deviation; IF: induction fold. Bold denotes evidence of bacterial cytotoxicity.

^aDifferent of negative control, one-way ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test ($p < .05$). Positive controls: 4-nitroquinoline-*N*-oxyde (4NQO) (1.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA98, 671 ± 12 revertants; sodium azide (SA) (1.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA100, 667 ± 21 revertants; mytomicin-C (MMC) (0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$) for TA102, 3497 ± 38 revertants.

difference between them (1.5-fold) and at the higher concentrations, mitochondrial dysfunction was more prevalent than membrane degradation. The LC_{50} were 20.1 ± 3.1 on LDH and 29.8 ± 4.3 on WST-1 at this time (Figure 5(d)).

Transplacental transfer and tissue deposition in pregnancy

The radioactivity of each single organ was measure, and the results are expressed below from Figures 6–12. There was visible difference between the radioactivity in rats and fetuses and embryos. This is probably due to the low levels of nanoparticles founded in the tissues of embryos and fetuses. These observations were congruent with the amount of nanoparticle used in the experiment and considering the whole biodistribution assay.

The results in the non-pregnant rats suggest a normal behavior regarding the nanoparticles, in which there is a great uptake by the liver and spleen, due to the activation of the phagocytic mononuclear system [35]. It is also possible to observe an accentuated renal clearance, also characteristic of

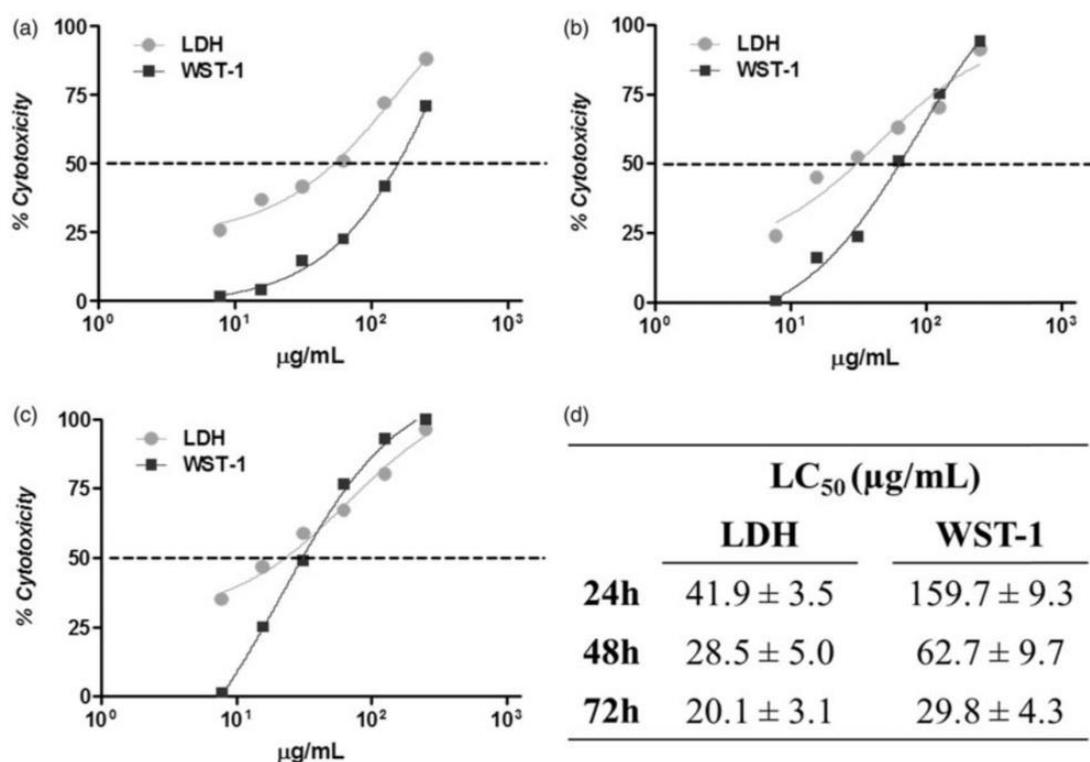


Figure 5. Eukaryotic cytotoxicity of magnetic core mesoporous silica nanoparticles (MSN). HepG2 cells were incubated with MSN during (a) 24 h, (b) 48 h and (c) 72 h. After the incubations, cell membrane damage (LDH assay) and mitochondrial function (WST-1 assay) were measured. The lethal concentration of 50% of cell population (LC₅₀) values (d) were calculated by nonlinear regression fit of dose–response (agonist behavior) curves with $R^2 \approx 0.99$.

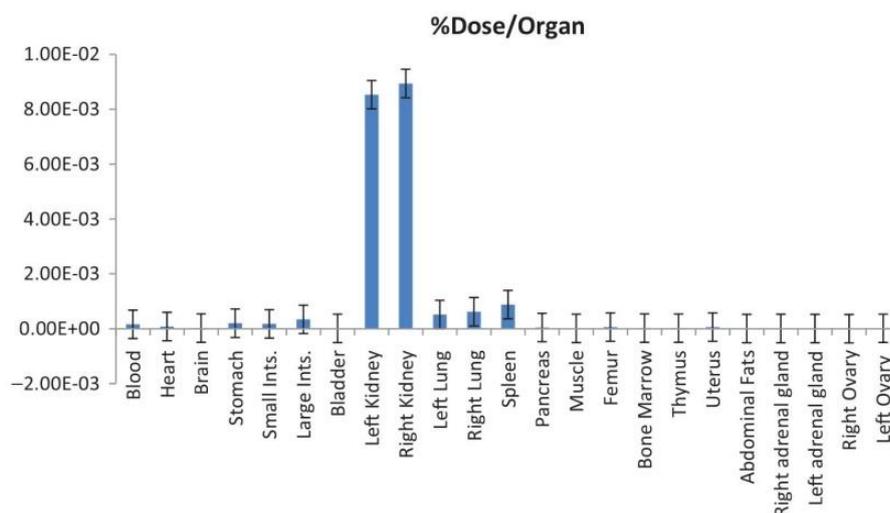


Figure 6. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in non-pregnant rats (control). Due to the high uptake in liver, we removed the value to show the uptake (although on a smaller scale) from the other organs.

the nanoparticles, especially the mesoporous silica nanoparticles. In order to evaluate the uptake on the other organs, a graph was drawn without liver uptake and a negligible caption was observed in the various organs, with expression only in the spleen, kidneys and lungs (Figure 6).

The evaluation of biodistribution in pregnant rats at embryonic stage did not show any marked difference when compared to non-pregnant rats. However, a greater uptake in the uterus was observed. The uterine permeation increases during pregnancy, especially due the fact that uteroplacental blood flow (UPBF) increases from a baseline value of 20–50 ml/min to 450–800 ml/[36]. The high uptake in liver

Figure 7(A) is explained by the fact that during the early stages of pregnancy all the cytochrome P450 (CYP) family of enzymes: CYP3A4, CYP2A6, CYP2D6, and CYP2C9 are increased [37,38].

The uptake in blood and heart are almost the same in both rats, pregnant (embryonic stage) and non-pregnant, this may be explained by the fact that during early stage of pregnancy [39], albumin concentrations decrease on average by 1% at 8 weeks, 10% at 20 weeks, and 13% at 32 weeks.

In pregnant rats close to parturition (24 h to parturition), there is a large change in the biodistribution of the nanoparticles with a marked uptake in muscle, stomach, brain and

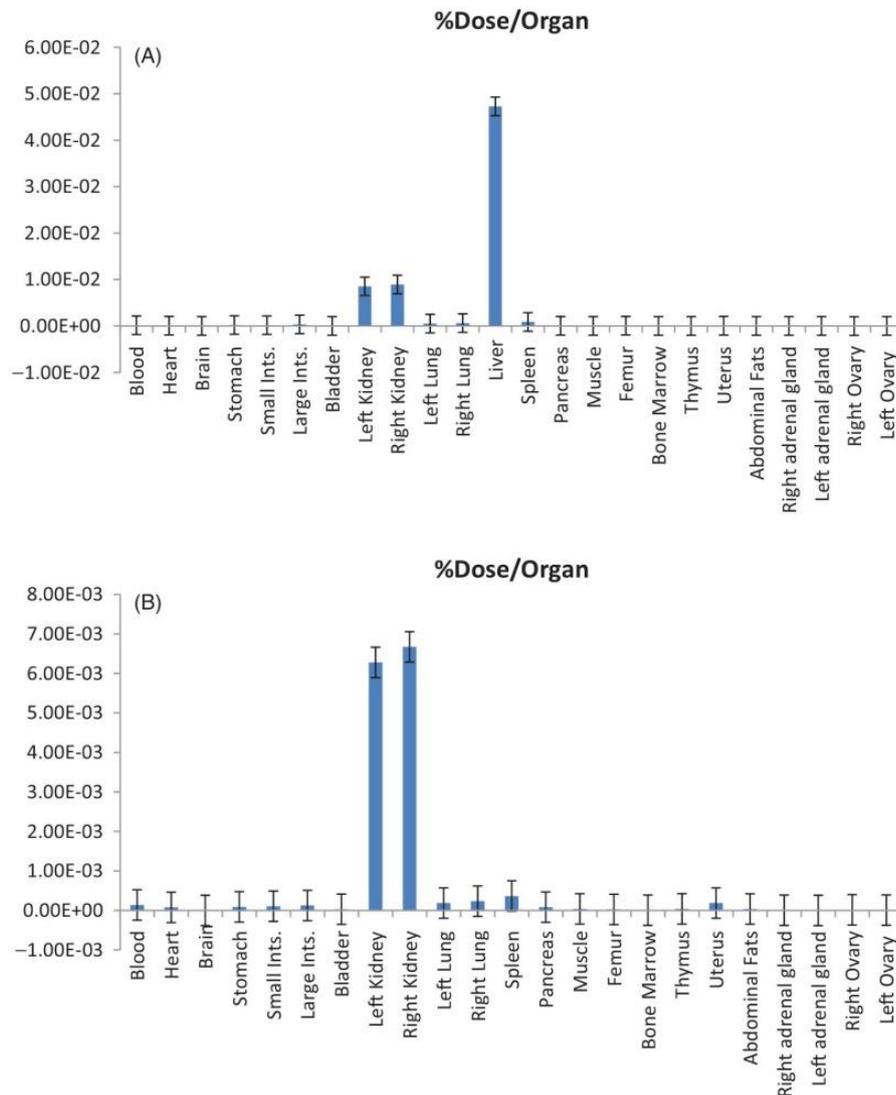


Figure 7. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in pregnant rats at embryonic stage. (A) We have the normal biodistribution considering the uptake from the liver. (B) Due the high uptake in liver we removed, the value to show the uptake (although on a smaller scale) from the other organs.

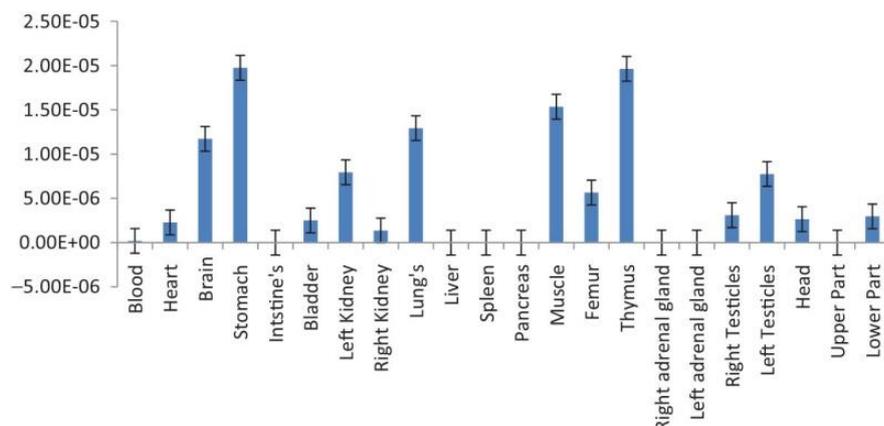


Figure 8. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in pregnant rats at fetal stage.

thymus (Figure 8). Corroborating the marked dysfunction caused by hormonal alterations. A very bizarre data is regarding the liver uptake in pregnant rats at the fetal stage. In this stage, we believe that a reducing in the activation of the mononuclear phagocytic system is responsible for this negligible uptake by the liver. This was explained by Wexler and

Kantor [40] when they stated that pregnancy depresses reticuloendothelial system (RES).

In Figure 8, it is possible to observe a decreased uptake in blood and an increased uptake in the heart. This change is explained by the fact that during pregnancy there is a decrease in albumin concentrations (almost 30% in the last

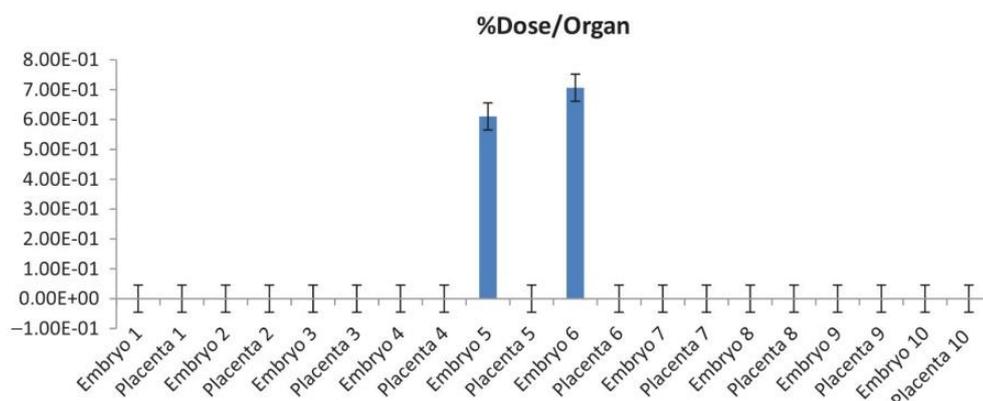


Figure 9. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in pregnant rats at embryonic stage. Bioaccumulation of nanoparticles just considering the placenta and embryos.

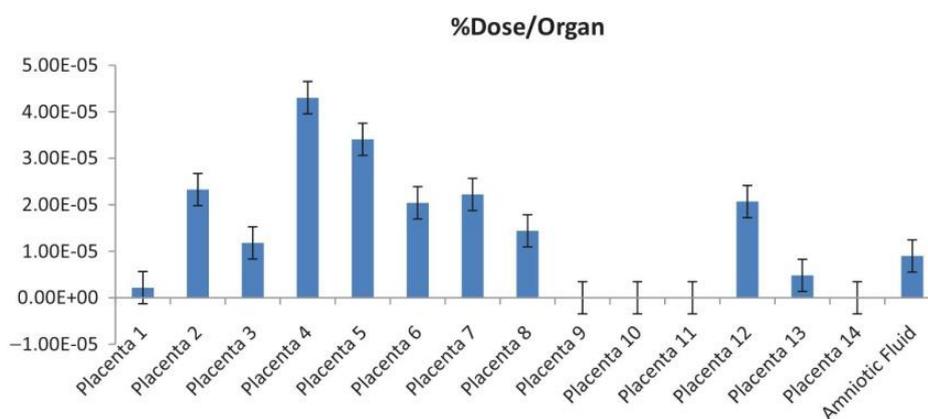


Figure 10. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in pregnant rats at fetal phase. Bioaccumulation of nanoparticles just considering the placenta.

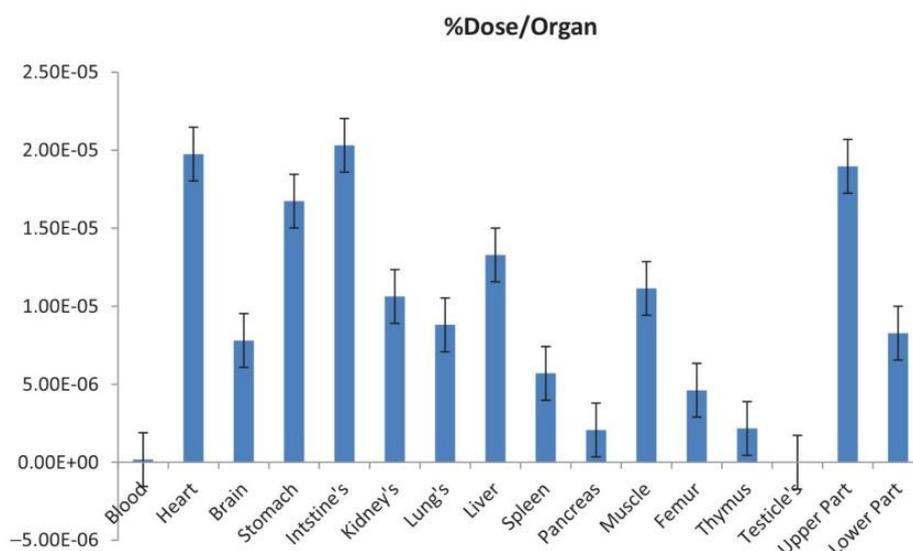


Figure 11. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in the fetus from rat number 1.

stages of pregnancy) leading to a decrease in protein binding and to higher concentrations of free drug circulating. Although nanoparticles are not considered drugs themselves, their behavior is drug-likely. Also, is possible to observe an increased uptake in all organs that is favored by the lower binding of nanoparticles to albumin [39].

An important finding was the increased uptake of magnetic core mesoporous silica nanoparticles by the brain as

demonstrated in Figure 8. During pregnancy, both VEGF (vascular endothelial growth factor) and placental growth factor (PLGF) are increased in the maternal circulation, especially at the final stage of pregnancy [41–43]. These both growth factors lead to increased permeability of the blood–brain barrier and corroborate the findings.

The results showed in Figure 9 demonstrated that the magnetic core mesoporous silica nanoparticle can cross the

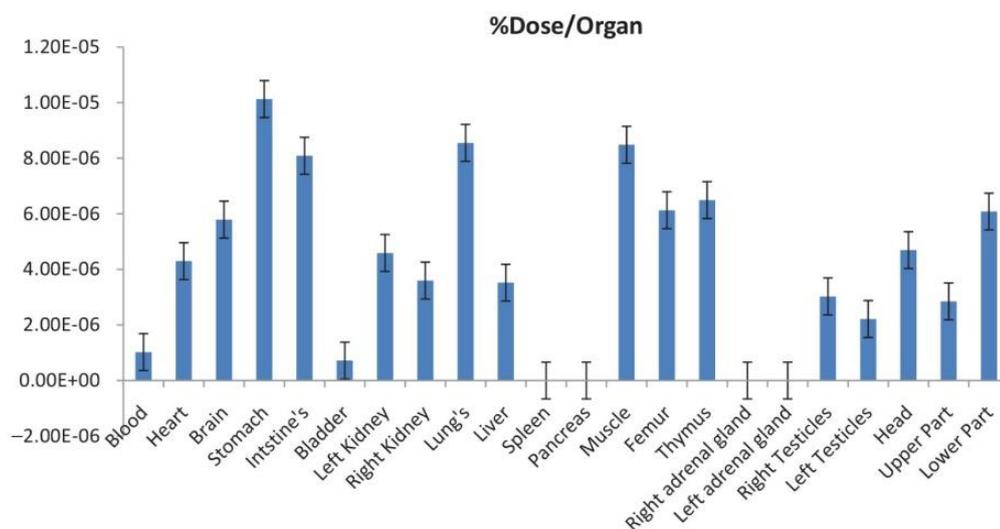


Figure 12. ^{99m}Tc magnetic core mesoporous silica nanoparticles biodistribution in the fetus from rat number 2.

placenta barrier and reach the embryos. There was a greater accumulation in embryos 5 and 6. It is important to notice that only free-unbound drug crosses the placenta. The reduction in albumin concentration mentioned before can explain why mesoporous silica nanoparticle crossed the placenta barrier [44–46]. The presence of albumin-unbound magnetic core mesoporous silica observed in blood and heart (Figure 8) facilitates the maternal–fetal transport mechanism mediated by the syncytiotrophoblasts. In this case the syncytiotrophoblasts cells, works as polarized plasma membrane that allows compounds transport between mother and the embryo. This passage occurs by the maternal circulation within the uterine vasculature directly through the intervillous spaces and then the syncytiotrophoblasts. Wherefore, blood flows from the embryo side of the placental villi through the embryo capillary endothelium to reach the embryo circulation [37,47–50].

In the pregnant rats close to parturition, the uptake of nanoparticles was observed in all placentas, with special uptake by placentas 4, 5 and 7. The presence of nanoparticles in the amniotic fluid was also observed, corroborating the transplacental permeation and the primary elimination process. Is important to keep in mind that small, lipid-soluble, ionized, and poorly protein-bound molecules cross the placenta easily. Due to the small size, poorly protein-bound particles are presented in magnetic core mesoporous silica nanoparticles transported by the placental barrier [39,45,51,52].

During pregnancy, the female hormone influence in body metabolism. In general, estrogens, progesterone and estradiol increase rapidly during pregnancy. Both, estradiol and progesterone reach 100-fold higher concentrations when compared with non-pregnant female. Nevertheless, the concentrations of estrone and estriol reach ~300-fold higher concentrations when compared with non-pregnant female. At last, the concentration of estriol, an endogenous estrogen that is exclusively produced by the fetal liver also rises in maternal blood. These changes in female hormone expression leads to downregulation of hepatic DME (drug-metabolizing enzyme) expression by activating nuclear receptors, explaining the

lower uptake by liver and spleen [53–55]. The presence of nanoparticle in amniotic fluid may happens also occurs via fetal renal excretion and perhaps via the fetal membranes [56].

After crossing the placental barrier, nanoparticles suffer dilution process once blood in the umbilical vein mixes with fetal venous blood from: (i) gastrointestinal tract, (ii) the lower extremities, (iii) the head and upper extremities, and (iv) the lungs [57,58]. This explains the high uptake of magnetic core mesoporous silica nanoparticles in fetal stomach, intestines and lungs. This pattern in the fetal circulation leads to a delayed equilibrium between fetal tissues and fetal blood, which explain the different values found in blood and heart. Also, the biodistribution of the fetal cardiac output may be influenced by hypoxemia and acidosis, both conditions reached during the euthanasia process. Under these conditions blood flow to the placenta, fetal brain and heart increases substantially, explaining the high uptake in brain and also in the heart. The high uptake in liver is explained by the strategic situation of the fetal liver regarding the umbilical circulation [54,59].

Most of the researcher may think that, once the magnetic core mesoporous silica nanoparticles enter the fetal circulation via the umbilical vein, it will be redistributed within the fetus as they do in the adult. But this is not so, due a particularity in fetuses. Actually, fetuses have an anatomical and functional peculiarity on the vascular system in which both sides of the heart work in parallel rather than in series as in the postnatal period. This lead to an erratic circulation pattern, where most of the blood entering the right atrium will not enter into the right ventricle as it will after birth, but be shunted through the foramen ovale of the atrial septum into the left atrium. Then, blood will get into the left ventricle and be pumped into the general circulation. This output supplies the fetal brain, which also helps to explain the high uptake by the brain. Nevertheless, the umbilical arterial concentration of nanoparticles will frequently be lower than that of the umbilical vein, and it reflects in the uptake/deposition in critical organs such as brain, heart, and gastrointestinal system [60].

Part of the blood flow reaches the forelimbs and part of it is pumped into the aorta to supply the remaining tissues.

The venous return from the head region (which explains the high uptake in head) comes via the vena cava superior and enters into the right atrium where is shunting as above into the left atrium. The amount of nanoparticles that reaches the right ventricle is pumped into the non-functional pulmonary circulation, explaining the high uptake in lungs [60].

The uptake by thymus may be explained by the presence of immune cells, since the implementation period of embryo. Although some researchers associate the presence of immune cells in the early stages of pregnancy as an innate immune response (a response to the “foreign” fetus), current evidence suggest that this immune cells are presented to facilitate and protect the pregnancy. Therefore, the immune system at the implantation site is not suppressed, on the contrary it is active, functional and is carefully controlled [61].

In general, after that fetal idiosyncrasy, the biodistribution showed similar uptake to mothers [62] close to parturition, with marked uptake by thymus, muscle, stomach and intestine. The data presented by the fetuses are very similar to the biodistribution of the progenitors, demonstrating a factual relationship between the processes of maternal–infant biodistribution of nanoparticles

Conclusions

The results confirmed that magnetic core mesoporous silica nanoparticles (with a size range of 58 nm) are able to cross the placental barrier. Also demonstrated that they are able to reach fetus’s bloodstream being notably metabolized by organ, which are under formation, with a high uptake by the fetus brain, stomach, thymus, liver and lungs. Considering this data and the results from cytotoxic and genotoxic assay is priority that many more studies in this direction should be done in order to certify the safety of nanoparticles, especially during pregnancy.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

The authors would like to thank the National Scientific and Technological Research Council (CNPQ) and the Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ) 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.

ORCID

Ramón Martínez-Máñez  <http://orcid.org/0000-0001-5873-9674>
Ralph Santos-Oliveira  <http://orcid.org/0000-0002-0905-481X>

References

- [1] Landsiedel R, Kapp MD, Schulz M, et al. Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations-many questions, some answers. *Mutat Res.* 2009;681:241–258.
- [2] Paschoalino MP, Marcone GPS, Jardim WF. Os nanomateriais e a questão ambiental. *Quim Nova.* 2010;33:421–430.
- [3] Brand W, Noorlander CW, Giannakou C, et al. Nanomedicinal products: a survey on specific toxicity and side effects. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:6107–6129.
- [4] Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science.* 2006;311:622–627.
- [5] Chen G, Vijver MG, Xiao Y, et al. A review of recent advances towards the development of (quantitative) structure-activity relationships for metallic nanomaterials. *Materials (Basel).* 2017;10. DOI:10.3390/ma10091013
- [6] Klisn ER, Murray AR, Keane MJ, et al. Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *J Toxicol Environ Health Part A.* 2007;70:2071–2079.
- [7] Doak SH, Griffiths SM, Manshian B, et al. Confounding experimental considerations in nanogenotoxicology. *Mutagenesis.* 2009;24:285–293.
- [8] Cao Y, Long J, Liu L, et al. A review of endoplasmic reticulum (ER) stress and nanoparticle (NP) exposure. *Life Sci.* 2007;186:33–42.
- [9] Vicente S, Moia C, Zhu H, et al. *In vitro* evaluation of the internalization and toxicological profile of silica nanoparticles and sub-microparticles for the design of dermal drug delivery strategies. *J Appl Toxicol.* 2017;37:1396–1407.
- [10] Niska K, Zielinska E, Radomski MW, et al. Metal nanoparticles in dermatology and cosmetology: interactions with human skin cells. *Chem Biol Interact.* 2017 [cited 2017 Jun 19]. DOI:10.1016/j.cbi.2017.06.018
- [11] Dankers ACA, Kuper CF, Boumeester AJ, et al. A practical approach to assess inhalation toxicity of metal oxide nanoparticles *in vitro*. *J Appl Toxicol.* 2017;38:160–171.
- [12] Gulumian M, Andraos C. In search of a converging cellular mechanism in nanotoxicology and nanomedicine in the treatment of cancer. *Toxicol Pathol.* 2017;46:4–13.
- [13] Donaldson K, Stone V, Tran L, et al. Nanotoxicology. *Occup Environ Med.* 2004;61:727–728.
- [14] Martin A, Sarkar A. Overview on biological implications of metal oxide nanoparticle exposure to human alveolar A549 cell line. *Nanotoxicology.* 2017;11:713–724.
- [15] Pantarotto D, Briand J, Prato P, et al. Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes. *Chem Commun.* 2004;1:16–17.
- [16] Kam NWS, Jessop TC, Wender PA, et al. Nanotube molecular transporters: internalization of carbon nanotube-protein conjugates into mammalian cells. *J Am Chem Soc.* 2004;126:6850–6851.
- [17] Kam NWS, O’Connell MJ, Wisdom JA, et al. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:11600–11605.
- [18] Kam NWS, Dai H. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: generality and biological functionality. *J Am Chem Soc.* 2005;127:6021–6026.
- [19] Singh N, Manshian B, Jenkins GJ, et al. NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials.* 2009;30:3891–3914.
- [20] Kam NWS, Liu Z, Dai H. Carbon nanotubes as intracellular transporters for proteins and DNA: an investigation of the uptake mechanism and pathway. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2006;45:577–581.
- [21] Calienni MN, Feas DA, Igarúa DE, et al. Nanotoxicological and teratogenic effects: a linkage between dendrimer surface charge and zebrafish developmental stages. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017;337:1–11.
- [22] Asharani PV, Mum GLK, Hande MP, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano.* 2009;3:279–290.
- [23] Mu Q, Broughton DL, Yan B. Endosomal leakage and nuclear translocation of multiwalled carbon nanotubes: developing a model for cell uptake. *Nano Lett.* 2009;9:4370–4375.

- [24] Xia T, Kovochich M, Brant J, et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Lett.* 2006;6:1794–1807.
- [25] Karlsson HL, Cronholm P, Gustafsson J, et al. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem Res Toxicol.* 2008;21:1726–1732.
- [26] Peng C, Chen Y, Pu Z, et al. CeO₂ nanoparticles alter the outcome of species interactions. *Nanotoxicology.* 2017;11:625–636.
- [27] Nallanthighal S, Chan C, Murray TM, et al. Differential effects of silver nanoparticles on DNA damage and DNA repair gene expression in Ogg1-deficient and wild type mice. *Nanotoxicology.* 2017;19:1–16.
- [28] Sierra MI, Rubio L, Bayón GF, et al. DNA methylation changes in human lung epithelia cells exposed to multi-walled carbon nanotubes. *Nanotoxicology.* 2017;11:857–870.
- [29] Wang E, Huang Y, Du Q, et al. Silver nanoparticle induced toxicity to human sperm by increasing ROS (reactive oxygen species) production and DNA damage. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017;52:193–199.
- [30] Araujo-Lima CF, Nunes RJM, Carpes RM, et al. Pharmacokinetic and toxicological evaluation of a zinc gluconate-based chemical sterilant using in vitro and in silico approaches. *BioMed Res.* 2017;2017:5746768. DOI:10.1155/2017/5746768
- [31] Cardoso FS, Araujo-Lima CF, Aiub CA, et al. Exposure to sorbitol during lactation causes metabolic alterations and genotoxic effects in rat offspring. *Toxicol Lett.* 2016;260:36–45.
- [32] Boechat N, Carvalho AS, Salomão K, et al. Studies of genotoxicity and mutagenicity of nitroimidazoles: demystifying this critical relationship with the nitro group. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:492–499.
- [33] Fernandes AS, Mazzei JL, Oliveira CG, et al. Protection against UV-induced toxicity and lack of mutagenicity of Antarctic *Sanionia uncinata*. *Toxicology.* 2017;376:126–136.
- [34] Ferraz ER, Rainho CR, Fernandes AS, et al. Differential toxicity of an organic PM_{2.5} extract to human lung cells cultured in three dimensions (3D) and monolayers. *J Toxicol Environ Health Part A.* 2016;79:221–231.
- [35] dos Santos SF, Reis SRR, Pires LP, et al. Avoiding the mononuclear phagocyte system using human albumin for mesoporous silica nanoparticle system. *Microporous Mesoporous Mater.* 2017;251:181–189.
- [36] Osol G, Mandala M. Maternal uterine vascular remodeling during pregnancy. *Physiology.* 2009;24:58–71.
- [37] Sachdeva P, Patel BG, Patel BK. Drug use in pregnancy; a point to ponder! *Indian J Pharm Sci.* 2009;71:1–7.
- [38] Meyer Z, Schwabedissen HE, Grube M, et al. Expression, localization, and function of MRP5 (ABCC5), a transporter for cyclic nucleotides, in human placenta and cultured human trophoblasts: effects of gestational age and cellular differentiation. *Am J Pathol.* 2005;166:39–48.
- [39] Feghali M, Venkataramanan R, Caritis S. Pharmacokinetics of drugs in pregnancy. *Semin Perinatol.* 2005;39:512–519.
- [40] Wexler WM, Kantor FS. Reticuloendothelial function in pregnancy. *Yale J Biol Med.* 1966;38:315–322.
- [41] Ozaş B, Kaya M, Camurcu S. Influence of pregnancy on blood-brain barrier integrity during seizures in rats. *Pharmacol Res.* 1993;28:317–323.
- [42] Schreurs MP, Houston EM, May V, et al. The adaptation of the blood-brain barrier to vascular endothelial growth factor and placental growth factor during pregnancy. *FASEB J.* 2012;26:355–362.
- [43] Abbie C, Marilyn J, Cipolla J. The cerebral circulation during pregnancy: adapting to preserve normalcy. *Physiology.* 2015;30:139–147.
- [44] Syme MR, Paxton JW, Keelan JA. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43:487–514.
- [45] Ushijima K, Kimura A, Inokuchi T. Placental transport of bile acids: analysis of bile acids in maternal serum and urine, umbilical cord blood, and amniotic fluid. *Kurume Med J.* 2001;48:87–91.
- [46] Anderson GD. Pregnancy-induced changes in pharmacokinetics: a mechanistic-based approach. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44:989–1008.
- [47] Sorensan MK, Phillips BB, Mutnick AH. Drug use in specific patient populations: pediatric, pregnant, geriatric. In: Shargel L, Mutnick A, editors. *Comprehensive pharmacy review.* 5th ed. Philadelphia: Lippincott William Wilkins; 2004. p. 673–682.
- [48] Hansen W, Yankowitz J. Pharmacologic therapy for medical disorders during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 2002;45:136–152.
- [49] Kraemer K. Placental transfer of drugs. *Neonatal Netw.* 1997;16:65–67.
- [50] Loebstein R, Lalkin A, Koren G. Pharmacokinetic changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clin Pharmacokinet.* 1997;33:328–343.
- [51] Sharma R, Kapoor B, Verma U. Drug utilization pattern during pregnancy in North India. *Indian J Med Sci.* 2006;60:277–287.
- [52] Briggs GG. Drug effects on the Fetus and Breast-Fed Infant. *Clin Obstet Gynaecol.* 2002;45:6–21.
- [53] Sarlis NJ, Gourgiotis L. Hormonal effects on drug metabolism through the CYP system: perspectives on their potential significance in the era of pharmacogenomics. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.* 2005;5:439–448.
- [54] Jeong H. Altered drug metabolism during pregnancy: hormonal regulation of drug-metabolizing enzymes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2010;6:689–699.
- [55] Ring JA, Ghabrialia H, Chinga MS, et al. Fetal hepatic drug elimination. *Pharmacol Therap.* 1999;84:429–445.
- [56] Rurak DW, Wright MR, Axelson JE. Drug disposition and effects in the fetus. *J Dev Physiol.* 1991;15:33–44.
- [57] Finster M, Pedersen H. Placental transfer and fetal uptake of drugs. *Br J Anaesth.* 1979;51:255.
- [58] Audus KL. Controlling drug delivery across the placenta. *Eur J Pharm Sci.* 1999;8:161–165.
- [59] Eshkoli T, Sheiner E, Ben-Zvi Z, et al. Drug transport across the placenta. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011;12:707–714.
- [60] Welsh F. Placental transfer and fetal uptake of drugs. *J Vet Pharmacol Ther.* 1982;5:91–104.
- [61] Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy.* 2000;55:688–697.
- [62] Benveniste H, Fowler JS, Rooney W, et al. Maternal and fetal 11C-cocaine uptake and kinetics measured *in vivo* by combined PET and MRI in pregnant nonhuman primates. *J Nucl Med.* 2005;46:312–320.

CONCLUSÕES

Os resultados confirmaram que a nanopartículas de sílica mesoporosa com núcleo magnético (com um intervalo de tamanho de 58 nm) são capazes de atravessar a barreira placentária. Também demonstrou que elas são capazes de alcançar a corrente sanguínea do feto sendo notavelmente metabolizada por órgão, que estão em formação, com uma alta absorção pela cérebro do feto, estômago, timo, fígado e pulmões. Considerando estes dados e os resultados do ensaio citotóxico e genotóxico

É prioridade que muitos outros estudos nessa direção sejam feitos para certificar a segurança das nanopartículas, especialmente durante a gravidez.

REFERÊNCIAS

ABUKABDA, A. B. et al. Maternal titanium dioxide nanomaterial inhalation exposure compromises placental hemodynamics. **Toxicology and Applied Pharmacology**, fev. 2019.

ADIBI, J. J.; ZHAO, Y. Placental Transfer of Maternal Obesity: Identifying the Gatekeeper. **Endocrinology**, v. 158, n. 8, p. 2439–2440, 1 ago. 2017.

AENGENHEISTER, L. et al. Gold nanoparticle distribution in advanced in vitro and ex vivo human placental barrier models. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 79, 11 dez. 2018.

ALAM, F. et al. Unique roles of nanotechnology in medicine and cancer. **Indian Journal of Cancer**, v. 51, n. 4, p. 506, 2014.

ALBERTINI, D. F. Somatic offloading during sperm maturation: shining light on the extragenomic paternal dowry. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 35, n. 11, p. 1927–1928, 10 nov. 2018.

ALBRIGHT, C. et al. A Regression Model for Prediction of Cesarean-Associated Blood Transfusion. **American Journal of Perinatology**, 11 fev. 2019.

ALOUINI, S. et al. Diagnosis and management of placenta previa and low placental implantation. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1–6, 27 jan. 2019.

AMIRI, M.; SALAVATI-NIASARI, M.; AKBARI, A. Magnetic nanocarriers: Evolution of spinel ferrites for medical applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 265, p. 29–44, 23 mar. 2019.

AN, N. et al. Gated magnetic mesoporous silica nanoparticles for intracellular enzyme-triggered drug delivery. **Materials Science and Engineering: C**, v. 69, p. 292–300, 1 dez. 2016.

ANSARI, L. et al. Improved anticancer efficacy of epirubicin by magnetic mesoporous silica nanoparticles: *in vitro* and *in vivo* studies. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, p. 1–13, 24 abr. 2018.

ANVISA. **O processo de desenvolvimento de um medicamento: da pesquisa até o uso pela população.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.daiichisankyo.com.br/PandD/EtapasDesenv.aspx>>. Acesso em: 3 jan. 2019.

ARAMI, H. et al. Nanomedicine for Spontaneous Brain Tumors: A Companion Clinical Trial. **ACS Nano**, p. acsnano.8b04406, 4 fev. 2019.

ARAÚJO, D. D. et al. Consumption of medicines in high-risk pregnancy: evaluation of determinants related to the use of prescription drugs and self-medication. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 491–499, set. 2013.

AYAD, M.; COSTANTINE, M. M. Epidemiology of medications use in pregnancy. **Seminars in Perinatology**, v. 39, n. 7, p. 508–511, nov. 2015.

BACH, A. et al. Embolization of a life-threatening placenta increta hemorrhage with a four-month MRI follow-up. **Acta Radiologica Open**, v. 6, n. 9, p. 205846011772778, 7 set. 2017.

BAKER, B. C. et al. Placental dysfunction is associated with altered microRNA expression in pregnant women with low folate status. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 8, p. 1600646, ago. 2017.

BARDON, V. F. et al. Placental transfer of elvitegravir and cobicistat in an Ex Vivo human cotyledon double perfusion model. **AIDS**, v. 32, n. 3, p. 1, 28 nov. 2017.

BATTISTELLI, M.; SALUCCI, S.; FALCIERI, E. Morphological evaluation of liposomal iron carriers. **Microscopy Research and Technique**, v. 81, n. 11, p. 1295–1300, 8 nov. 2018.

BAZMANDEGAN-SHAMILI, A. et al. Preparation of magnetic mesoporous silica composite for the solid-phase microextraction of diazinon and malathion before their determination by high-performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 40, n. 8, p. 1731–1738, abr. 2017.

BELTRAN-HUARAC, J. et al. Development of reference metal and metal oxide engineered nanomaterials for nanotoxicology research using high throughput and precision flame spray synthesis approaches. **NanoImpact**, v. 10, p. 26–37, abr. 2018.

BERLAC, J. F. et al. Endometriosis increases the risk of obstetrical and neonatal complications. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 96, n. 6, p. 751–760, jun. 2017.

BHARDWAJ, V.; KAUSHIK, A. Biomedical Applications of Nanotechnology and Nanomaterials. **Micromachines**, v. 8, n. 10, p. 298, 2 out. 2017.

BOEKHOFF, J. et al. “Leaving the placenta *in situ* approach” (LISA) in a patient with placenta increta leading to delayed spontaneous delivery of the placenta. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1–3, 16 jul. 2018.

BOGEN, D. L. et al. Pharmacologic evidence to support clinical decision making for peripartum methadone treatment. **Psychopharmacology**, v. 225, n. 2, p. 441–451, 25 jan. 2013.

BOHREY, S.; CHOURASIYA, V.; PANDEY, A. Polymeric nanoparticles containing diazepam: preparation, optimization, characterization, in-vitro drug release and release kinetic study. **Nano Convergence**, v. 3, n. 1, p. 3, 1 dez. 2016.

BOMBARDIERI, E. et al. Imaging of neuroendocrine tumours with gamma-emitting radiopharmaceuticals. **The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging: official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN) [and] the International Association of Radiopharmacology (IAR), [and] Section of the Society of...**, v. 54, n. 1, p. 3–15, fev. 2010.

BOOKER, W.; MOROZ, L. Abnormal placentation. **Seminars in Perinatology**, 15 nov. 2018.

BOOKSTAVER, P. B. et al. A Review of Antibiotic Use in Pregnancy. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 35, n. 11, p. 1052–1062, nov. 2015.

BOSCHI, A. et al. Recent achievements in Tc-99m radiopharmaceutical direct production by medical cyclotrons. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 9, p. 1402–1412, 2 set. 2017.

BOVE, R. M. et al. Reproductive period and epigenetic modifications of the oxidative phosphorylation pathway in the human prefrontal cortex. **PLOS ONE**, v. 13, n. 7, p. e0199073, 27 jul. 2018.

BRAND, W. et al. Nanomedicinal products: a survey on specific toxicity and side effects. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 6107–6129, ago. 2017.

BROLIO, M. P. et al. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. p. 222–232, 2010.

BROOKFIELD, K. F. et al. Pharmacokinetics and placental transfer of magnesium sulfate in pregnant women. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 214, n. 6, p. 737.e1-737.e9, jun. 2016.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Development of the Human Placenta and Fetal Heart: Synergic or Independent? **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 373, 12 abr. 2018.

BUSE, E.; MARKERT, U. R. The immunology of the macaque placenta: A detailed analysis and critical comparison with the human placenta. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, p. 1–28, 11 jan. 2019.

CAI, Q. et al. Highly fluorescent organic polymers for quenchometric determination of hydrogen peroxide and enzymatic determination of glucose. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 3, p. 160, 5 mar. 2019.

CAO, Z. et al. Vitrification of murine mature metaphase II oocytes perturbs DNA methylation reprogramming during preimplantation embryo development. **Cryobiology**, 29 jan. 2019.

CARR, D. J. et al. VEGF Gene Transfer to the Utero-Placental Circulation of Pregnant Sheep to Enhance Fetal Growth. In: **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**. [s.l.: s.n.]. v. 1332p. 197–204.

CARVALHO, D. M. et al. Pharmacokinetics and Transplacental Transfer of Fluoxetine Enantiomers and Their Metabolites in Pregnant Women. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, 29 nov. 2018.

CASTANHA, P. M. S. et al. Placental Transfer of Dengue Virus (DENV)–Specific Antibodies and Kinetics of DENV Infection–Enhancing Activity in Brazilian Infants. **Journal of Infectious Diseases**, v. 214, n. 2, p. 265–272, 15 jul. 2016.

CAVALLI, R. DE C.; BARALDI, C. DE O.; CUNHA, S. P. DA. Transferência placentária de drogas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 28, n. 9, p. 557–564, set. 2006.

CECILIO, A. P. et al. Breast cancer in Brazil: epidemiology and treatment challenges. **Breast cancer (Dove Medical Press)**, v. 7, p. 43–9, 2015.

CHAI, D.; CHENG, Y.; JIANG, H. Fundamentals of fetal toxicity relevant to sevoflurane exposures during pregnancy. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 72, p. 31–35, fev. 2019.

CHANG, Z. et al. Shape Engineering Boosts Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticle-Based Isolation and Detection of Circulating Tumor Cells. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 13, p. 10656–10663, 4 abr. 2018.

CHATURVEDI, V. K. et al. Cancer Nanotechnology: A New Revolution for Cancer Diagnosis and Therapy. **Current Drug Metabolism**, v. 19, 18 set. 2018.

CHAVES, L. F. M. et al. Fisiologia e farmacologia da placenta: efeitos da anestesia sobre o útero , placenta e feto. **Rev Med Minas Gerais**, v. 19, n. (3 Supl 1), p. 15–23, 2009.

CHEN, C. et al. Nucleic acid aptamer application in diagnosis and therapy of colorectal cancer based on cell-SELEX technology. **npj Precision Oncology**, v. 1, n. 1, p. 37, 14 dez. 2017.

CHEN, S. et al. The risk of abnormal placentation and hemorrhage in subsequent pregnancy following primary elective caesarean delivery. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1–11, 10 fev. 2019.

CHENG, C.-T. et al. Advanced nanotechnology: An arsenal to enhance immunotherapy in fighting cancer. **Clinica Chimica Acta**, v. 492, p. 12–19, 31 maio 2019.

COLLIER, K. W. et al. Does co-location of medication assisted treatment and prenatal care for women with opioid use disorder increase pregnancy planning, length of interpregnancy interval, and postpartum contraceptive uptake? **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 98, p. 73–77, mar. 2019.

COMPTOUR, A. et al. Nuclear retinoid receptors and pregnancy: placental transfer, functions, and pharmacological aspects. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 20, p. 3823–3837, 9 out. 2016.

COTTRELL, J. N. et al. Rural and urban differences in prenatal exposure to essential and toxic elements. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 81, n. 23, p. 1214–1223, 2 dez. 2018.

CUI, S. et al. Retrospective analysis of placenta previa with abnormal placentation with and without prophylactic use of abdominal aorta balloon occlusion. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 137, n. 3, p. 265–270, jun. 2017.

D'IPPOLITO, S. et al. Endometrial microbes and microbiome: Recent insights on the inflammatory and immune “players” of the human endometrium. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 80, n. 6, p. e13065, dez. 2018.

DAS, R. K. et al. Magnetic Mesoporous Silica Gated with Doped Carbon Dot for Site-Specific Drug Delivery, Fluorescence, and MR Imaging. **Langmuir**, v. 34, n. 18, p. 5253–5262, 8 maio 2018.

DE BARROS DUARTE, L. et al. Distribution of fentanyl in the placental intervillous space and in the different maternal and fetal compartments in term pregnant women. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 65, n. 8, p. 803–808, 28 ago. 2009.

DECK, D.; WINSTON, L. **Tetracyclines, Macrolides, Clindamycin, Chloramphenicol, Streptogramins, & Oxazolidinones**. [s.l.: s.n.].

DEFOORT, E. N.; KIM, P. M.; WINN, L. M. Valproic Acid Increases Conservative Homologous Recombination Frequency and Reactive Oxygen Species Formation: A Potential Mechanism for Valproic Acid-Induced Neural Tube Defects. **Molecular Pharmacology**, v. 69, n. 4, p. 1304–1310, 18 jan. 2006.

DEKKERS, G. W. F. et al. Hormonal and psychological factors in nausea and vomiting during pregnancy. **Psychological Medicine**, p. 1–8, 30 jan. 2019.

DESOYE, G. The Human Placenta in Diabetes and Obesity: Friend or Foe? The 2017 Norbert Freinkel Award Lecture. **Diabetes Care**, v. 41, n. 7, p. 1362–1369, 22 jul. 2018.

DIANAT-MOGHADAM, H. et al. Cancer stem cells-emanated therapy resistance: Implications for liposomal drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 288, p. 62–83, 28 out. 2018.

DOLIN, C. D.; MEHTA-LEE, S. S. Placenta Increta After Cervical Conization. **Journal of Ultrasound in Medicine**, v. 37, n. 7, p. 1841–1843, jul. 2018.

DUARTE, L. DE B. et al. Distribution of Bupivacaine Enantiomers and Lidocaine and Its Metabolite in the Placental Intervillous Space and in the Different Maternal and Fetal Compartments in Term Pregnant Women. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 51, n. 2, p. 212–217, fev. 2011.

DZANIBE, S. et al. Reduced trans-placental transfer of group B Streptococcus surface protein antibodies in HIV-infected mother-newborn dyads. **Journal of Infectious Diseases**, v. 215, n. 3, p. jiw566, 8 dez. 2016.

DZIEKONSKI, M. et al. The effect of selective agonists of opioid receptors on in vitro secretion of steroid hormones by porcine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, v. 69, n. 5, out. 2018.

EMA, M.; GAMO, M.; HONDA, K. Developmental toxicity of engineered nanomaterials in rodents. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 299, p. 47–52, 15 maio 2016.

FDA/CDER/SBIA. Drugs in Pregnancy and Lactation: Improved Benefit-Risk Information. **Small Business and Industry Assistance Chronicles**, p. 2, 2015.

FEGHALI, M.; VENKATARAMANAN, R.; CARITIS, S. Pharmacokinetics of drugs in pregnancy. **Seminars in Perinatology**, v. 39, n. 7, p. 512–519, nov. 2015.

FILL MALFERTHEINER, S. et al. Birth management and fetal outcome in multiple gestation: analysis of 1.444 births. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 297, n. 1, p. 61–69, 10 jan. 2018.

FONG, C.-Y. et al. Nine-day-old human embryo cultured in vitro: a clue to the origins of embryonic stem cells. **Reproductive biomedicine online**, v. 9, n. 3, p. 321–5, set. 2004.

FRACCHIOLLA, N. S. et al. Acute myeloid leukemia and pregnancy: clinical experience from a single center and a review of the literature. **BMC Cancer**, v. 17, n. 1, p. 442, 23 dez. 2017.

FRANCHI, L. P. et al. In vitro effects of photodynamic therapy induced by chloroaluminum phthalocyanine nanoemulsion. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 16, p. 100–105, dez. 2016.

FRICKE-GALINDO, I. et al. Carbamazepine adverse drug reactions. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 11, n. 7, p. 705–718, 3 jul. 2018.

FU, H. et al. One-Step Preparation of Phenyl Boron-Modified Magnetic Mesoporous Silica for Selective Enrichment of cis-Diol-Containing Substances. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 603, 7 mar. 2018.

FUJITANI, T. et al. Comparison of fetal toxicity of various multi-wall carbon nanotubes in mice. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 1404–1408, 2015.

FURUKAWA, S.; TSUJI, N.; SUGIYAMA, A. Morphology and physiology of rat placenta for toxicological evaluation. **Journal of Toxicologic Pathology**, v. 32, n. 1, p. 1–17, jan. 2019.

GALLEGO, M. J. et al. The pregnancy hormones human chorionic gonadotropin and progesterone induce human embryonic stem cell proliferation and differentiation into neuroectodermal rosettes. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 1, n. 4, p. 28, 13 set. 2010.

GAMMON, J. M.; DOLD, N. M.; JEWELL, C. M. Improving the clinical impact of biomaterials in cancer immunotherapy. **Oncotarget**, v. 7, n. 13, p. 15421–43, 29 mar. 2016.

GIBBINS, K. J. et al. Placenta previa and maternal hemorrhagic morbidity. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 31, n. 4, p. 494–499, 16 fev. 2018.

GLANC, P. et al. ACR Appropriateness Criteria® Multiple Gestations. **Journal of the American College of Radiology**, v. 14, n. 11, p. S476–S489, nov. 2017.

GOMES FERNANDES, M. et al. Characterization of migratory primordial germ cells in the aorta-gonad-mesonephros of a 4.5-week-old human embryo: a toolbox to evaluate in vitro early gametogenesis. **MHR: Basic science of reproductive medicine**, v. 24, n. 5, p. 233–243, 1 maio 2018.

GOONEWARDENE, M.; SHEHATA, M.; HAMAD, A. Anaemia in pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 26, n. 1, p. 3–24, fev. 2012.

GRAND VIEW RESEARCH. **Nanomedicine Market Size Worth \$350.8 Billion By 2025 | CAGR: 11.2%**. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-nanomedicine-market>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

GRANDIN, F. C. et al. Is bisphenol S a safer alternative to bisphenol A in terms of potential fetal exposure? Placental transfer across the perfused human placenta. **Chemosphere**, v. 221, p. 471–478, 10 abr. 2019.

GREEN, C. H. Technetium-99m production issues in the United Kingdom. **Journal of medical physics**, v. 37, n. 2, p. 66–71, abr. 2012.

GRIFFITHS, S. K.; CAMPBELL, J. P. Placental structure, function and drug transfer. **Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain**, v. 15, n. 2, p. 84–89, 1 abr. 2015.

GRØNNESTAD, R. et al. Maternal transfer of perfluoroalkyl substances in hooded seals. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 3, p. 763–770, mar. 2017.

GROTZ, E. et al. Nanotechnology in Tuberculosis: State of the Art and the Challenges Ahead. **Pharmaceutical Research**, v. 35, n. 11, p. 213, 20 nov. 2018.

GU, Z. et al. Nanotechnology-mediated immunochemotherapy combined with docetaxel and PD-L1 antibody increase therapeutic effects and decrease systemic toxicity. **Journal of Controlled Release**, v. 286, p. 369–380, 28 set. 2018.

GUENOT, C. et al. Placental mesenchymal dysplasia: An underdiagnosed placental pathology with various clinical outcomes. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 234, p. 155–164, 17 mar. 2019.

HAAS, D. et al. Nifedipine Pharmacokinetics Are Influenced by CYP3A5 Genotype When Used as a Preterm Labor Tocolytic. **American Journal of Perinatology**, v. 30, n. 04, p. 275–282, 8 ago. 2012.

HADDAD, A. et al. Postpartum Treatment of a Herniation of the Anterior Uterine Wall due to Remains of Placenta Increta. **Case Reports in Obstetrics and Gynecology**, v. 2018, p. 1–6, 30 out. 2018.

HALPERN, D. G. et al. Use of Medication for Cardiovascular Disease During Pregnancy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 73, n. 4, p. 457–476, 5 fev. 2019.

HAWKINS, S. J. et al. Nanoparticle-induced neuronal toxicity across placental barriers is mediated by autophagy and dependent on astrocytes. **Nature Nanotechnology**, v. 13, n. 5, p. 427–433, 2 maio 2018.

HEEREN, A. et al. Development of the follicular basement membrane during human gametogenesis and early folliculogenesis. **BMC Developmental Biology**, v. 15, n. 1, p. 4, 21 jan. 2015.

HEIKKINEN, E. M. et al. Foetal Fentanyl Exposure and Ion Trapping after Intravenous and Transdermal Administration to the Ewe. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 120, n. 2, p. 195–198, fev. 2017.

HENDERSON, E.; MACKILLOP, L. Prescribing in pregnancy and during breast feeding: using principles in clinical practice. **Postgraduate Medical Journal**, v. 87, n. 1027, p. 349–354, 1 maio 2011.

HO, D. et al. Maternal-placental-fetal biodistribution of multimodal polymeric nanoparticles in a pregnant rat model in mid and late gestation. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 2866, 6 dez. 2017.

HOU, X. et al. Imaging study of using radiopharmaceuticals labeled with cyclotron-produced ^{99m}Tc. **Physics in Medicine and Biology**, v. 61, n. 23, p. 8199–8213, 7 dez. 2016.

HU, L. et al. Propofol in combination with remifentanyl for cesarean section: Placental transfer and effect on mothers and newborns at different induction to delivery intervals. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 4, p. 521–526, ago. 2017.

HUANG, Z. et al. Metabolomics reveals the role of acetyl-L-carnitine metabolism in γ -Fe₂O₃ NP-induced embryonic development toxicity *via* mitochondria damage. **Nanotoxicology**, p. 1–17, 21 jan. 2019.

HURST, M. N.; DELONG, R. K. Two-Dimensional Fluorescence Difference Spectroscopy to Characterize Nanoparticles and their Interactions. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 33287, 14 dez. 2016.

HUSSAIN, A. et al. Nanomedicines as Drug Delivery Carriers of Anti-Tubercular Drugs: From Pathogenesis to Infection Control. **Current Drug Delivery**, v. 16, 1 fev. 2019.

HUSSEIN, A. M. et al. Modified cesarean hysterectomy technique for management of cases of placenta increta and percreta at a tertiary referral hospital in Egypt. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, 4 jan. 2019.

ILACQUA, A. et al. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on male fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 16, n. 1, p. 115, 26 dez. 2018.

IMMANUEL, J.; SIMMONS, D. A Perspective on the Accuracy of Blood Glucose Meters During Pregnancy. **Diabetes Care**, v. 41, n. 10, p. 2053–2058, 20 out. 2018.

IMPERIO, G. E. et al. Gestational age-dependent gene expression profiling of ATP-binding cassette transporters in the healthy human placenta. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 23, n. 1, p. 610–618, jan. 2019.

IQBAL, J. et al. Nanomedicines for developing cancer nanotherapeutics: from benchtop to bedside and beyond. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 22, p. 9449–9470, 15 nov. 2018.

ISHIBASHI, H. et al. Response to Correspondence: Marginal sinus placenta previa is a different entity in placenta previa: A retrospective study using magnetic resonance imaging. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 57, n. 6, p. 910, dez. 2018.

ISHIGURO, Y. et al. Valproic acid transport in the choriocarcinoma placenta cell line JEG-3 proceeds independently of the proton-dependent transporters MCT1 and MCT4. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 33, n. 6, p. 270–274, dez. 2018.

ISHIHARA-HATTORI, K.; BARROW, P. Review of embryo-fetal developmental toxicity studies performed for recent FDA-approved pharmaceuticals. **Reproductive Toxicology**, v. 64, p. 98–104, set. 2016.

ITO, S. Mother and Child: Medication Use in Pregnancy and Lactation. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 100, n. 1, p. 8–11, jul. 2016.

JALILIAN, A. R. et al. Production and Clinical Applications of Radiopharmaceuticals and Medical Radioisotopes in Iran. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 46, n. 4, p. 340–358, jul. 2016.

JAMES, J. L. et al. Trophoblast plugs: impact on utero-placental haemodynamics and spiral artery remodelling. **Human Reproduction**, v. 33, n. 8, p. 1430–1441, 1 ago. 2018.

JEANNOT, V. et al. Targeting CD44 receptor-positive lung tumors using polysaccharide-based nanocarriers: Influence of nanoparticle size and administration route. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 12, n. 4, p. 921–932, maio 2016.

JEONG, Y. et al. Placental transfer of persistent organic pollutants and feasibility using the placenta as a non-invasive biomonitoring matrix. **Science of The Total Environment**, v. 612, p. 1498–1505, 15 jan. 2018.

JOGIRAJU, V. K. et al. Application of physiologically based pharmacokinetic modeling to predict drug disposition in pregnant populations. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 38, n. 7, p. 426–438, out. 2017.

KACHUEE, R. et al. Effects of Sodium Selenite, L-Selenomethionine, and Selenium Nanoparticles During Late Pregnancy on Selenium, Zinc, Copper, and Iron Concentrations in Khalkhali Goats and Their Kids. **Biological Trace Element Research**, 2 jan. 2019.

KALANGI, S. K. et al. Synthesis, Characterization, and Biodistribution of Quantum Dot-Celecoxib Conjugate in Mouse Paw Edema Model. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–8, 2018.

KANNAN, R. M. et al. Emerging concepts in dendrimer-based nanomedicine: from design principles to clinical applications. **Journal of Internal Medicine**, v. 276, n. 6, p. 579–617, dez. 2014.

KARAHODA, R.; CECKOVA, M.; STAUD, F. The inhibitory effect of antiretroviral drugs on the L-carnitine uptake in human placenta. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 5 fev. 2019.

KARIMPOUR, M. et al. Development of curcumin-loaded gemini surfactant nanoparticles: Synthesis, characterization and evaluation of anticancer activity against human breast cancer cell lines. **Phytomedicine**, v. 57, p. 183–190, 15 abr. 2019.

KAUFMAN, C.; TADROS, A. Endovascular Interventions for the Morbidly Adherent Placenta. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 5, p. 92, 1 maio 2018.

KEITH L. MOORE. **Embriologia Básica - Moore 8 ed.** [s.l: s.n.].

KER, C.-R.; LONG, C.-Y.; SHEN, C.-J. Placenta increta after high-intensity-focused ultrasound for the treatment of a uterine leiomyoma. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 219, n. 1, p. 115–116, jul. 2018.

KEY, J. et al. Multicomponent, peptide-targeted glycol chitosan nanoparticles containing ferrimagnetic iron oxide nanocubes for bladder cancer multimodal imaging. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 11, p. 4141–4155, ago. 2016.

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, 3 jul. 2017.

KHALIL, M. M. et al. Molecular SPECT Imaging: An Overview. **International journal of molecular imaging**, v. 2011, p. 796025, 5 abr. 2011.

KHEIRKHAH, P. et al. Magnetic Drug Targeting: A Novel Treatment for Intramedullary Spinal Cord Tumors. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 11417, 30 dez. 2018.

KHODABANDEHLOO, H.; ZAHEDNASAB, H.; ASHRAFI HAFEZ, A. Nanocarriers Usage for Drug Delivery in Cancer Therapy. **Iranian journal of cancer prevention**, v. 9, n. 2, p. e3966, abr. 2016.

KO, H. S. et al. Multiple birth rates of Korea and fetal/neonatal/infant mortality in multiple gestation. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0202318, 15 ago. 2018.

KORANI, S. et al. Application of nanotechnology to improve the therapeutic benefits of statins. **Drug Discovery Today**, 5 out. 2018.

KOREN, G.; BERKOVITCH, M.; ORNOY, A. Dose-Dependent Teratology in Humans: Clinical Implications for Prevention. **Pediatric Drugs**, v. 20, n. 4, p. 331–335, 4 ago. 2018.

KOREN, G.; ORNOY, A. The role of the placenta in drug transport and fetal drug exposure. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 11, n. 4, p. 373–385, 3 abr. 2018.

KRAEMER, J. et al. Perfusion studies of glyburide transfer across the human placenta: Implications for fetal safety. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 195, n. 1, p. 270–274, jul. 2006.

KUNA, M. et al. Polymer size affects biodistribution and placental accumulation of the drug delivery biopolymer elastin-like polypeptide in a rodent pregnancy model. **Placenta**, v. 72–73, p. 20–27, dez. 2018.

LADJU, R. B. et al. Aptamer: A potential oligonucleotide nanomedicine in the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. **Oncotarget**, v. 9, n. 2, p. 2951–2961, 5 jan. 2018.

LANGER, O. et al. A Comparison of Glyburide and Insulin in Women with Gestational Diabetes Mellitus. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 16, p. 1134–1138, 19 out. 2000.

LEE, J. S. et al. Placenta-on-a-chip: a novel platform to study the biology of the human placenta. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 29, n. 7, p. 1046–1054, 2 abr. 2016.

LEVIN, G. et al. An unusual case of placenta increta in a Carnitine palmitoyltransferase deficiency carrier. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 225, p. 265, jun. 2018.

LEWIS, R. M.; CHILDS, C. E.; CALDER, P. C. New perspectives on placental fatty acid transfer. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 138, p. 24–29, nov. 2018.

LI, D. et al. Rational synthesis of hierarchical magnetic mesoporous silica microspheres with tunable mesochannels for enhanced enzyme immobilization. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 53, n. 63, p. 8902–8905, 3 ago. 2017.

LI, E. et al. Multifunctional Magnetic Mesoporous Silica Nanoagents for *in vivo* Enzyme-Responsive Drug Delivery and MR Imaging. **Nanotheranostics**, v. 2, n. 3, p. 233–242, 2018.

LI, H. et al. Synthesis and cytotoxicity of selenium nanoparticles stabilized by α -D-glucan from *Castanea mollissima* Blume. **International Journal of Biological Macromolecules**, 15 fev. 2019.

LIAO, S. M. Designing humans: A human rights approach. **Bioethics**, v. 33, n. 1, p. 98–104, jan. 2019.

LIGIERO, T. B. et al. Diagnosing gastrointestinal stromal tumours by single photon emission computed tomography using nano-radiopharmaceuticals based on bevacizumab monoclonal antibody. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 2, n. 4, p. 045017, 12 ago. 2016.

LIU, J.; LIU, Z.; WU, D. Multifunctional hypoxia imaging nanoparticles: multifunctional tumor imaging and related guided tumor therapy. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 14, p. 707–719, jan. 2019.

LIU, X. et al. Intrauterine administration of human chorionic gonadotropin improves the live birth rates of patients with repeated implantation failure in frozen-thawed blastocyst transfer cycles by increasing the percentage of peripheral regulatory T cells. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, 19 jan. 2019.

LOFTHOUSE, E. M. et al. Phenylalanine transfer across the isolated perfused human placenta: an experimental and modeling investigation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 310, n. 9, p. R828–R836, 1 maio 2016.

LU, M. Bioresponsive-controlled release of methylene blue from magnetic mesoporous silica from the electrochemical detection of telomerase activity. **The Analyst**, v. 142, n. 18, p. 3477–3483, 8 set. 2017.

LUFFER-ATLAS, D. et al. PDGFR α monoclonal antibody: Assessment of embryo-fetal toxicity and time-dependent placental transfer of a murine surrogate antibody of olaratumab in mice. **Birth Defects Research**, v. 110, n. 18, p. 1358–1371, 1 nov. 2018.

LUJAN, H.; SAYES, C. M. Cytotoxicological pathways induced after nanoparticle exposure: studies of oxidative stress at the “nano-bio” interface. **Toxicology research**, v. 6, n. 5, p. 580–594, 1 set. 2017.

MACCHIAVERNI, P. et al. Early Exposure to Respiratory Allergens by Placental Transfer and Breastfeeding. **PLOS ONE**, v. 10, n. 9, p. e0139064, 23 set. 2015.

MALM, H.; ELLFOLK, M. Which drugs can be used during pregnancy? **Duodecim; laaketieteellinen aikakauskirja**, v. 132, n. 19, p. 1781–9, [s.d.].

MALYSHEVA, A.; LOMBI, E.; VOELCKER, N. H. Bridging the divide between human and environmental nanotoxicology. **Nature Nanotechnology**, v. 10, n. 10, p. 835–844, 6 out. 2015.

MANAGULI, R. S. et al. Targeting the intestinal lymphatic system: a versatile path for enhanced oral bioavailability of drugs. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 15, n. 8, p. 787–804, 3 ago. 2018.

MANSOUR, S.; BAPLE, E.; HALL, C. M. A clinical review and introduction of the diagnostic algorithm for thalidomide embryopathy (DATE). **Journal of Hand Surgery (European Volume)**, v. 44, n. 1, p. 96–108, 25 jan. 2019.

MANSOUR, Y. et al. Auditory Brainstem Dysfunction, Non-Invasive Biomarkers for Early Diagnosis and Monitoring of Alzheimer's Disease in Young Urban Residents Exposed to Air Pollution. **Journal of Alzheimer's Disease**, p. 1–9, 2 fev. 2019.

MANTAKAS, X. et al. Placenta and Umbilical Cord Cause in Antepartum Deaths. **Cureus**, v. 10, n. 11, p. e3556, 7 nov. 2018.

MAO, Z. et al. Exposure to Titanium Dioxide Nanoparticles During Pregnancy Changed Maternal Gut Microbiota and Increased Blood Glucose of Rat. **Nanoscale Research Letters**, v. 14, n. 1, p. 26, 17 dez. 2019.

MARANDA, V.; SUNSTRUM, F. G.; DROUIN, G. Both male and female gamete generating cells produce processed pseudogenes in the human genome. **Gene**, v. 684, p. 70–75, 5 fev. 2019.

MÁRCIO LEAL HORTA, TSA, I. P. L. Passagem Transplacentária e Efeitos Embriofetais de Drogas Usadas em Anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, p. 101–113, 2002.

MARCUS, C. S. How Should the FDA Review Diagnostic Radiopharmaceuticals? **Journal of Nuclear Medicine**, v. 59, n. 6, p. 868–870, jun. 2018.

MARELLA, S.; TOLLAMADUGU, N. V. K. V. P. Nanotechnological approaches for the development of herbal drugs in treatment of diabetes mellitus – a critical review. **IET Nanobiotechnology**, v. 12, n. 5, p. 549–556, 1 ago. 2018.

MARIETTE, X. et al. Lack of placental transfer of certolizumab pegol during pregnancy: results from CRIB, a prospective, postmarketing, pharmacokinetic study. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 77, n. 2, p. 228–233, fev. 2018.

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, R.; ESTELRICH, J.; BUSQUETS, M. A. Liposomes Loaded with Hydrophobic Iron Oxide Nanoparticles: Suitable T₂ Contrast Agents for MRI. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 8, 27 jul. 2016.

MATSUBARA, S.; BABA, Y.; TAKAHASHI, H. Placenta previa and hemorrhage: the placental location may be an important determinant of the bleeding amount. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 31, n. 10, p. 1390–1391, 19 maio 2018.

MATSUBARA, S.; TAKAHASHI, H.; USUI, R. Letter to ‘Retrospective analysis: Conservative treatment of placenta increta with methotrexate’: Some clarifications. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 44, n. 8, p. 1499–1500, ago. 2018.

MAURER-SPUREJ, E.; CHIPPERFIELD, K. Could Microparticles Be the Universal Quality Indicator for Platelet Viability and Function? **Journal of Blood Transfusion**, v. 2016, p. 1–11, 2016.

MAYNE, R.; WHITING, J.; ADAMATZKY, A. Toxicity and Applications of Internalised Magnetite Nanoparticles Within Live Paramecium caudatum Cells. **BioNanoScience**, v. 8, n. 1, p. 90–94, 22 mar. 2018.

MILLER, M. R. et al. Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease. **ACS Nano**, v. 11, n. 5, p. 4542–4552, 23 maio 2017.

MIN, H. S. et al. Chemical gas-generating nanoparticles for tumor-targeted ultrasound imaging and ultrasound-triggered drug delivery. **Biomaterials**, v. 108, p. 57–70, nov. 2016.

MISHRA, H. et al. Melanoma treatment: from conventional to nanotechnology. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 144, n. 12, p. 2283–2302, 9 dez. 2018.

MOHR—SASSON, A. et al. Ovarian reserve after uterine artery embolization in women with morbidly adherent placenta: A cohort study. **PLOS ONE**, v. 13, n. 11, p. e0208139, 29 nov. 2018.

MOISÉS, E. C. D. et al. Pharmacokinetics and transplacental distribution of fentanyl in epidural anesthesia for normal pregnant women. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 61, n. 7, p. 517–522, 15 ago. 2005.

MORFAW, F. et al. Using tocolysis in pregnant women with symptomatic placenta praevia does not significantly improve prenatal, perinatal, neonatal and maternal outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Systematic Reviews**, v. 7, n. 1, p. 249, 27 dez. 2018.

MORISHIMA, H. O. et al. Disposition of bupivacaine and its metabolites in the maternal, placental, and fetal compartments in rats. **Anesthesiology**, v. 93, n. 4, p. 1069–74, out. 2000.

MOSEGUI, G. B. G. Estudos de utilização de medicamentos: noções básicas. p. 94, 2010.

MOUSAVI, S. M. et al. Applications of graphene oxide in case of nanomedicines and nanocarriers for biomolecules: review study. **Drug Metabolism Reviews**, p. 1–30, 11 fev. 2019.

MULLER, A. E. et al. Pharmacokinetics of clindamycin in pregnant women in the peripartum period. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 5, p. 2175–81, maio 2010.

MUOTH, C. et al. Nanoparticle transport across the placental barrier: pushing the field forward! **Nanomedicine**, v. 11, n. 8, p. 941–957, abr. 2016.

MUTER, J. et al. The Glycosyltransferase EOGT Regulates Adropin Expression in Decidualizing Human Endometrium. **Endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 994–1004, 1 fev. 2018.

NADIMI, A. E. et al. Nano-scale drug delivery systems for antiarrhythmic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 1153–1163, 5 set. 2018.

NAGESETTI, A.; MCGORON, A. J. Multifunctional organically modified silica nanoparticles for chemotherapy, adjuvant hyperthermia and near infrared imaging. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 147, p. 492–500, 1 nov. 2016.

NGALA, R. A. et al. Placental peptides metabolism and maternal factors as predictors of risk of gestational diabetes in pregnant women. A case-control study. **PLOS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0181613, 21 jul. 2017.

NILES, A. M. et al. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin 7 days after artificial insemination or at the time of embryo transfer on reproductive outcomes in nulliparous Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, 25 jan. 2019.

NISHIGUCHI, A. et al. In vitro placenta barrier model using primary human trophoblasts, underlying connective tissue and vascular endothelium. **Biomaterials**, v. 192, p. 140–148, 25 fev. 2019.

NITIPIR, C. et al. Update on radionuclide therapy in oncology (Review). **Oncology Letters**, v. 14, n. 6, p. 7011–7015, 5 out. 2017.

NITSCHKE, J. et al. Transplacental Passage of Acetaminophen in Term Pregnancy. **American Journal of Perinatology**, v. 34, n. 06, p. 541–543, 2 nov. 2016.

NOGUES, P. et al. Maternal obesity influences expression and DNA methylation of the adiponectin and leptin systems in human third-trimester placenta. **Clinical Epigenetics**, v. 11, n. 1, p. 20, 7 dez. 2019.

O'CONNOR, M. Medicinal Cannabis in Pregnancy - Panacea or Noxious Weed? **Journal of law and medicine**, v. 25, n. 3, p. 634–646, abr. 2018.

OBBERG, A. S. et al. Pregnancy complications following fertility treatment—disentangling the role of multiple gestation. **International Journal of Epidemiology**, v. 47, n. 4, p. 1333–1342, 1 ago. 2018.

ODALOVIC, M. et al. Predictors of the use of medications before and during pregnancy. **International Journal of Clinical Pharmacy**, v. 35, n. 3, p. 408–416, 7 jun. 2013.

OKADA, H.; TSUZUKI, T.; MURATA, H. Decidualization of the human endometrium. **Reproductive Medicine and Biology**, v. 17, n. 3, p. 220–227, jul. 2018.

OSORIO-DE-CASTRO, C. G. S.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; SILVER, L. D. O uso de medicamentos na gravidez. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 9, n. 4, p. 987–996, dez. 2004.

OZDEMIRCI, S. et al. Effect of the delivery way and number of parity in the subsequent incidence of placenta previa. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1–6, 22 jan. 2019.

ÖZTÜRK, Z. et al. Birth outcomes after inadvertent use of category x drugs contraindicated in pregnancy: where is the real risk? **The Turkish Journal of Pediatrics**, v. 60, n. 3, p. 298, 2018.

PAN, Y. et al. Novel Chlorinated Polyfluorinated Ether Sulfonates and Legacy Per-/Polyfluoroalkyl Substances: Placental Transfer and Relationship with Serum Albumin and Glomerular Filtration Rate. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 1, p. 634–644, 3 jan. 2017.

PAPARINI, D. E. et al. Vasoactive Intestinal Peptide shapes first trimester placenta trophoblast, vascular and immune cell cooperation. **British Journal of Pharmacology**, p. bph.14609, 6 fev. 2019.

PARIENTE, G. et al. Pregnancy-Associated Changes in Pharmacokinetics: A Systematic Review. **PLOS Medicine**, v. 13, n. 11, p. e1002160, 1 nov. 2016.

PATRA, J. K. et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 71, 19 dez. 2018.

PENG, Z. et al. Prophylactic abdominal aortic balloon occlusion: An effective method of controlling hemorrhage in patients with placenta previa or accreta. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 17, n. 2, p. 1492–1496, 6 dez. 2018.

PERAZZOLO, S. et al. The influence of placental metabolism on fatty acid transfer to the fetus. **Journal of Lipid Research**, v. 58, n. 2, p. 443–454, fev. 2017.

PERRIERA, L. K.; ARSLAN, A. A.; MASCH, R. Placenta praevia and the risk of adverse outcomes during second trimester abortion: A retrospective cohort study. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 57, n. 1, p. 99–104, fev. 2017.

PINTO, S. R. et al. Cytotoxicity , genotoxicity , transplacental transfer and tissue disposition in pregnant rats mediated by nanoparticles : the case of magnetic core mesoporous silica nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 0, n. 0, p. 1–12, 2018a.

PINTO, S. R. et al. Adverse Reactions to Radiopharmaceuticals. **Therapeutic Innovation & Regulatory Science**, v. 52, n. 1, p. 109–113, 30 jan. 2018b.

PISANI, C. et al. Biocompatibility assessment of functionalized magnetic mesoporous silica nanoparticles in human HepaRG cells. **Nanotoxicology**, v. 11, n. 7, p. 871–890, 9 ago. 2017.

PONTICELLI, C.; MORONI, G. Fetal Toxicity of Immunosuppressive Drugs in Pregnancy. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 12, p. 552, 15 dez. 2018.

PORTILHO, F. L. et al. Magnetic core mesoporous silica nanoparticles doped with dacarbazine and labelled with ^{99m}Tc for early and differential detection of metastatic melanoma by single photon emission computed tomography. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2018a.

PORTILHO, F. L. et al. In loco retention effect of magnetic core mesoporous silica nanoparticles doped with trastuzumab as intralesional nanodrug for breast cancer. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology An International Journal**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2018b.

PRADILLO, M.; SANTOS, J. L. Genes involved in miRNA biogenesis affect meiosis and fertility. **Chromosome Research**, 20 out. 2018.

PRASAD, M. et al. Nanotherapeutics: An insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 1521–1537, jan. 2018.

PRATESI, S. et al. Placental Circulation Intact Trial (PCI-T)—Resuscitation With the Placental Circulation Intact vs. Cord Milking for Very Preterm Infants: A Feasibility Study. **Frontiers in Pediatrics**, v. 6, p. 364, 27 nov. 2018.

QIAO, L. et al. Mass Fractions, Congener Group Patterns, and Placental Transfer of Short- and Medium-Chain Chlorinated Paraffins in Paired Maternal and Cord Serum. **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 17, p. 10097–10103, 4 set. 2018.

RAMANATHAN, S. et al. Theranostic applications of nanoparticles in neurodegenerative disorders. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 13, p. 5561–5576, set. 2018.

RAMOS-IBEAS, P. et al. Embryo responses to stress induced by assisted reproductive technologies. **Molecular Reproduction and Development**, p. mrd.23119, 4 fev. 2019.

RAU, J. V.; DE SANTIS, R.; CIOFANI, G. Exploring challenges ahead of nanotechnology for biomedicine. **Bioactive Materials**, v. 2, n. 3, p. 119–120, set. 2017.

RAVANSHAD, R. et al. Application of nanoparticles in cancer detection by Raman scattering based techniques. **Nano Reviews & Experiments**, v. 9, n. 1, p. 1373551, 19 jan. 2018.

REDLINE, R. W. Classification of placental lesions. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 213, n. 4, p. S21–S28, out. 2015.

REMIÃO, M. H. et al. The Potential of Nanotechnology in Medically Assisted Reproduction. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 994, 11 jan. 2018.

RIBEIRO, R. M. P. et al. Lopinavir/ritonavir treatment increases the placental transfer of bupivacaine enantiomers in human immunodeficiency virus-infected pregnant women. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 84, n. 10, p. 2415–2421, out. 2018.

ROSADO-YÉPEZ, P. I. et al. Relation between pregestational obesity and characteristics of the placenta. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1–6, 31 jan. 2019.

SACHDEVA, P.; PATEL, B. G.; PATEL, B. K. Drug use in pregnancy; a point to ponder! **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 71, n. 1, p. 1–7, jan. 2009.

SAIDI, T.; FORTUIN, J.; DOUGLAS, T. S. Nanomedicine for drug delivery in South Africa: a protocol for systematic review. **Systematic Reviews**, v. 7, n. 1, p. 154, 6 dez. 2018.

SAKAMOTO, M. et al. Placental transfer and levels of mercury, selenium, vitamin E, and docosahexaenoic acid in maternal and umbilical cord blood. **Environment International**, v. 111, p. 309–315, fev. 2018.

SAKHTIANCHI, R. et al. Pegylated magnetic mesoporous silica nanoparticles decorated with AS1411 Aptamer as a targeting delivery system for cytotoxic agents. **Pharmaceutical Development and Technology**, p. 1–36, 18 jan. 2019.

SALAZAR, V. et al. Dengue and Zika Virus Cross-Reactive Human Monoclonal Antibodies Protect against Spondweni Virus Infection and Pathogenesis in Mice. **Cell Reports**, v. 26, n. 6, p. 1585–1597.e4, 5 fev. 2019.

SALEH, A. et al. Integrated genomic and functional microRNA analysis identifies miR-30-5p as a tumor suppressor and potential therapeutic nanomedicine in head and neck cancer. **Clinical Cancer Research**, p. clincanres.0716.2018, 5 fev. 2019.

SALVI, R. et al. Diagnosing lung cancer using etoposide microparticles labeled with ^{99m}Tc . **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. 2, p. 341–345, 2018.

SARWAL, A. et al. Recent interventions for nanotechnology based drug products: Insights in the regulatory aspects. **Current Pharmaceutical Design**, v. 25, 17 jan. 2019.

SATHANANTHAN, A. H. Mitosis in the human embryo: the vital role of the sperm centrosome (centriole). **Histology and histopathology**, v. 12, n. 3, p. 827–56, jul. 1997.

SCHALKWIJK, S. et al. Prediction of Fetal Darunavir Exposure by Integrating Human Ex-Vivo Placental Transfer and Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 57, n. 6, p. 705–716, 25 jun. 2018.

SCHJOLDAGER, B. T. B. G. et al. Topical application of recombinant activated factor VII during cesarean delivery for placenta previa. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 216, n. 6, p. 608.e1-608.e5, jun. 2017.

SCHORZMAN, A. N. et al. Methods and Study Designs for Characterizing the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Carrier-Mediated Agents. In: **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**. [s.l.: s.n.]. v. 1831p. 201–228.

SCHULTZ, A. H. et al. Effect of congenital heart disease on 4-year neurodevelopment within multiple-gestation births. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 154, n. 1, p. 273–281.e2, jul. 2017.

SCHUURMAN, T. N. et al. Tamoxifen and pregnancy: an absolute contraindication? **Breast Cancer Research and Treatment**, 1 fev. 2019.

SEFEROVIC, M. D. et al. Clinical Importance of Placental Testing among Suspected Cases of Congenital Zika Syndrome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 3, p. 712, 7 fev. 2019.

SELVAM, R. et al. Molecular encapsulator–appended poly(vinyl alcohol) shroud on ferrite nanoparticles. Augmented cancer–drug loading and anticancer property. **Materials Science and Engineering: C**, v. 93, p. 125–133, 1 dez. 2018.

SHALLIE, P. D.; NAICKER, T. The placenta as a window to the brain: A review on the role of placental markers in prenatal programming of neurodevelopment. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 73, p. 41–49, 8 abr. 2019.

SHANMUGANATHAN, R. et al. Chitosan nanopolymers: An overview of drug delivery against cancer. **International Journal of Biological Macromolecules**, 13 fev. 2019.

SHAO, D. et al. The shape effect of magnetic mesoporous silica nanoparticles on endocytosis, biocompatibility and biodistribution. **Acta Biomaterialia**, v. 49, p. 531–540, fev. 2017.

SHARMA, M. et al. Cancer Nanotechnology - An Excursion on Drug Delivery Systems. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 18, 20 jul. 2018.

SHIOZAKI, A. et al. Treatment of patients with aortic atherosclerotic disease with paclitaxel-associated lipid nanoparticles. **Clinics**, v. 71, n. 8, p. 435–439, 3 ago. 2016.

SHIVALLI, S. Comment on “Effects of Yoga on Utero-Fetal-Placental Circulation in High-Risk Pregnancy: A Randomized Controlled Trial”. **Advances in Preventive Medicine**, v. 2015, p. 1–1, 2015.

SIBLEY, C. P. et al. Knowledge needed about the exchange physiology of the placenta. **Placenta**, v. 64, p. S9–S15, abr. 2018.

SINGH, K. P.; GUPTA, K. Teratogenic Effects of Third-generation Antiepileptic Drug, Pregabalin: An In vivo Study. **Current Drug Safety**, v. 13, n. 2, p. 113–121, 12 jun. 2018.

SINGH, P. et al. Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 1979, 6 jul. 2018.

SIVASUBRAMANIAN, M.; CHUANG, Y.; LO, L.-W. Evolution of Nanoparticle-Mediated Photodynamic Therapy: From Superficial to Deep-Seated Cancers. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 520, 31 jan. 2019.

SOMSUAN, K. et al. Increased DMT-1 expression in placentas of women living in high-Cd-contaminated areas of Thailand. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 1, p. 141–151, 1 jan. 2019.

SOUZA, M. C. O. et al. Analysis of bupivacaine enantiomers in plasma as total and unbound concentrations using LC-MS/MS: Application in a pharmacokinetic study of a parturient with placental transfer. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 164, p. 268–275, 5 fev. 2019.

STANLEY, C.; BAILLARGEON, A.; SELK, A. Understanding Placentophagy. **Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing**, v. 48, n. 1, p. 37–49, 26 jan. 2019.

SULUKHIA, R. et al. PATHOLOGICAL ADHERENCE OF PLACENTA - CASE REPORTS. **Georgian medical news**, n. 268–269, p. 76–80, [s.d.].

SUN, Z. et al. Self-assembled silk fibroin nanoparticles loaded with binary drugs in the treatment of breast carcinoma. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 11, p. 4373–4380, set. 2016.

SZUKIEWICZ, D. et al. Anti-inflammatory Action of Metformin with Respect to CX3CL1/CX3CR1 Signaling in Human Placental Circulation in Normal-Glucose Versus High-Glucose Environments. **Inflammation**, v. 41, n. 6, p. 2246–2264, 10 dez. 2018.

T.W.SADLER. **Langman - Embriologia Médica**. 13^o ed. [s.l.: s.n.]. v. 91

TABATABAEI, S. N. et al. Co-delivery of miR-181a and melphalan by lipid nanoparticles for treatment of seeded retinoblastoma. **Journal of Controlled Release**, 15 fev. 2019.

TABUCHI, T. M. et al. Caenorhabditis elegans sperm carry a histone-based epigenetic memory of both spermatogenesis and oogenesis. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 4310, 17 dez. 2018.

TAKEDA, J. et al. Enclosing sutures technique for control of local bleeding in a case of placenta increta. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 44, n. 8, p. 1472–1475, ago. 2018.

TAN, Y. et al. Correction to: Surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum based on gold nanoparticles for the diagnosis of the oral squamous cell carcinoma. **Lipids in Health and Disease**, v. 18, n. 1, p. 51, 13 dez. 2019.

TANAKA, S. et al. Prediction of sustained fetal toxicity induced by ketoprofen based on PK/PD analysis using human placental perfusion and rat toxicity data. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, n. 11, p. 2503–2516, nov. 2017.

TANG, X. et al. pH-Responsive Magnetic Mesoporous Silica-Based NanoplatforM for Synergistic Photodynamic Therapy/Chemotherapy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 17, p. 15001–15011, 2 maio 2018.

TARUI, H. et al. Species differences in the developmental toxicity of procymidone—Placental transfer of procymidone in pregnant rats, rabbits, and monkeys—. **Journal of Pesticide Science**, v. 43, n. 2, p. 79–87, 17 maio 2018.

TERÁN-NAVARRO, H. et al. Pre-clinical development of *Listeria* -based nanovaccines as immunotherapies for solid tumours: insights from melanoma. **OncoImmunology**, v. 8, n. 2, p. e1541534, 10 fev. 2019.

TERUEL, A. et al. Functional Magnetic Mesoporous Silica Microparticles Capped with an Azo-Derivative: A Promising Colon Drug Delivery Device. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 375, 10 fev. 2018.

THEUNISSEN, T. W.; JAENISCH, R. Mechanisms of gene regulation in human embryos and pluripotent stem cells. **Development**, v. 144, n. 24, p. 4496–4509, 15 dez. 2017.

THOENE, M. et al. Quantification of Lutein + Zeaxanthin Presence in Human Placenta and Correlations with Blood Levels and Maternal Dietary Intake. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 134, 10 jan. 2019.

TOMA, S. H. et al. Pushing the surface-enhanced Raman scattering analyses sensitivity by magnetic concentration: A simple non core–shell approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 855, p. 70–75, 15 jan. 2015.

TORRES-VERGARA, P.; ESCUDERO, C.; PENNY, J. Drug Transport at the Brain and Endothelial Dysfunction in Preeclampsia: Implications and Perspectives. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1502, 6 nov. 2018.

TURCO, M. Y. et al. Trophoblast organoids as a model for maternal–fetal interactions during human placentation. **Nature**, v. 564, n. 7735, p. 263–267, 28 dez. 2018.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **The Drug Development Process**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/forpatients/approvals/drugs/>>. Acesso em: 3 jan. 2019a.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **For Women - Medicine and Pregnancy**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/ForConsumers/ByAudience/ForWomen/ucm118567.htm>>. Acesso em: 3 jan. 2019b.

UGELE, B. et al. Characterization and identification of steroid sulfate transporters of human placenta. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 284, n. 2, p. E390–E398, fev. 2003.

UPPAL, S. et al. Nanoparticulate-based drug delivery systems for small molecule anti-diabetic drugs: An emerging paradigm for effective therapy. **Acta Biomaterialia**, v. 81, p. 20–42, nov. 2018.

UTKIN, Y. N. Brain and Quantum Dots: Benefits of Nanotechnology for Healthy and Diseased Brain. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 3, p. 193–205, 23 out. 2018.

VAILLANCOURT, C.; LAFOND, J. Human Embryogenesis: Overview. In: **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**. [s.l.: s.n.]. v. 550p. 3–7.

VALSAMI-JONES, E.; LYNCH, I. How safe are nanomaterials? **Science**, v. 350, n. 6259, p. 388–389, 23 out. 2015.

VEGA, M.; MAURO, M.; WILLIAMS, Z. Direct toxicity of insulin on the human placenta and protection by metformin. **Fertility and Sterility**, 14 jan. 2019.

VELOSO CAIXETA, A.; BINSFELD, P. C. Nanomedicamentos e Nanocarreadores de drogas para o uso terapêutico de Câncer. **PONTÍFICA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA**, p. 18, 2013.

VERNER, M.-A. et al. A Simple Pharmacokinetic Model of Prenatal and Postnatal Exposure to Perfluoroalkyl Substances (PFASs). **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 2, p. 978–986, 19 jan. 2016.

VERSMISSEN, J. et al. Doxazosin treatment of phaeochromocytoma during pregnancy: placental transfer and disposition in breast milk. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 82, n. 2, p. 568–569, ago. 2016.

VOUSDEN, N.; NATHAN, H. L.; SHENNAN, A. H. Innovations in vital signs measurement for the detection of hypertension and shock in pregnancy. **Reproductive Health**, v. 15, n. S1, p. 92, 22 jun. 2018.

WAN, L. et al. A Magnetic-Field Guided Interface Coassembly Approach to Magnetic Mesoporous Silica Nanochains for Osteoclast-Targeted Inhibition and Heterogeneous Nanocatalysis. **Advanced Materials**, v. 30, n. 25, p. 1707515, jun. 2018.

WANG, H. et al. Assessment of placental transfer and the effect on embryo-fetal development of a humanized monoclonal antibody targeting lymphotoxin-alpha in non-human primates. **Reproductive Toxicology**, v. 63, p. 82–95, ago. 2016.

WANG, H. et al. Nanoparticles of Metal-Organic Cages Overcoming Drug Resistance in Ovarian Cancer. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, p. 39, 1 fev. 2019.

WANG, Y. et al. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 11, n. 2, p. 313–327, 1 fev. 2015.

WANG, Z. et al. Synthesis of zwitterionic hydrophilic magnetic mesoporous silica materials for endogenous glycopeptide analysis in human saliva. **Nanoscale**, v. 10, n. 11, p. 5335–5341, 15 mar. 2018.

WEN, C.-Y. et al. Aptamer-functionalized magnetic and fluorescent nanospheres for one-step sensitive detection of thrombin. **Microchimica Acta**, v. 185, n. 1, p. 77, 22 jan. 2018.

WŁOCH, S.; PAŁASZ, A.; KAMIŃSKI, M. Active and passive transport of drugs in the human placenta. **Ginekologia polska**, v. 80, n. 10, p. 772–7, out. 2009.

XIE, L. et al. Preliminary experience in uterine artery embolization for second trimester pregnancy induced labor with complete placenta previa, placenta implantation, and pernicious placenta previa. **Clinical and experimental obstetrics & gynecology**, v. 44, n. 1, p. 81–84, 2017.

XIONG, F. et al. Obstetric and perinatal outcomes of pregnancies according to initial maternal serum HCG concentrations after vitrified–warmed single blastocyst transfer. **Reproductive BioMedicine Online**, 5 jan. 2019.

XU, L. et al. Graphene quantum dots in alveolar macrophage: uptake-exocytosis, accumulation in nuclei, nuclear responses and DNA cleavage. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 15, n. 1, p. 45, 13 dez. 2018.

XUAN, M. et al. Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticles Cloaked by Red Blood Cell Membranes: Applications in Cancer Therapy. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 57, n. 21, p. 6049–6053, 22 maio 2018.

XUN, S. et al. Magnetic mesoporous nanospheres supported phosphomolybdate-based ionic liquid for aerobic oxidative desulfurization of fuel. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 534, p. 239–247, 15 jan. 2019.

YAKOH, A. et al. Biomedical Probes Based on Inorganic Nanoparticles for Electrochemical and Optical Spectroscopy Applications. **Sensors**, v. 15, n. 9, p. 21427–21477, 28 ago. 2015.

YAKOUB, M. Y.; BHUTTA, Z. A. Effect of routine iron supplementation with or without folic acid on anemia during pregnancy. **BMC Public Health**, v. 11, n. Suppl 3, p. S21, 13 abr. 2011.

YANG, H.-J. et al. Improving the encapsulation efficiency and sustained release behaviour of chitosan/ β -lactoglobulin double-coated microparticles by palmitic acid grafting. **Food Chemistry**, v. 220, p. 123–128, 1 abr. 2017.

YAO, J. et al. Rapid synthesis of titanium(IV)-immobilized magnetic mesoporous silica nanoparticles for endogenous phosphopeptides enrichment. **PROTEOMICS**, v. 17, n. 8, p. 1600320, abr. 2017.

YIN, F. et al. A 3D human placenta-on-a-chip model to probe nanoparticle exposure at the placental barrier. **Toxicology in Vitro**, v. 54, p. 105–113, fev. 2019.

YOUNG, A. M.; ALLEN, C. E.; AUDUS, K. L. Efflux transporters of the human placenta. **Advanced drug delivery reviews**, v. 55, n. 1, p. 125–32, 21 jan. 2003.

YU, X.; ZHU, Y. Preparation of magnetic mesoporous silica nanoparticles as a multifunctional platform for potential drug delivery and hyperthermia. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 17, n. 1, p. 229–238, 16 jan. 2016.

YURYEV, M. et al. Active diffusion of nanoparticles of maternal origin within the embryonic brain. **Nanomedicine**, v. 11, n. 19, p. 2471–2481, out. 2016.

ZAKEN, V.; KOHEN, R.; ORNOY, A. The development of antioxidant defense mechanism in young rat embryos in vivo and in vitro. **Early pregnancy (Online)**, v. 4, n. 2, p. 110–23, abr. 2000.

ZENG, J. et al. A nanoencapsulation suspension biomimetic of milk structure for enhanced maternal and fetal absorptions of DHA to improve early brain development. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 15, n. 1, p. 119–128, jan. 2019.

ZHANG, C. et al. Retrospective analysis: Conservative treatment of placenta increta with methotrexate. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 44, n. 5, p. 907–913, maio 2018a.

ZHANG, H. et al. Maternal and neonatal outcomes of placenta increta and percreta from a multicenter study in China. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1–6, 7 mar. 2018b.

ZHANG, Q. et al. Embryo-fetal development toxicity of honokiol microemulsion intravenously administered to pregnant rats. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 74, p. 117–122, fev. 2016.

ZHANG, Q. et al. Fe₃O₄Nanoparticles Loaded on Lignin Nanoparticles Applied as a Peroxidase Mimic for the Sensitively Colorimetric Detection of H₂O₂. **Nanomaterials**, v. 9, n. 2, p. 210, 6 fev. 2019.

ZHANG, Y. et al. Current understanding of the toxicological risk posed to the fetus following maternal exposure to nanoparticles. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 13, n. 12, p. 1251–1263, 2 dez. 2017.

ZHENG, Q. et al. Placental transfer of bromocriptine in an *ex vivo* human placental perfusion model. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 32, n. 7, p. 1155–1159, 3 abr. 2019.

ZHIGALINA, D. I. et al. MOLECULAR KARYOTYPING BY USING CELL-FREE DNA FROM HUMAN BLASTOCOELE FLUID, EMBRYOBLAST AND TROPHOBLAST CELLS. **Tsitologiia**, v. 58, n. 6, p. 488–92, [s.d.].

ZHOU, F.; HUANG, L. A typical postcesarean epithelioid trophoblastic lesion with placenta increta: Case report and literature review. **Pathology - Research and Practice**, v. 214, n. 12, p. 2099–2102, dez. 2018.

ANEXO A - Carta de aprovação do Comitê de Ética no uso dos animais CEUA-UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Ciências Biológicas
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fones: (55 81) 2126 8040 / 2126 8351
 Fax: (55 81) 2126 8353
 www.mcb.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 23078.020578/2013-27

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 intitulada: "Desenvolvimento de Nanorrobôs Farmacôs."

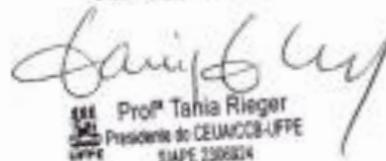
Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals 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 CEUMCCB-UFPE
 SIAPE 230624

CCB: Integrar para desenvolver