

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

**FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE**

MICHELE SELZLER

**USO DE NANOPARTÍCULAS EM MODELOS ANIMAIS PARA TRATAMENTO DE
CÂNCER DE PRÓSTATA: REVISÃO SISTEMÁTICA**

CAMPO GRANDE

2022

MICHELE SELZLER

**USO DE NANOPARTÍCULAS EM MODELOS ANIMAIS PARA TRATAMENTO DE
CÂNCER DE PRÓSTATA: REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como requisito para obtenção do título de mestre. Linha de pesquisa: Carcinogênese experimental e estudos do câncer na região Centro-Oeste.

Orientador: Prof. Dr. Rondon Tosta Ramalho.

**CAMPO GRANDE
2022**

MICHELE SELZLER

**USO DE NANOPARTÍCULAS EM MODELOS ANIMAIS PARA TRATAMENTO DE
CÂNCER DE PRÓSTATA: REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como requisito para obtenção do título de mestre. Linha de pesquisa: Carcinogênese experimental e estudos do câncer na região Centro-Oeste.

Orientador: Prof. Dr. Rondon Tosta Ramalho.

Banca examinadora:

Nota/Conceito

Rondon Tosta Ramalho

AValiação FINAL: () Aprovada

() Reprovada

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Rondon Tosta Ramalho, orientador, que me recebeu com toda paciência e incentivou para o crescimento profissional. Admiro-o pela benevolência que tem com todos os alunos.

A minha família e padrinho que sempre esteve ao meu lado, apoiando e sendo meu alicerce de vida.

A todos os professores, amigos e colegas do Programa de Pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, que tanto me ajudaram e colaboraram para meu aprendizado.

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul por ter concedido uma excelente estrutura e profissionais para o desenvolvimento do projeto.

RESUMO

O câncer de próstata é o segundo câncer que mais acomete a saúde dos homens. Inovações tecnológicas são desenvolvidas a fim de melhorar o tratamento e diminuir os efeitos colaterais que tratamentos convencionais provocam. Portanto, faz-se necessário estudar as novas abordagens de tratamentos para o câncer de próstata. O objetivo do estudo é realizar uma revisão sistemática sobre o uso de nanopartículas em tratamento de câncer de próstata em animais. A revisão sistemática foi realizada nas bases de dados PUBMED, SCIELO, LILACS, Cochrane Library e EMBASE e a escolha dos descritores baseada em termos indexados no DECS/MESH, e são: Nanopartículas, Nanomedicina e Câncer de próstata. Ao final da revisão foram alcançados seis artigos científicos, com temas utilizando nanopartículas carreando medicações. Em todos os estudos foi possível observar o benefício da atuação das nanopartículas encapsulando medicamentos em tratamentos de animais com câncer de próstata, diferente de tratamento com medicações livres que apresentam mais efeitos adversos e diminuição da vida dos animais estudados.

DESCRITORES: Nanopartículas. Nanomedicina. Câncer de Próstata.

ABSTRACT

Prostate cancer is the second most common cancer in men's health. Technological innovations are developed in order to improve treatment and reduce the side effects that conventional treatments cause. Therefore, it is necessary to study new treatment approaches for prostate cancer. The aim of the study is to perform a systematic review on the use of nanoparticles in the treatment of prostate cancer in animals. The systematic review was carried out in the PUBMED, SCIELO, LILACS, Cochrane Library and EMBASE databases and the choice of descriptors was based on terms indexed in DECS/MESH, which are: Nanoparticles, Nanomedicine and Prostate Cancer. At the end of the review, six scientific articles were reached, with themes using nanoparticles carrying medications. In all studies, it was possible to observe the benefit of the action of nanoparticles encapsulating drugs in treatments of animals with prostate cancer, different from treatment with free medications that have more adverse effects and decrease the life of the animals studied.

DESCRIPTORS: Nanoparticle. Nanomedicine. Prostate Cancer.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FDA	Food and Drug Administration
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EMA	European Medicines agency
DNA	Ácido desoxirribonucleico
CaP	Câncer de próstata
HPB	Hiperplasia prostática benigna
SCMOH	Hereditary breast–ovarian cancer syndrome
BRCA	Gene do Câncer de Mama
PSA	Antígeno de Próstata Específico
LHRH	Hormônio Regulador do Hormônio Luteinizante
LH	Hormônio Luteinizante
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
NM	Nanômetro
NLS	Nanopartículas lipídicas sólidas
AuNPs	Partículas de Ouro
NPs	Nanopartículas
RAYYAN	Intelligent Systematic Review
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PUBMED	National Center for Biotechnology Information
DECS	Descritores em Ciências da Saúde
MESH	Medical Subject Headings
RSs	Revisões Sistemáticas
PROSPERO	Prospective Register of Systematic Reviews
MEDLINE	Medical Literature Analysis and Retrieval System
SCIELO	Scientific Electronic Library Online
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
BVS	Biblioteca virtual em saúde
ROBS	Risk of Bias in Systematic Reviews
PTX	Paclitaxel
DTX	Docetaxel
CBZ	Cabazitaxel
PLA	Poliácido láctico
PEG	Polietilenoglicol
CBZ – NPs	Nanopartículas de cabazitaxel
Cbz-Tween	Polissorbato 80
HSA	Albumina sérica humana
LCNPs	Nanopartículas cristalinas líquidas
FLT	Flutamida
CAS	Caseína
mCPRC	Câncer de próstata resistente à castração metastático
CELLAX	Carboximetilcelulose

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipo de crescimento celular.....	12
Figura 2. Ciclo Celular.....	13
Figura 3. Direcionamento passivo e ativo de nanopartícula para células cancerígenas.....	17
Figura 4. Nanopartícula utilizada no tratamento do câncer.....	20
Figura 5. Nanomedicamento para terapia do câncer aprovado pelo FDA.....	21
Figura 6. Identificação dos estudos por meio banco de dados.....	30

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Descrição de nanopartículas.....	22
Quadro 2. Apresentação dos descritores conforme as bases de dados.....	28
Quadro 3. Apresentação dos estudos selecionados.....	32
Quadro 4. Apresentação dos estudos, objetivos e conclusão.....	38
Tabela 1. Resultado risco de viés.....	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 Câncer.....	12
2.2 Câncer de próstata.....	13
2.3 Nanopartículas e câncer.....	16
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos específicos.....	25
4. METODOLOGIA.....	26
4.1 Protocolo.....	26
4.2 Critério de Elegibilidade.....	27
4.2.1 Pergunta.....	27
4.2.2 Critério de Inclusão e Exclusão.....	27
4.3 Critério de busca.....	27
4.4 Seleção dos estudos.....	28
4.5 Risco de viés.....	29
5. RESULTADOS	30
5.1 Risco de viés dos estudos selecionados.....	31
5.2 Características dos estudos selecionados.....	33
<u>5.2.1 Animais.....</u>	<u>35</u>
<u>5.2.2 Intervenção.....</u>	<u>35</u>
<u>5.2.3 Controle.....</u>	<u>36</u>
<u>5.2.4 Desfecho.....</u>	<u>36</u>
6. DISCUSSÃO.....	41
7. CONCLUSÃO.....	52
8. REFERÊNCIA.....	53
ANEXO	61
Anexo A.....	61
Anexo B.....	62

1. INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico favorece o desenvolvimento de alternativas eficientes em tratamentos de doenças. A nanotecnologia atribui-se a partículas de escalas nanométricas ($10^{-9} = 0,000000001$) e possuem características incomuns das escalas maiores já exploradas. Considerando seu tamanho, as nanopartículas possuem facilidade de adentrar a corrente sanguínea facilitando o tratamento de diversas patologias (MARTIOLI; COPATTO; PINHEIRO, [s.d.]).

As nanopartículas (NPs) estão sendo aplicadas em diferentes estudos, incluindo terapias de câncer, detecção e monitoramento de câncer utilizando terapias fototérmica e terapias fotodinâmicas, NPs com ações antimicrobianas com liberação de antibióticos e agentes antimicrobianos, terapias de NPs ligadas ao ferro para tratamento de anemia, NPs com propriedades anestésicas, vacinas para tratamento de doenças como a hepatite A e a influenza realizadas a partir de NPs orgânicas, NPs com terapias gênicas para entrega de siRNA ou mRNA utilizadas principalmente contra câncer (ANSELMO; MITRAGOTRI, 2016).

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer INCA, no ano de 2018 foram registrado cerca de 18 milhões de novos casos de câncer no mundo. Sendo o câncer de próstata (CaP) a quinta causa global de morte por câncer, com taxas de 375.304/mortes (Sung et al., 2021). De acordo com as estimativas do GLOBOCAN, a taxa de incidência no ano de 2020, foi de 1.414.259 novos casos de câncer de próstata em todo o mundo.

Estudos epidemiológicos são realizados com o objetivo de descobrir as principais causas dessa patologia, entre elas estão: o consumo de cigarro e álcool, bem como hábitos alimentares inadequados com ingestão de gorduras saturadas que levam a obesidade (ADJAKLY et al., 2015).

Os tratamentos convencionais disponíveis para tratar o CaP limitam-se a cirurgias, radioterapia, quimioterapias e imunoterapia, na qual pode-se observar falhas devido falta de resposta ao tratamento, ocasionando efeitos colaterais e conseqüentemente impedindo a qualidade de vida do paciente (Goncalves; Haas, 2021). Com o propósito de tratar o câncer de próstata, a utilização de quimioterapias tem a finalidade de impedir a proliferação e multiplicação celular tumoral, visando o tratamento e a diminuição de efeitos metastáticos. No entanto, o uso desses quimioterápicos pode causar efeitos tóxicos às células saudáveis e resistência

medicamentosa. Além disso, como os agentes quimioterápicos são metabolizados e excretados pelo fígado e rins, como consequências podem ocorrer disfunções desses órgãos. Alternativas para a entrega das drogas para que possam alcançar as células cancerígenas da próstata sem prejudicar células saudáveis e órgãos já estão sendo estudadas (AMJAD; KASI, 2020).

Levando em consideração o avanço nas alternativas de tratamentos, os sistemas de direcionamento e entrega baseados em nanopartículas têm mostrado efeitos benéficos quanto ao tratamento de câncer (Gavas et al. 2021). Com a finalidade de direcionar e controlar a liberação de fármacos em células tumorais, e assim diminuir os efeitos colaterais o que traz vantagens quando comparado aos tratamentos convencionais (Regis et al., 2021).

O CaP é um tumor sólido que possuem vasos tumorais permeáveis devido a neovascularização irregular, na qual facilita o tratamento e direcionamento de fármacos com nanopartículas devido o efeito de permeabilidade e retenção (EPR). As NPs com tamanhos de 100 ~ 200nm são ideais para alcançar os tumores sólidos pelo EPR sem que sejam eliminados, além disso, exibem menos efeitos adversos, com melhores respostas terapêuticas quando comparadas aos quimioterápicos convencionais (WU, 2021).

O uso de nanopartículas com o intuito de desenvolver ativos eficazes no direcionamento de alvos biológicos, com liberação controlada, aumenta a biodisponibilidade do ativo sem alterar a distribuição e absorção. As formulações desenvolvidas de forma eficiente podem diminuir os riscos de toxicidade além do que, os tratamentos podem ser realizados por diversas vias de administração, como: consumo oral, inalação, injeção intravenosa e subcutânea (CANCINO et al., 2014).

Assim, a proposta foi realizar uma revisão sistemática a partir de estudos com animais *in vivo* quanto à existência de medicações e nanopartículas em tratamento de câncer de próstata, com a proposta de subsidiar futuros estudos que serão realizados em animais com câncer de próstata e aprimorar os estudos já realizados, além de fornecer novos insights para os estudos clínicos.

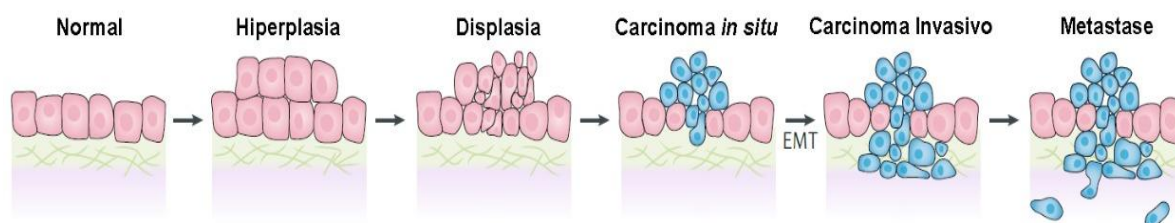
2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CÂNCER

O câncer é uma patologia de alteração celular que em determinado momento pode invadir outros tecidos, esse fato é denominado como metástase e acomete grande parte da população do mundo. Sendo assim, tornou-se uma preocupação para os pesquisadores e profissionais da saúde. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que cerca de 20 milhões de pacientes terão algum tipo de câncer nos próximos vinte anos (EDIS et al., 2021).

A palavra câncer é originada do grego *karkínos*, que tem como significado caranguejo, e foi descrita pela primeira vez por Hipócrates, pai da medicina. O câncer pode ocorrer devido à proliferação celular anormal na qual as células multiplicam-se excessivamente desenvolvendo os tumores também conhecidos como neoplasias. A proliferação celular ocorre de duas maneiras (Figura 1): a controlada, em que as células crescem fixadas e autolimitadas apresentando sutintas alterações de forma ou função tecidual, e a não controlada em que as células multiplicam-se de formas anormais (BRAZIL, 2018).

FIGURA1- Tipo de crescimento celular

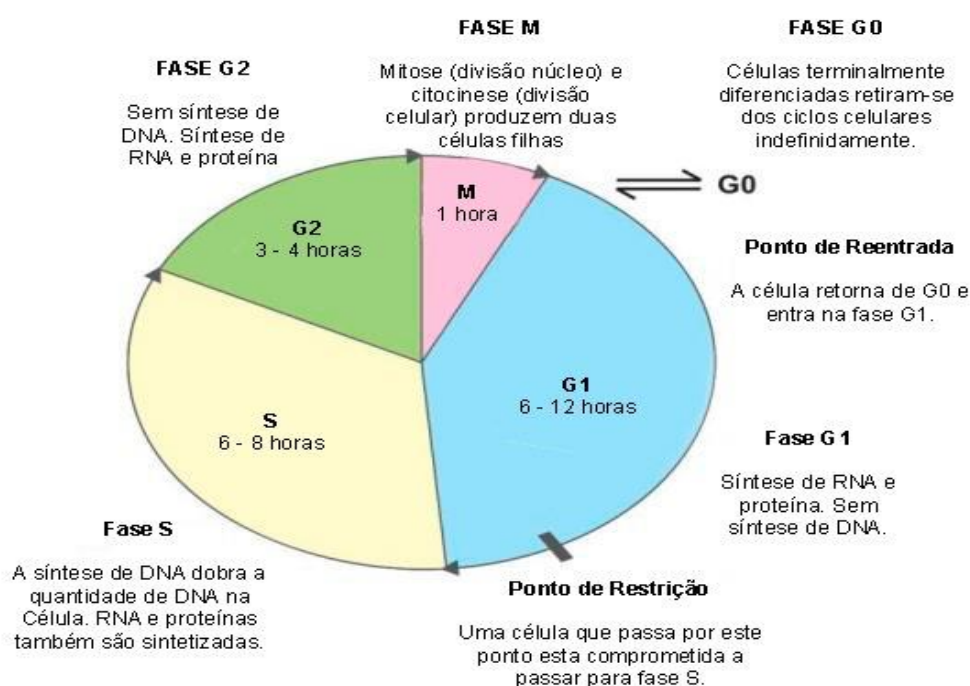


Fonte: Adaptado BEN-DAVID et al., (2020)

Com o propósito de entender o crescimento tumoral, os autores Ray et al., (2019) descreveram o ciclo celular, que ocorre em quatro fases conforme a Figura 2. Na fase G1, acontecem à preparação para a síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA), através das interrupções de bases púricas, pirimídicas, fosfatos e riboses, para que ocorra a síntese de nucleotídeos, aminoácidos e proteínas. Na fase sintética ou S há interação de DNA e a enzima duplicase de DNA, para ocorrer uma duplicação. Na fase G2, período pré-mitótico, a síntese completa de DNA e o aumento de cromossomos ocorre para que a célula inicie a divisão celular, e por fim a fase mitótica/M que refere-se à mitose, com a movimentação dos cromossomos e

a clivagem celular sendo assim possível a distribuição de pares de cromossomos para células-filhas. Na fase G1, caso a célula esteja madura, e com nutrientes adequados, o hormônio de crescimento passará para fase S, caso contrário a célula entra na fase G0 de período mais prolongado de repouso, com menor atividade metabólica.

Figura 2 – Ciclo Celular



Fonte: Adaptação (RAY et al., 2019).

As células cancerígenas multiplicam-se de forma descontrolada e não coincidente com o processo regular do ciclo celular, ocasionando danos e mutações ao DNA e consequentemente o desenvolvimento de tumores (RAY et al., 2019).

2.2 CÂNCER DE PRÓSTATA

No Brasil e em outros países, o câncer de próstata (CaP) é a segunda neoplasia maligna que mais acomete os homens. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o número estimado de novos casos em 2020 foi cerca de 65.840 casos, sendo 15.983 casos de mortes. Ao considerar por regiões brasileiras, o risco estimado de CaP é de 72,35/100 mil na Região Nordeste; de

65,29/100 mil na Região Centro-Oeste; de 63,94/100 mil na Região Sudeste; de 62,00/100 mil na Região Sul; e de 29,39/100 mil na Região Norte.

A próstata é uma glândula que pesa aproximadamente 20g. Pertence ao sistema reprodutor masculino e está localizada na parte inferior do abdômen, na qual produz uma parte do sêmen. Esse fluido é necessário para fase reprodutora do homem e proporciona proteção e nutrição na sobrevivência dos espermatozoides. A próstata possui células que se dividem e se reproduzem de modo ordenado e controlado. Entretanto, quando ocorre uma disfunção celular, elas podem dar origem ao tumor que é classificado como: Benigno, também conhecido como hiperplasia prostática benigna (HPB), ou maligna conhecida como câncer de próstata ou neoplasia de próstata (TONON; SCHOFFEN, 2009).

Os fatores de riscos de CaP podem ser desenvolvidos devido à idade e o histórico familiar. A maioria dos casos é observada em homens com idade avançada e que possuem parentes de primeiro grau, como pai e irmãos com a doença. Há maior prevalência em pessoas negras, pacientes que consomem uma dieta rica em gorduras, e que possuem síndromes metabólicas, como a obesidade (Giri; Beebe-Dimmer, 2016). Pacientes com histórico familiar de câncer de próstata tem 11 vezes maior probabilidade de desenvolver a doença. Os estudos com genoma humano têm avançado nas pesquisas com a finalidade de identificar famílias passíveis de desenvolver a doença (REIS et al. 2016).

De acordo com Giri e Beebe-Dimmer (2016), a síndrome hereditária do câncer de mama e ovário (SCMOH) quando associada aos riscos causadores de câncer, podem desenvolver mutações em BRCA1 e BRCA2 (proteínas supressoras de câncer), essas mutações são observadas comumente em câncer de próstata. A mutação de BRCA2, observada em pacientes com câncer de próstata, é mais agressiva e apresenta diminuição na expectativa de vida. De acordo com Zhen et al., (2018) os indivíduos que possuem alterações genéticas em BRCA1 e BRCA2, e tem a doença em estágio avançado (grau de Gleason ≥ 8) possuem maior probabilidade em desenvolver metástase e comprometimento dos linfonodos. Os testes genéticos só são recomendados em pacientes com início mais agressivo da doença e com histórico familiar positivo.

O diagnóstico para detectar e rastrear o câncer de próstata consiste na realização de exames padronizados, o antígeno prostático específico (PSA), toque digital da glândula, ultrassonografia transretal, biópsia e estudos histopatológicos. A

biopsia é aconselhada quando os níveis de PSA ultrapassam 4 ng/mL (BACELAR JUNIOR et al., 2015).

Segundo os autores Franco e Souhami (2015) quando a neoplasia de próstata está localizada, pode-se realizar o tratamento através da retirada do tumor que consiste na ressecção completa da próstata (prostatectomia radical), reduzindo a progressão para metástase. Porém, algumas complicações pós-cirurgia podem ser observadas como disfunção erétil, incontinência urinária e lesão do reto.

De acordo com Franco e Souhami (2015) em casos mais avançados de CaP, são realizados tratamentos com radioterapia em associação com hormonioterapia. O mecanismo biológico de hormonioterapia consiste no bloqueio da liberação de hormônio liberador de hormônio luteinizante (LHRH), que irá controlar o hipotalâmico-pituitário liberador de hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo-estimulante (FSH) incumbidos da produção testicular de testosterona. A ação de radioterapia com a hormonioterapia mobiliza o sistema imune tumoral, inibindo a síntese de DNA e a proliferação celular, diminuindo a disseminação micrometastática do tumor e consequentemente diminui as células tumorais. No entanto, devido à diminuição hormonal para melhora do CaP, é possível observar alguns efeitos colaterais, como: fadiga, perda de libido, diminuição da densidade óssea, anemia, alterações da musculatura e problemas cardiovasculares (FRANCO; SOUHAMI, 2015).

Para que ocorra a metástase do CaP várias etapas devem ocorrer, entre elas: a angiogênese, a migração local, a invasão, o extravasamento de células tumorais e a colonização do novo sítio a ser metastizado. O estágio de proliferação celular tumoral ocorre através da entrada, na corrente sanguínea, de células malignas, que se ligam ao endotélio vascular e invadem os ossos causando como consequência a metástase óssea, sendo relacionado à principal causa de morte após o avanço da doença (JIM et al., 2011).

Segundo Dornas et al., (2008) a quimioterapia é indicada quando a doença que se encontra avançada com grande volume tumoral, lesões ósseas metastáticas e que não respondem ao tratamento de hormonioterapia. Os primeiros quimioterápicos utilizados para tratar pacientes com câncer de próstata resistente à castração metastática foram o mitoxantrona e a estramustina, sendo aprovados para uso em 1981 e como resultado houve à diminuição dos níveis de PSA dos pacientes

em tratamento. Entretanto, não se pode observar melhora da sobrevida desses pacientes e por isso em 2004 começaram a utilizar os quimioterápicos taxanos.

O uso de docetaxel no tratamento de CaP trouxe resultados promissores quanto ao aumento prolongado da sobrevida dos pacientes. No entanto, alguns pacientes analisados desenvolveram resistência ao quimioterápico e então posteriormente, foi desenvolvido o cabazitaxel para tratamentos de pacientes que tiveram resistência ao uso de docetaxel, sendo aprovado o seu uso clínico no ano de 2010 (HAUKE; TEPLY, 2016).

O CaP pode progredir e avançar para os ossos, tornando resistente a terapias e a castração. O quimioterápico docetaxel é utilizado com a finalidade de obter o tratamento, entretanto pode ocorrer resistência medicamentosa. O uso de docetaxel (DTX) e a prednisona são as medicações utilizadas no tratamento de câncer de próstata resistente a castração metastática (mCRPC) e apenas alguns pacientes respondem ao tratamento de forma eficaz, sendo que a expectativa de vida média é menor que 20 meses (Teply et al., 2018).

Devido à resistência do tumor a drogas e os efeitos colaterais, a realização de quimioterapia pode trazer alguns efeitos indesejáveis aos pacientes. Por isso, novas pesquisas com medicamentos e nanotecnologia são realizadas, a partir dos Taxanos, uma classe de diterpenos, que compreende o paclitaxel (PTX), o docetaxel (DTX), e o cabazitaxel (CBZ), nas quais são considerados os mais utilizados como agentes quimioterápicos no tratamento de câncer de próstata (KOMMINENI et al., 2019).

Os quimioterápicos convencionais utilizados podem apresentar efeitos citotóxicos celulares, devido ao seu baixo índice terapêutico, diante disso é necessário administrar um alto volume medicamentoso para que possam exercer as suas funções anticancerígenas, mas como consequência, em longo prazo podem causar danos às células saudáveis (EDIS et al., 2021).

2.3 NANOPARTÍCULAS E CÂNCER

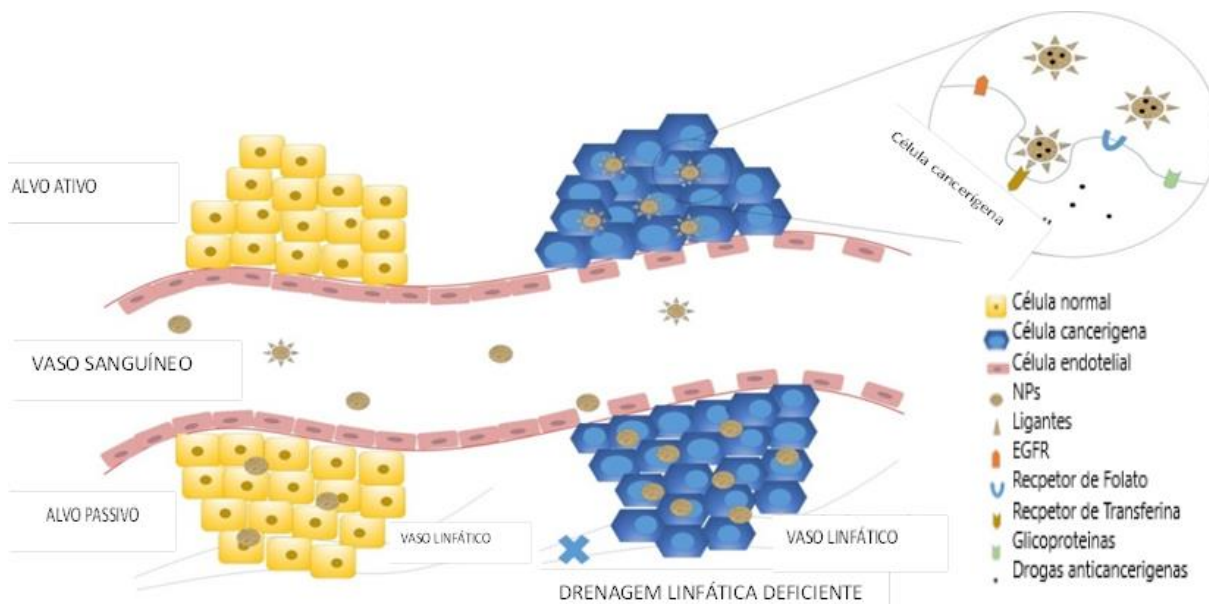
A nanotecnologia é a área que estuda a formulação de nanopartículas. O físico Richard Feynman foi o primeiro cientista a demonstrar métodos de desenvolvimento dessas moléculas que possuem escala de 1 a 100 nm. A

fabricação de nanopartículas pode ser oriunda de diversos materiais e de acordo com a finalidade pode ser de diferentes tamanhos. As elaborações de nanopartículas vêm sendo realizada por pesquisadores cientistas em ensaios *in vivo* e *in vitro* para tratamentos de doenças, transportes de ativos e substâncias medicamentosas, sinalizadores tumorais e auxílio de diagnósticos de doenças (Apolinário et al., 2020).

As nanopartículas cujo uso em terapia de câncer se expandiu nas diversas áreas de pesquisas e apresenta resultados promissores na veiculação de fármacos, diminuindo os efeitos adversos, permitindo a estabilidade da droga administrada, o aumento da absorção do fármaco e a transferência tissular na atividade farmacodinâmica (SILVA, 2015).

De acordo com Costa e Silva (2017), as nanopartículas podem ser usadas para transportar substâncias anticancerígenas que irão combater diretamente as células sem prejudicar tecidos saudáveis. As nanopartículas podem concentrar-se em tumores sólidos de forma passiva e ativa, como mostra a Figura 3.

Figura 3. Direcionamento passivo e ativo de NPs para células cancerígenas.



Fonte: Adaptação (Yao et al., 2020).

No direcionamento passivo, as drogas são entregues no local do tumor para que exerçam sua função terapêutica. Os tumores possuem proliferação celular cancerígena induzindo a neovascularização e os poros da parede celular estão aumentados quando comparados aos tecidos normais devido à angiogênese

acelerada e pouco eficaz. É possível que nanopartículas se acumulem no tecido tumoral liberando a droga nas células cancerígenas (YAO et al., 2020).

A angiogênese é a formação de vasos sanguíneos, sem a formação desses vasos, os tumores não se desenvolveriam mais que 1-2 mm³ e sofreriam hipóxia, levando a morte celular. Para que ocorra a angiogênese é imprescindível que haja estímulos de mediadores moleculares da angiogênese, como exemplo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Diversas pesquisas já foram realizadas com a finalidade de diminuir o processo de angiogênese celular, entretanto as células cancerígenas possuem resistências às terapias antiangiogênicas (HASHEMI GORADEL et al., 2018).

A capacidade pró e antiangiogênica dos nanomateriais traz benefícios na área da saúde, afinal os sistemas de entrega nanoparticulados com a droga terapêutica são capazes de suplantam a difusão tecidual, atingindo de forma mais segura às células-alvo para que a droga seja entregue, esse fenômeno ocorre devido à vasculatura permeável e à drenagem linfática defeituosa dos tumores sólidos. Esse fato foi descrito por Matsumura e Maeda no ano de 1986 e foi nomeado de efeito de permeabilidade e retenção (EPR) (ROSENBLUM et al., 2018).

Conforme descrito pelos autores Attia et al., (2019) devido ao efeito de permeabilidade e retenção, algumas condições podem intervir no direcionamento das nanopartículas ao tumor, entre elas: o tamanho, a química da superfície e a carga. Os tamanhos das nanopartículas influenciam o tempo que ficarão em circulação sanguínea, nanopartículas maiores podem ser removidas pelo retículo endoplasmático já nanopartículas menores que 5nm são eliminadas da circulação através de filtração renal. Conseqüentemente é importante considerar o tamanho e a geometria das nanopartículas e as interações celulares (COSTA; SILVA, 2017).

A química da superfície nanoparticulada e a carga também devem ser consideradas. Moléculas hidrofóbicas ou carregadas aceleradamente podem ser opsonizadas através do sistema reticuloendotelial. A elaboração de nanopartículas hidrofílicas neutras ou aniônicas é preferível. Com essa finalidade, alguns polímeros solúveis em água como os polietilenoglicol (PEG), são utilizados nos conjugados superficiais de nanocarreadores (ATTIA et al., 2019).

No direcionamento ativo, é necessário que haja uma interação entre ligantes e receptores. Os ligantes irão direcionar as nanopartículas às células cancerígenas que induzirão a endocitose por meio da liberação da droga terapêutica. Os ligantes

mais utilizados em pesquisas são os anticorpos monoclonais, peptídeos, aminoácidos, vitaminas, carboidratos, proteínas e siRNAs (YAO et al., 2020).

De acordo com Bertrand et al., (2014) para realizar pesquisas no tratamento de câncer com uso de nanopartículas, é necessário conhecer a biologia do tumor a ser analisado e as propriedades físico-químico dos nanomateriais utilizados, para isso é necessário que haja interações entre os quimioterápicos e as nanopartículas em direcionamento ao tumor. A eficácia das nanopartículas é precisa quanto a liberação otimizada dos fármacos, caso não haja compatibilidade entre o nanomaterial e as células tumorais, os quimioterápicos irão atingir os tumores de outras formas ou ainda irão difundir de volta para a vasculatura. Portanto, a afinidade entre os quimioterápicos e o ambiente tumoral deve ser considerada ao projetar os nanocarreadores.

As características físico-químicas das nanopartículas são imprescindíveis devido ao seu desempenho na associação com fármacos para que ocorra sua liberação de modo eficaz. O potencial zeta representa o potencial de superfície das partículas, que é motivado através de mudanças na interface com o meio dispersante devido à desagregação dos grupos funcionais na superfície da partícula ou do absorvimento de condição iônica no meio aquoso de dispersão (SCHAFFAZICK et al., 2003).

O índice de polidispersão (PDI) é a medida da amplitude da distribuição do tamanho das amostras, os valores variam de 0,0 (para uma amostra uniforme) a 1,0 (para uma amostra polidispersa com populações de partículas de diversos tamanhos). O *Food and Drug Administration* (FDA) não menciona um PDI aceitável, entretanto destaca a relevância do tamanho e da distribuição do tamanho das nanopartículas. Avaliar o índice de polidispersão de nanopartículas é importante devido à influência na captação celular por endocitose, na qual partículas e moléculas são absorvidas pelas células (DANAIE et al., 2018).

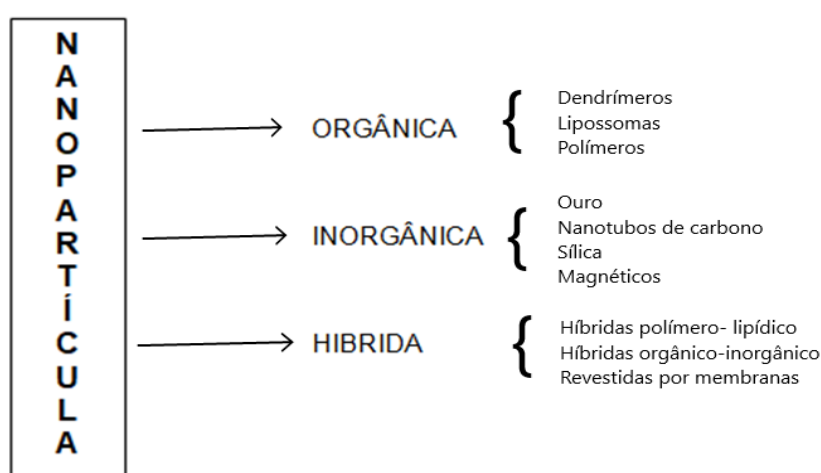
Algumas características dos nanocarreadores devem ser consideradas, tais como: a) a preservação da nanocápsula no sangue até que possa atingir as células cancerígenas; b) não sofrer depuração pelo sistema retículo endotelial; c) esquivar-se do sistema fagocitário mononuclear; d) penetrar o micro ambiente tumoral via vasculatura tumoral; e) transpor por alta pressão o fluido tumoral e f) atingir as células cancerígenas, sem danificar as células saudáveis. Todas essas características são fundamentais para que os nanocarreadores possam liberar os

quimioterápicos às células cancerígenas, ocasionando a eficácia terapêutica e a redução de da toxicidade (GAVAS et al., 2021).

Existem diversas NPs sendo utilizadas no tratamento de câncer como pode ser observado na Figura 4. De acordo com Tobler e Rocha, (2020) a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América, a *European Medicines Agency* (EMA) da Europa e a Agência de Vigilância de Saúde do Brasil (ANVISA), são agências regulamentadoras de medicamentos, as mesmas demonstram interesses nos medicamentos originados de nanomateriais, analisando os impactos da nanotecnologia para a saúde humana.

Existem cerca de 60 nanomedicamentos no mundo, sendo que a ANVISA permite o uso de 10 nanomedicamentos no Brasil para o tratamento de tumores, entre eles: Daunoxome®, Caelyx®, Lupron-depot, Neodecapeptyl, Brexin, Maxsulid, Ambisome® (Oliveira et al., 2016). No entanto, não existem avaliações padronizadas quanto ao uso dessas nanomedicações, o seu uso segue protocolos gerais de medicações e nenhuma análise específica tem sido realizada sobre as mesmas. A ANVISA disponibiliza para consulta de medicamentos o site (<https://consultas.anvisa.gov.br/>) ao realizar pesquisas com o termo nanomedicamentos não é possível alcançar respostas sobre o mesmo e, identificar quais nanomedicações possuem registro ativo no Brasil (PRIMO, 2021).

Figura 4. Nanopartículas utilizadas no tratamento do câncer



Fonte: Adaptação (YAO et al., 2020).

As nanopartículas orgânicas possuem benefícios quanto a suas estruturas moleculares. Em sua fabricação é possível utilizar moléculas químicas com interações hidrofóbicas e anfifílicas, encapsulando os fármacos e utilizando-os de forma simples ou conjugada. Algumas nanopartículas orgânicas já são licenciadas para uso clínico, conforme mostra a Figura 5; como exemplo, têm-se os lipossomas que dispõem de uma camada exterior lipídica e seu núcleo (interior) pode ser utilizado para produzir medicamentos hidrofóbicos ou hidrofílicos, que são muito utilizados para tratamento de câncer de próstata e mama. Ainda de acordo com os autores, muitos estudos utilizam como revestimentos os polímeros hidrofílicos PEG em superfície, decorrendo na modificação e características das NPs para prolongar a circulação no sangue (DIN et al., 2017).

Figura 5: Nanomedicamentos para terapia do câncer aprovado pela FDA.

Nanopartícula	Medicamento	Indicação	Ano
Lipossoma-PEG	Doxorrubicina	Câncer de ovário metastático	1995
PLGA	Acetato de Leuprolida	Câncer de próstata	2002
Albumina	Paclitaxel	Câncer de ovário metastático	2005
mPEG-PLA	Paclitaxel	Câncer de ovário metastático	2007
Lipossoma	Irinotecano	Câncer de pâncreas	2015

Fonte: Adaptação GAVAS et al., (2021).

As nanopartículas inorgânicas são muito utilizadas nos tratamento de câncer devido à facilidade de conjugação e ligação entre a área de superfície e o volume do medicamento a ser utilizado (Edis et al., 2021).

Os nano-tubos de carbono tem se mostrado promissor na terapia do câncer, pois são de peso leve, possuem resistências mecânicas, condutividade elétrica, térmica e sua superfície é de fácil modificação, são capazes de encapsular as drogas nas cavidades internas da partícula ou ainda fixá-las em superfícies, de forma covalente e não covalente ocasionando a passagem por endocitose nas membranas celulares (Edis et al., 2021).

As nanopartículas de sílica mesoporosas também ganharam destaque devido à capacidade de armazenar grande quantidade de drogas em seus poros, elas apresentam ótimas características de biocompatibilidade com aumento da área

de superfície e desse modo pode-se ligar a uma maior quantidade de ativos (DIN et al., 2017).

As nanopartículas híbridas são a junção de partículas orgânicas e inorgânicas. A finalidade é envolver matérias orgânicas com superfícies inorgânicas para aumentar a eficiência antitumoral. Os autores citaram a incorporação de nanopartículas de ouro com dendrímeros com finalidade teranóstica com uso de cúrcuma que foi encapsulada com a nanopartícula com o objetivo de tratar células cancerígenas do colorretal, essas nanopartículas desenvolvidas, além de exercer atividade antitumoral positiva, apresentaram facilidade de obter imagens a partir do exame de tomografia computadorizada (EDIS et al., 2017).

Algumas nanopartículas são mais utilizadas na prática clínica e descritas em artigos científicos. O Quadro 1 exibe a representação esquemática dessas nanopartículas.

Quadro 1. Descrição de nanopartículas

Nanopartículas	Características
Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)	São formados por lipídeo sólido em seu exterior, como triglicerídeos, ácidos gordos, fosfolipídios que envolvem o meio interno aquoso, sendo essa uma estrutura lipídica que pode veicular fármacos lipossolúveis (COUTINHO, 2015). Possuem algumas vantagens devido a sua eficiência de proteger fármacos e ácidos nucleicos de degradação química, sendo de melhor biocompatibilidade e baixo custo (RADAIC et al., 2014).
Micelas poliméricas	São polímeros constituídos por blocos de anfifílicos de copolímeros formando nano capsulas em meio aquoso, em seu interior é formado por uma zona hidrofóbica reservando fármacos, já em seu exterior é hidrofílica, sendo solúvel em água e sangue podendo ser administrado intravenoso (PARREIRA; EUGENIO, 2011).

Dendrímeros	Os dendrímeros são hiperramificados com cerca de 1-10nm e podem encapsular diferentes materiais, sendo importantes na distribuição de fármacos (SILVA, 2015). Possuem vantagens em relação a outros polímeros devidos ao seu tamanho e ao número de grupos funcionais, trazendo maior segurança na quantidade de fármaco complexado (MOREIRA, 2013).
Nanopartículas metálicas	Pode ser elaborado a partir de diferentes metais, como o ouro, um metal nobre que possui diferentes estados de oxidação. A entrega do fármaco a uma célula específica pode ser realizada através de nanopartículas de ouro (AuNPs), reduzindo efeitos adversos e tóxicos. A liberação de ativos pode ser provocada por estímulos internos como a glutatona e o pH, ou ainda por estímulos externos como a luz (ENGEL, 2016).
Nanopartículas de sílica	As nanopartículas mesoporosas de sílica vem obtendo destaque em estudos devido a sua efetividade na entrega de substâncias terapêuticas e a biocompatibilidade. Seu tamanho pode variar entre 2 a 50nm e envolvem fármacos e substâncias ativas na aplicação do câncer (BUENO, 2015).
Nanopartículas poliméricas	Nanopartículas poliméricas são partículas esféricas formadas por camadas lipídicas com estrutura flexível de fácil interação com membranas celulares, facilmente excretadas pelo organismo. Podem ser usadas como sistema de transporte e liberação de fármacos e também integrar compostos hidrossolúveis na parte interna e lipossolúveis na membrana lipídica (PARREIRA; EUGENIO, 2011). Preparadas no tratamento de câncer são combinadas com drogas e

	<p>revestidas por polímeros facilitando a distribuição da droga. As nanopartículas oriundas de albumina e lipossomas já são aprovadas pela <i>Food and Drug Administration</i> (FDA) (SILVA, 2015).</p>
--	---

Fonte: Autor

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Fazer uma revisão sistemática sobre o uso de nanopartículas em tratamento de câncer de próstata em animais.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar as nanopartículas e medicamentos utilizados no tratamento do câncer de próstata.
- Apontar os resultados da incorporação de nanopartículas e medicamentos, levando em consideração as atividades antitumorais, toxicidade sistêmica e avaliações histológicas dos animais tratados.

4. METODOLOGIA

As diretrizes metodológicas para elaboração de revisão sistemática do Ministério da Saúde apontam algumas etapas a serem consideradas:

Etapa 1: definição da questão a ser pesquisada com base no acrônimo PICO, sendo P – população: a população a ser pesquisada; I – intervenção: a intervenção a ser pesquisada; C – controle: um comparador ou um controle determinado; O – desfecho: o desfecho a ser pesquisado.

Etapa 2: seleção do estudo – Consiste em criar estratégias de busca utilizando palavras-chaves que devem ser estabelecidas na pesquisa dos artigos que serão inseridos na revisão sistemática. A procura de artigos pode ser feita em bases de dados, como: biblioteca Cochrane, MEDLINE, EMBASE, SciELO, entre outras, sendo necessário aplicar termos corretos e a utilização de conectivos adequados para tornar a procura mais eficaz.

Etapa 3: seleção dos artigos – inicialmente os artigos são avaliados através dos resumos e títulos por dois pesquisadores separados em formato cego, seguindo os critérios de exclusão e inclusão pré-estabelecidos. Esses critérios são estabelecidos a partir da questão definida e, caso haja discordância na seleção dos estudos, ambos devem entrar em consenso.

Etapa 4: extração de dados – todos os dados do estudo devem ser considerados, tais como método, participantes, cenário clínico, intervenções, desfecho e os resultados. A partir da extração de dados é possível sintetizar as informações necessárias para a construção da revisão e assim apresentar as conclusões (BRASIL, 2021).

4.1 PROTOCOLO

A metodologia desta revisão foi registrada na base de registros de protocolos de revisões sistemáticas (RSs) PRÓSPERO, com ID CRD42021271008, em 17 de dezembro de 2021. Um dos objetivos da base de dados PROSPERO é evitar a duplicidade involuntária da publicação de RSs que avaliem a mesma questão clínica. O registro prospectivo de RS torna o processo de síntese mais

transparente e esclarece sobre quais análises foram planejadas previamente, facilitando a avaliação de possível relato seletivo de resultados posteriores.

O delineamento da pesquisa foi realizado conforme as recomendações do Protocolo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews e Meta-Analysis* (PRISMA) conforme descrito no Anexo B.

4.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

4.2.1 Pergunta

Esta revisão foi delineada e executada para responder a seguinte pergunta: Quais os benefícios do uso de nanopartículas e medicamentos no tratamento do câncer de próstata em animais? Para formulação da pergunta foi utilizada a estratégia PICO, sendo: P_ Animais (ratos e camundongos); I_ Uso de nanopartículas e medicamento no tratamento; C_ Animais que receberam medicamento livre e solução salina; e O_ Eficácia no tratamento.

4.2.2 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão e exclusão foram estabelecidos a partir da questão e da estratégia PICO.

Critérios de inclusão: Artigos científicos publicados em qualquer idioma, entre o ano de 2010 e 2021 e que descreviam sobre o tratamento de câncer de próstata em animais (ratos e camundongos machos) utilizando medicamentos e nanopartículas.

Critérios de exclusão: 1) publicações que antecederam o ano de 2010; 2) revisões de literatura, cartas, relatos de casos, teses, capítulos de livros, resumos, estudos *in vitro* e estudos em humanos; 3) estudos com uso de fitoterápicos; 4) estudos sobre diagnóstico de câncer de próstata.

4.3 CRITÉRIO DE BUSCA

A busca foi realizada nas seguintes bases de dados: MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System), ScieLO (Scientific Electronic Library

Online), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e BVS Brasil (Biblioteca Virtual em Saúde). Os descritores utilizados foram: nanopartículas, nanomedicina e câncer de próstata. A escolha dos descritores foi baseada em termos indexados no DECS (Descritores em Ciências da Saúde) / MESH (Medical Subject Headings), conforme mostra Quadro 2.

Quadro2. Apresentação dos descritores de acordo com as bases de dados.

PUBMED
Nanoparticles AND Prostatic Neoplasms
Nanoparticle. Nanomedicine. Prostate cancer.
Nanopaerticle OR nanomedicine AND Prostatic neoplasms
SCIELO
Nanomedicine OR Nanoparticle AND Prostate Cancer
Nanotherapy OR Nanoparticle AND Prostate Cancer
LILACS
Nanoparticle OR Nanotherapy AND Prostate Cancer
Nanoparticle OR Nanomedicine AND Prostate Cancer
Cochrane Library
Nanotherapy OR Nanoparticle AND Prostate Cancer
Nanomedicine OR Nanoparticle AND Prostate Cancer
EMBASE
Nanoparticle OR Nanotherapy AND Prostate AND CANCER
Nanoparticle OR Nanotherapy AND Prostate CANCER
Nanoparticle AND Prostate AND Cancer
Nanoparticle AND Prostate Cancer

Fonte: Autor

4.4 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Após a busca dos artigos, eles foram inseridos no Intelligent Systematic Review (RAYYAN), uma ferramenta gratuita *da web* para auxiliar os pesquisadores na triagem e seleção dos artigos. Dois pesquisadores de forma independente analisaram os artigos selecionados a partir do critério de inclusão e exclusão. Na primeira fase os artigos duplicados foram excluídos e os títulos e resumos foram lidos individualmente e de forma cega. Na segunda fase, os artigos foram lidos na

íntegra e as divergências na seleção de estudo foram discutidas entre ambos. Caso houvesse qualquer desacordo entre os autores, um terceiro autor ficaria responsável pela decisão final.

4.5 RISCO DE VIÉS

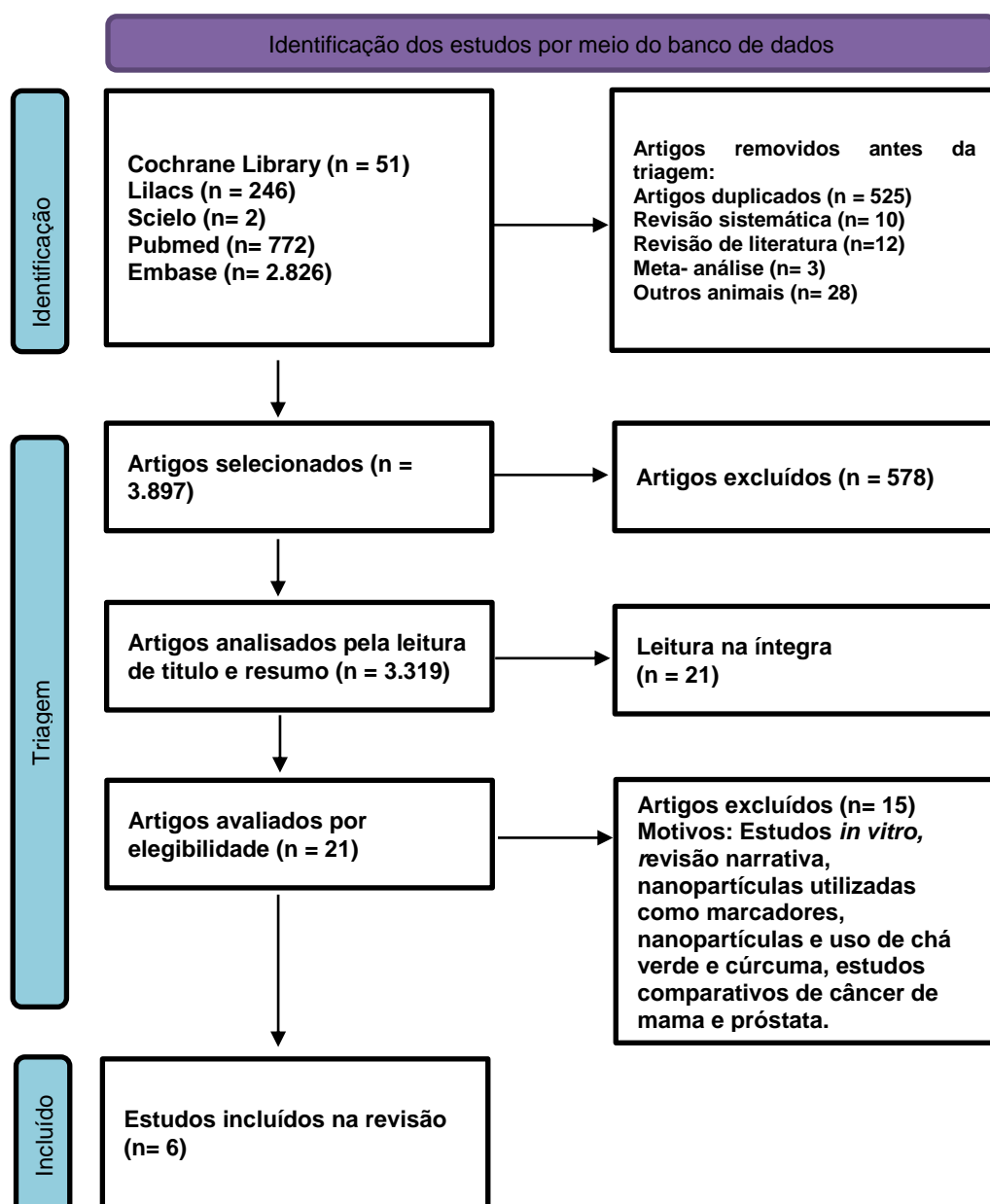
Avaliar o risco de viés de cada estudo selecionado é imprescindível para realizar uma revisão sistemática. A *SYStematic Review Center for Laboratory animal Experimentation (SYRCLE)* é uma ferramenta adaptada, baseada na ferramenta *Cochrane Collaboration RoB Tool* que avalia estudos de ensaio clínico randomizado. A adaptação da ferramenta *SYRCLE* foi ajustada entre os estudos clínicos randomizados e as intervenções dos estudos em animais. A ferramenta contém 10 entradas relacionadas ao viés de seleção, viés de desempenho, viés de detecção e viés de atrito. Os julgamentos são respondidos com “sim” para baixo risco de viés, “não” para alto risco de viés e incerto para dados insuficientes (HOOIJMANS et al., 2014).

De forma independente, a análise dos artigos foi realizada através dos dois revisores. Caso houvesse discordância quanto aos resultados e ao risco de viés um terceiro revisor iria colaborar com a decisão das análises dos artigos, o que não foi necessário, já que os artigos não apresentaram risco alto de viés e os dois revisores estavam em concordância.

5. RESULTADOS

As etapas de seleção dos artigos utilizado na revisão sistemática são apresentadas na Figura 6.

Figura 6: Identificação dos estudos por meio do banco de dados



Fluxograma da seleção dos artigos a serem incluídos na revisão sistemática segundo os critérios de elegibilidade empregados no estudo.

A seleção dos artigos foi embasada nos critérios de inclusão a partir da leitura dos títulos e dos resumos. Na sequência foi realizada uma leitura na íntegra com o objetivo de selecionar os artigos de interesse.

Os artigos selecionados totalizaram 3.897 artigos, sendo: 51 Cochrane Library; 246 Lilacs; 2 Scielo; 772 Pubmed e 2.826 Embase. Antes da triagem alguns artigos foram excluídos, como: artigos duplicados (n=525), artigos de revisão sistemática (n= 10), artigos de revisão de literatura (n= 12), meta-análise (n=3) e outros artigos que pesquisaram animais diferentes do foco da revisão sistemática, tais como: cão (n= 11), suíno (n= 7), peixe (n= 6) e coelho (n=4).

Na seleção de triagem, havia 3.319 artigos. Após a leitura dos títulos e dos resumos seguindo os critérios de inclusão e exclusão, restaram 21 artigos para leitura na íntegra. Dos mesmos, foram excluídos 15 artigos, pois as nanopartículas e medicações utilizadas nesses estudos eram direcionadas de forma ativa, estavam ligadas a receptores, ou ainda utilizavam tratamentos naturais e não tinham relação com o tema proposto, restando 6 artigos para o estudo.

5.1 RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS SELECIONADOS

Para identificar o possível risco de viés, foi necessário analisar os artigos selecionados e responder as questões conforme cada pergunta de sinalização conforme mostra o Quadro 3. Através das respostas das perguntas de sinalização é possível fornecer bases para o julgamento sobre o risco de viés. O julgamento do risco de viés é classificado conforme as respostas, SIM indicam baixo risco de viés, NÃO indicam alto risco de viés e DADOS INSUFICIENTES indicam que não é possível atribuir viés.

De acordo com os estudos, apenas dois autores relataram a sequência de alocação dos animais, as características dos animais em tratamento e animais controle, nos demais estudos não havia informações sobre a alocação dos diferentes grupos, não havia informações sobre o alojamento dos animais e se foi realizado de forma aleatória, não havia informações se os investigadores estavam cegos quanto à intervenção recebida, não havia informações se os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados. Em todos os estudos haviam dados dos resultados obtidos a partir dos experimentos, bem como não apresentaram problemas que poderiam resultar em alto risco de viés.

Quadro 3: Resultado risco de viés conforme ferramenta SYRCLE

Perguntas de sinalização										
Autor/Ano	1. A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente?	2. Os grupos foram semelhantes na linha de base ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?	3. A alocação foi adequadamente ocultada?	4. Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?	5. Os cuidadores e/ou investigadores estavam cegos quanto ao conhecimento de qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?	6. Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação dos resultados?	7. O avaliador de resultados estava cego?	8. Os dados de resultados incompletos foram tratados adequadamente?	9. Os relatórios do estudo estão livres de relatórios seletivos de resultados?	10. O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?
Shuai et al., 2020	SIM	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM
Teng et al., 2016	INCERTO	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM
Cervin et al., 2010	INCERTO	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM
Elzoghby et al., 2013	SIM	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM
Hoang et al., 2014	INCERTO	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM
Hoang et al., 2017	INCERTO	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM

Fonte: Quadro adaptado Hooijmans et al., (2014)

Tabela 1: Risco de viés em estudos individuais conforme ferramenta Syrcles

AUTOR E ANO	RISCO DE VIES – FERRAMENTA SYRCLES									
	SELEÇÃO			DESEMPENHO		DETECÇÃO		ATRITO	RELATORIO	OUTROS
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shuai et al., 2020	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Teng et al., 2016	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Cervin et al., 2010	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Elzoghby et al., 2013	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Hoang et al., 2014	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Hoang et al., 2017	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

● SIM ● NAO ● DADOS INSUFICIENTES

Fonte: autor.

Sendo assim, conforme a tabela acima, não foi identificada nenhum risco alto ou limitação metodológica que exigisse a exclusão dos artigos selecionados para esta revisão sistemática.

5.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS SELECIONADOS

Os estudos selecionados foram publicados entre os anos de 2010 e 2021, na língua inglesa, e foram conduzidos nos seguintes países: China, Canadá, Suécia e Egito.

Os quimioterápicos que foram utilizados nos estudos selecionados foram: cabazitaxel (3), docetaxel (2) e flutamida (1). Todas as drogas foram revestidas com nanopartículas com o objetivo de tratar ratos e camundongos induzidos ao câncer de próstata ou ainda que possuíssem resistência medicamentosa. No quadro 3, foram descritos os animais utilizados na pesquisa, as intervenções, o controle e o desfecho quanto a perda de peso.

Quadro 3. Apresentação dos estudos selecionados

ESTUDO	POPULAÇÃO	INTERVENÇÃO			CONTROLE	DESFECHO	
Autor/Ano	Modelo animal	Nanopartícula	Medicação + via administrada	Dose	Controle	Tamanho da NPs	Perda de peso dos animais
Shuai et al., 2020	Camundongos nus BALB (4-5 semanas de idade), cinco grupos (n=7) por grupo. Camundongos ICR (4-5 semanas de idade) 5 grupos (n=10) por grupo.	Metoxi poli (etilenoglicol) poli (lactídeo) (MPEG-PLA)	Carbazitaxel (IV)	8mg/kg 15mg/kg 30mg/kg	Solução salina CTX – livre	20-30nm.	CTX livre - ↓ 15%. CTX livre - ↓ 27,8. CTX - NPs simples 30,6%.
Teng et al., 2016	Camundongos nus BALB (6 semanas de idade) três grupos (n = 6) por grupo.	Albumina sérica humana (HSA)	Cabazitaxel (IV)	8mg/kg	Solução salina CBZ-Tween	110-140 nm.	Cbz-Tween perderam mais peso que Cbz-NPs
Cervin et al., 2010	Camundongos machos SCID (4-6 semanas de idade) Estudo 1: 30 camundongos divididos em três grupos (n = 10) por grupo. Estudo 2: 18 camundongos divididos em dois grupos (1 grupo de 12 e 1 grupo de 6 animais).	Nanopartículas de cristal líquido (LCNPs)	Estudo 1: Docetaxel (IV) Taxotere (IP) Estudo 2: Docetaxel (IV) Taxotere (IV)	1,62mg/kg 1,35mg/kg	LCNP vazio	80–90 nm	LCNP/docetaxel e Taxotere perderam peso durante o estudo.
Elzoghby et al., 2013	Ratos Sprague Dawely Divididos em três grupos de 8 ratos.	Micelas de CAS carregadas com FLT	Flutamida (IV)	12mg/kg	Solução salina FLT livre	100nm	Redução da próstata e vesícula seminal 11,86 e 17,74% droga livre e 34,62 e 24,59% FLT – micelar.
Hoang et al., 2014	Camundongos BALB divididos em 3 grupos (n = 5) por animais. Camundongos NOD-SCID divididos em 3 grupos (n = 10) por animais.	Polímero de carboximetilcelulose conjugado com docetaxel e PEG (Cellax)	Docetaxel (IV)	170mg/kg 20mg/kg 10mg/kg	Solução salina	122nm	DTX - 13,2% Cellax - Não houve perda de peso significativa.
Hoang et al., 2017	Camundongos NOD-SCID divididos em 3 grupos (n = 5) por animais.	Carboximetilcelulose (Cellax-CBZ)	Cabazitaxel (IV)	55mg/kg	Solução salina CBZ livre	100nm	Solução salina – 10%. CBZ livre em modelo PC3- RES – 12 a 17%.

Fonte: Autor.

5.2.1 Animais

Em três estudos (SHUAI et al., 2020; TENG et al., 2016; HOANG et al., 2014), foram usados os mesmos animais, camundongos “Nude” da linhagem BALB. Ainda na pesquisa de Shuai et al., (2020) foram utilizados camundongos do Institute of Cancer Research – ICR. Já os pesquisadores Cervin et al., (2010); Hoang et al., (2014) e Hoang et al., (2017) utilizaram os camundongos com síndrome da imunodeficiência combinada severa (SCID), entretanto nos estudo (Hoang et al., 2014; 2017) os camundongos além de serem imunodeprimidos eram diabéticos e obesos (NOD). Diferente dos outros estudos, os autores Elzoghby et al., (2013) utilizaram ratos Sprague Dawely.

Em quatro estudos analisados (TENG et al., 2016; Cervin et al., 2010; Hoang et al., 2014; e Hoang et al., 2017), o câncer de próstata nos animais foi induzido através de células cancerígenas de próstata PC-3 através de injeção via subcutânea nos flancos dos animais. Após isso, determinaram o valor do crescimento tumoral. Ainda nas pesquisas de Hoang et al., (2014) e Hoang, et al. (2017), por se tratar de resistência medicamentosa, os animais receberam células PC-3 e células C4-2B-RES, respectivamente, diretamente na medula óssea. No estudo de Elzoghby et al. (2013), os ratos foram induzidos ao câncer de próstata através do hormônio andrógeno e as dosagens dos níveis de PSA foram realizados para confirmar o câncer de próstata. Nos estudos de Shuai et al., (2020) foram utilizados camundongos ICR saudáveis e os animais receberam células de câncer de próstata humano Du-145 nos flancos via subcutânea.

5.2.2 Intervenção

Nos estudos de Shuai et al., (2020) foram injetados nos camundongos nus BALB por via intravenosa, o tratamento conjugado de NPs (CTX-NPs a 8 mg/kg, mPEG2k-PLA2kCTX NPs a 15 mg/kg, e mPEG4k-PLA4k-CTX NPs a 15 mg/kg durante 30 dias. Os camundongos ICR receberam medicamentos através da veia da cauda, sendo CTX-NPs a 15 mg/kg, mPEG4k-PLA4k-CTX NPs a 15 e 30mg/kg.

Teng et al., (2016) avaliaram as nanopartículas de albumina sérica – HSA carregadas com cabazitaxel a 8mg/kg e cabazitaxel ligada por tween a 8mg/kg.

Cervin et al., (2010) realizaram dois estudos. No estudo 1, as nanopartículas de cristal de líquido (NPCL) com docetaxel (1,62mg) foram administradas por via intravenosa e o taxotere foi administrado via intraperitoneal, com doses de 1,62mg. No estudo 2, foi administrado NPCL com docetaxel e taxotere via intravenosa, ambos com dose total de 1,35mg/kg. Elzoghby et al., (2013) utilizaram em sua formulação flutamida carregado com nanopartículas micelares de caseína (CAS) e solução de flutamida livre, ambos com 12mg/kg via intravenosa.

Hoang et al., (2014) prepararam polímero de carboximetilcelulose conjugado com docetaxel e PEG (cellax). Os animais inoculados com o tumor PC-3 receberam dose de DTX 20mg/kg e cellax 170mg/kg. Após inoculação de células PC-3 na medula óssea, os animais receberam doses de DTX 10mg/kg e cellax 170mg/kg. Nos estudos de Hoang et al., (2017), também foi utilizado o polímero cellax, entretanto conjugado com cabazitaxel para tratar os animais com CaP e metástase óssea resistentes ao docetaxel. As concentrações administradas foram 2mg/kg de CBZ livre e 55mg/kg de cellax.

5.2.3 Controle

Dentre os estudos selecionados, Teng et al., (2016); Elzoghby et al., (2013); Hoang et al., (2014); e Hoang et al., (2017), analisaram o grupo de animais controle com o uso de solução salina (n=4). Outros estudos (Shuai et al., (2020); Cervin et al., (2010); Elzoghby et al., (2013); Hoang et al., (2014); e Hoang et al., (2017), compararam os animais através de medicações livres de NPs (n=4) e um estudo Cervin et al., (2010) avaliou a atividade da NP vazia.

5.2.4 Desfecho

Todas as nanopartículas desenvolvidas apresentaram tamanhos maiores que 5 nm e menores que 200 nm, o limite do tamanho das NPs permite o direcionamento das mesmas ao tumor através do efeito de permeabilidade e retenção. Todos os estudos analisados tiveram redução do tumor com o uso de NPs e medicamentos e a perda de peso dos animais foram menores quando comparado ao controle e ao uso medicamento livre.

No Quadro 4, foram listados os autores, seus objetivos e conclusões. Em todos os estudos analisados, foi possível observar a eficiência do uso de nanopartículas carreando medicações para tratar o câncer de próstata induzido em animais.

Quadro 4: Apresentação dos estudos, objetivos e conclusão.

Autor e ano	Estudo	Objetivo	Conclusão
SHUAI et al., 2020	Self-assembling poly(ethylene glycol)-block-poly(lactide-co-glycolide)-cabazitaxel conjugate nanoparticles for anticancer therapy with high efficacy and low in vivo toxicity	Conceber uma nova classe de nanoterapias montadas com pró-drogas poliméricas que mantêm a atividade farmacológica enquanto aliviam substancialmente a toxicidade da droga em animais.	(i) liberação sustentada do fármaco na circulação sistêmica, impedindo a liberação inicial do fármaco; (ii) síntese fácil de estruturas quimicamente bem definidas para conjugados polímero-droga; (iii) flexibilidade na escolha de ligações químicas para a conjugação de drogas, em que é possível integrar racionalmente uma variedade de ligações que respondem ao microambiente tumoral para uma cinética de liberação de drogas adaptável; (iv) materiais convencionais de PEG/PLA aprovados pela FDA; (v) um processo simples de automontagem de uma etapa para a fabricação de nanoterapias de 50nm adequadas para a penetração profunda do tumor; e (vi) toxicidade do fármaco aliviada com uma margem de segurança elevada em comparação com as formulações não covalentes tradicionais.
TENG et al., 2016	Cabazitaxel-loaded human serum albumin nanoparticles as a therapeutic agent against prostate cancer	Nanopartículas de albumina de soro humano carregadas com cabazitaxel (Cbz-NPs) foram sintetizadas para superar a toxicidade relacionada ao veículo da formulação clínica atual do medicamento com base em	Os resultados deste estudo mostraram que Cbz-NPs têm vantagens de segurança significativas em comparação com Cbz-Tween. Cbz-NPs mostrou circulação sanguínea prolongada e

		Tween-80 (CbzTween).	aumento do acúmulo de Cbz em tumores, juntamente com toxicidade reduzida. Portanto, os Cbz-NPs têm potencial na futura terapia clínica do câncer de próstata.
CERVIN et al., 2010	Properties and effects of a novel liquid crystal nanoparticle formulation of docetaxel in a prostate cancer mouse model	Desenvolver uma formulação de nanopartículas de docetaxel segura e eficaz.	A formulação LCNP / docetaxel usada neste estudo mostrou um efeito significativamente melhor na regressão do tumor, em comparação com o Taxotere disponível comercialmente. A coloração imunohistoquímica de tecidos tumorais não mostrou grandes diferenças entre os dois grupos de tratamento. No entanto, a expressão do Ki-67 no núcleo do tecido tumoral colhido foi reduzida no LCNP / docetaxel, o que pode refletir uma melhor capacidade de penetração desta substância.
Elzoghby et al., 2013	Micellar Delivery of Flutamide Via Milk Protein Nanovehicles Enhances its Anti-Tumor Efficacy in Androgen-Dependent Prostate Cancer Rat Model	Descrever e a preparação, caracterização físico-química da formulação de flutamida (FLT) à base de micelas automontadas de caseína biocompatível (CAS) com o objetivo de controlar a liberação do fármaco, aumentar sua eficácia antitumoral e reduzir sua hepatotoxicidade.	O uso de micelas de FLT-CAS apresentou maior atividade antitumoral que o fármaco livre, representada pela diminuição do nível sérico do antígeno prostático específico (PSA). Descobriu-se que as micelas FLT-CAS reduzem com eficiência a proliferação celular do tumor da próstata, inibem a angiogênese tumoral e aumentam a indução de apoptose tumoral. O risco de hepatotoxicidade também foi menor para micelas de drogas do que para droga livre. As micelas FLT-CAS podem servir como um agente terapêutico potencialmente

			novo no tratamento de tumores de próstata.
Hoang et al., 2014	Docetaxel-carboxymethylcellulose nanoparticles display enhanced anti-tumor activity in murine models of castration-resistant prostate cancer	Desenvolver um sistema aprimorado de administração de medicamentos para mitigar a toxicidade do DTX e reduzir o desenvolvimento de resistência aos medicamentos, com intuito de prolongar o tempo que os pacientes podem permanecer sob a quimioterapia DTX.	Os camundongos com metástases de câncer de próstata para o osso, tratados com Cellax apresentaram de 2 a 3 vezes melhora, sobrevivência e qualidade de vida em relação ao uso de DTX nativo e controle.
Hoang et al., 2017	Cabazitaxel-conjugated nanoparticles for docetaxel-resistant and bone metastatic prostate cancer.	Desenvolver de um sistema de distribuição baseado em polímero para CBZ para melhorar sua segurança e eficácia contra mCRPC resistente a DTX.	Cellax-CBZ exibiu distribuição ao tumor 157 vezes maior em comparação com CBZ livre, com acúmulo reduzido na maioria dos órgãos. Cellax-CBZ forneceu cura durável (> 120 dias) para 70% dos camundongos com osso metastático e CaP resistente a DTX, enquanto camundongos tratados com solução salina e CBZ livre sucumbiram à doença no primeiro mês.

6. DISCUSSÃO

Os animais ratos e camundongos foram utilizados nos estudos experimentais. Os autores Shuai et al., (2020); Teng et al., (2016) e Hoang et al., (2014) utilizaram em suas pesquisas os camundongos “Nude” da linhagem BALB. Os mesmos surgiram pela primeira vez na Escócia em 1962 e possuem mutação no cromossomo 11. Os camundongos machos homozigotos não possuem timo, o que os tornam deficientes na produção de linfócitos T e, por isso, são muito utilizados em pesquisas devido à diminuição da resposta imune (Santos, 2002). Ainda na pesquisa de Shuai et al., (2020) foram manuseados os camundongos do *Institute of Cancer Research* (ICR), que são animais endogâmicos, utilizados em pesquisa devido ao baixo custo, à facilidade na reprodução e ao crescimento acelerado (KIM et al., 2017).

No estudo de Cervin et al., (2010); Hoang et al.,(2014) e Hoang et al.,(2017) foram utilizados camundongos com síndrome da imunodeficiência combinada severa (SCID). Os mesmos possuem gene recessivo autossômico no cromossomo 16 e não possuem linfócitos T e B, sendo utilizados em pesquisas com metástase tumoral. (Santos, 2002). Já Elzoghby et al., (2013) utilizaram ratos Sprague Dawely, um modelo animal heterogêneo muito utilizado em pesquisas de toxicologia e farmacologia por serem dóceis e de fácil manejo. Esses animais, quando fêmeas, são muito usados em estudos para a indução tumoral, pois são mais suscetíveis ao câncer de mama (NEVES et al., 2013).

Quanto às nanoparticuladas empregadas, os polímeros sintéticos mais utilizados são o poliácido lático (PLA) e o polietilenoglicol (PEG). Ambos são usados de forma combinada (mPEG- PAG) e quando associada a outros polímeros exercem notáveis carreadores moleculares que podem ser administrados em meio aquoso ou lipídico (Carvalho Lopes; Pereira Torres, 2020). Os copolímeros em bloco anfifílicos (uma parte polar hidrofílica e outra apolar hidrofóbica) são usados para transportar drogas hidrofóbicas, como por exemplo, o cabazitaxel, mantendo maior tempo em circulação sanguínea, diminuindo a liberação da droga e conseqüentemente alcançando o tumor para a entrega do medicamento (CHEN et al., 2021).

No estudo de Shuai et al., (2020) foi realizado uma nanoterapia de pró-fármaco polimérico anfifílico com objetivo de manter a atividade farmacológica e diminuir os efeitos tóxicos em modelos pré-clínicos. Os conjugados anfifílicos de

mPEG-PLA-CTX foram realizados com vários comprimentos de bloco de PEG e PLA e sua produção trouxe como resultado a liberação da medicação de forma lenta com limitação de exposição da droga livre em tecidos e outros órgãos. Os estudos que utilizaram nanopartículas conjugado ao PEG, obtiveram resultados promissores no direcionamento das NPs em células-alvo sem expor outros tecidos ou sofrerem com a opsonização do sistema reticuloendotelial (CHEN; MOHANRAY, 2006).

Os autores de Teng et al., (2016) empregaram o uso de albumina sérica humana (HSA) para a construção de nanopartículas de cabazitaxel (Cbz-NPs), as quais foram sintetizadas por salting up (remoção de substâncias aquosas) e comparadas com nanopartículas oriundas de polissorbato 80 (Cbz-Tween), uma substância comercialmente tóxica, cujo a formulação de medicamentos pode trazer efeitos colaterais ao organismo. Já albumina corresponde à maior concentração de proteínas plasmáticas, sendo um ótimo carreador de medicamento para o tumor devido a sua alta solubilidade. Qu et al., (2019) também desenvolveram nanopartículas com o uso de albumina sérica humana, para tratar câncer de pulmão encapsulando o docetaxel, e relataram sobre a toxicidade causada pelo uso de polissorbato 80 em formulações de taxotere em tratamentos de tumores.

A via intravenosa foi a escolha na maioria dos estudos incluídos, com exceção do estudo de Cervin et al., (2010) que compararam o uso de medicamento livre via intraperitoneal (taxotere 1,62mg/kg) e LCNP/docetaxel via intravenosa. Mesmo com a diferença de administração o taxotere livre mostrou ter menor efeito antitumoral.

O uso de docetaxel pode ocasionar limitações quanto à solubilidade e a estabilidade, estimando a pesquisa quanto à formulação de novos medicamentos menos tóxicos com maior penetração e direcionamentos em tecidos tumorais (SOHAIL et al., 2018). Foram elaboradas nanopartículas cristalinas líquidas (LCNPs) de encapsulamento eficaz com estabilidade na liberação do medicamento em estudos pré-clínicos. Dois estudos distintos foram realizados, sendo o estudo 2 confirmatório dos resultados do estudo 1. Os dois estudos pesquisaram o uso de LCNP/docetaxel e taxotere livre, entretanto no estudo 1 o taxotere foi administrado via intraperitoneal (IP), diferente do estudo 2 em que as medicações foram administradas via intravenosa (CERVIN et al., 2010).

O estudo de Elzoghby et al., (2013) houve a utilização da medicação flutamida (FLT), justificada pelo fato de ser mais eficaz e segura na inibição e ligação

com di-hidrotestosterona ao receptor de célula-alvo, que afeta o antígeno específico da próstata (PSA) no plasma. Essa medicação possui baixa solubilidade aquosa, baixa permeabilidade e hepatotoxicidade. Em vista disso, foi elaborada uma nanopartícula a partir da caseína (CAS), uma proteína do leite que facilita a liberação da droga devida sua característica anfifílica. As nanopartículas de caseína podem envolver diversas características de drogas, como as drogas hidrofóbicas ou hidrofílicas. Além do mais, são baratas e de fácil acesso, biodegradáveis e não são tóxicas ao organismo. De acordo com os autores Zhen et al., (2013) em uma pesquisa realizada anteriormente, foram preparadas nanopartículas ocas de caseína em solução aquosa e como resultados observaram excelentes penetrabilidades em barreiras celulares tumorais.

O uso de medicamentos por longos períodos pode causar uma elevada toxicidade e surgimento de resistência ao tratamento. Os pesquisadores Hoang et al., (2014) produziram uma nanopartícula carboximetilcelulose (Cellax) com uso de docetaxel com a intenção de inibir atividade tumoral de camundongos resistentes à castração. Em um novo estudo publicado em 2017, foram realizadas análises da mesma nanopartícula, entretanto com uso de cabazitaxel em animais com câncer de próstata e metástase óssea resistente ao docetaxel, o objetivo foi direcionar o medicamento direto para o tumor preservando os órgãos dos animais tratados (HOANG et al., (2017).

De acordo com Anselmo e Mitragotri (2016) a administração via intravenosa de nanopartículas e medicamentos possuem mais acesso ao tecido corporal, com maior potencial e probabilidade de chegar ao destino biológico. Em todos os estudos selecionados as nanopartículas que encapsularam os medicamentos mantiveram-se por mais tempo em circulação até atingir o tecido tumoral via efeito EPR. O tamanho das nanopartículas interfere no direcionamento aos tumores, tamanhos de NPs inferior a 200nm são mais fáceis no direcionamento de modo passivo aos tumores através do efeito de EPR, e na qual se mostrou mais eficaz quando comparado com a droga livre.

Em geral, todos os estudos que direcionaram as nanopartículas ligadas a medicamentos de forma passiva até o tecido tumoral através do efeito de EPR mostraram resultados significantes na eficácia terapêutica quando comparado aos medicamentos livres. Isso é possível, pois os quimioterápicos de baixo peso molecular são eliminados rapidamente por meio da filtração glomerular renal. Já com

uso de nanocarreadores incorporados com quimioterápicos prolongam à farmacocinética e aumentam a biodisponibilidade como consequência. Por isso, a sobrevivência dos animais e a redução tumoral foram maiores com drogas incorporadas quando comparado com a droga livre (FOX et al., 2009).

De acordo com Mehanna et al., (2021) a angiogênese é imprescindível para o crescimento tumoral. Fatores de crescimento estimulam a angiogênese bem como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1). Na pesquisa de Elzoghby et al., (2013) o emprego das micelas CAS com flutamida e flutamida livre reduziu significativamente os níveis de crescimento angiogênicos, mas nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos. Quanto à atividade antitumoral, a micela CAS ligada flutamida apresentou melhores resultados com diminuição dos níveis de PSA, quando comparado ao fármaco livre.

Nos estudos Cervin et al., (2010) houve inibição da angiogênese a partir da diminuição dos níveis de VEGF em tumores tratados com LCNP/docetaxel e taxotere livre. Com a semelhança da inibição de angiogênese os autores concluíram que a eficácia do uso de nanopartícula não se deve à inibição de angiogênese e sim devido às propriedades de penetração das nanopartículas.

Apenas três estudos (HOAG et al., 2014; HOANG et al., 2017; e SHUAI et al., 2020) avaliaram o índice de polidispersão, com valores de: Cellax-DTX 0,14; Cellax-CBZ $0,115 \pm 0,036$; CTX-NPs $0,149 \pm 0,020$; mPEG2k-PLA2-CTX NPs $0,188 \pm 0,031$; e mPEG4k-PLA4k-CTX NPs $0,140 \pm 0,022$, respectivamente. Os resultados de PDI foram benéficos em todas as nanopartículas desenvolvidas pelos pesquisadores, com índice próximo a 0,0 que é indicativo de maior uniformidade das partículas, e traz melhores resultados quanto à captação celular por endocitose. Assim como nos três estudos, os pesquisadores Gao et al., (2019) utilizaram nanopartícula de caseína modificada com mentol para tratar camundongos com tumor cerebral os valores de índice de polidispersão das nanopartículas também estavam próximos a 0,0 com valores de $0,20 \pm 0,1$ PDI.

Nos estudos de Elzoghby et al., (2013) as micelas de CAS mostraram um valor de potencial zeta de -33,6 a -37,3mV que é indicativo de boa estabilidade coloidal. Os autores Hoang et al., (2014) avaliaram o potencial zeta resultando em $-0,8 \pm 3,1$ mV. Para uma alta estabilidade, o valor de potencial zeta deve ser menor que -30mV ou maior que +30mV, o que as fará serem consideradas catiônicas ou

aniônicas, respectivamente. As nanopartículas de potencial zeta negativo (aniônicas) possuem mais afinidade pela membrana celular. Por isso, são mais capturadas pelas células quando comparadas as de potencial zeta positivo (catiônicas) (DUAN; LI, 2012).

Para realizar os tratamentos de câncer, inúmeras doses de quimioterápicos são realizadas, desde que não haja toxicidade devido à dose máxima tolerada. Em estudos pré-clínicos, é possível verificar a relação da dose medicamentosa quanto à diminuição tumoral e perda de peso dos animais. Determinar a dose máxima tolerada em estudos pré-clínicos auxilia a avaliação das doses iniciais de tratamento utilizadas em humanos, por considerar os efeitos colaterais (ASTON et al., 2017).

No estudo Hoang et al., (2014) a dose máxima tolerada para tratar os animais foi de 20mg DTX livre e 170mg DTX ligado ao Cellax por três semanas consecutivas. A diferença entre as doses foram significativa, os animais tratados com Cellax não tiveram perda de peso corporal, entretanto os camundongos tratados com DTX livre apresentaram perda de 13,2% de peso corporal. Além disso, nenhuma alteração dos parâmetros hematológicos foi observada nos animais tratados com Cellax. A diferença das doses é relevante, e indica que é possível empregar maiores doses encapsuladas no tratamento de câncer de próstata, sem prejudicar outros órgãos e tecidos.

Os pesquisadores Hoang et al., (2017) avaliaram a biodistribuição de CBZ livre e Cellax-CBZ com dose única de 20mg/kg. A biodistribuição do medicamento determina a eficácia no tratamento e a toxicidade sistêmica. A captação tumoral do Cellax-CBZ ocorreu 72 horas após a administração, diferente do CBZ livre que ocorreu após 3 horas e era 20 vezes menor quando comparado ao Cellax-CBZ. Ao analisar esses resultados, pode-se perceber que várias doses de CBZ livre deveria ser realizado para tratamento, diferente do Cellax conjugado com CBZ que necessita de menos dose por permanecer mais tempo em circulação sanguínea.

Assim como Hoang et al., (2017) e Hoang et al., (2014) os pesquisadores Roy et al., (2014) desenvolveram nanopartículas à base de carboximetilcelulose no carreamento de docetaxel para tratar câncer de mama em modelos *in vivo*. O docetaxel livre foi administrado com dose máxima tolerada de 10mg/kg, já o uso de Cellax- docetaxel teve dose aumentada com uso de 30mg/kg e exibiu eficácia no tratamento com inibição de 90% do crescimento tumoral. Os camundongos tratados com docetaxel livre tiveram 10% de perda corporal. Assim como em tratamento de

câncer de próstata, os pesquisadores concluíram que doses aumentadas de quimioterápicos, podem ser utilizadas para tratar os camundongos com câncer de mama de forma segura.

A atividade tumoral dos animais tratados foi avaliada de acordo com a regressão tumoral e a diminuição do peso corporal. Para avaliação antitumoral os autores Shuai et al., (2020) analisaram os camundongos nus Balb. Os animais tratados com solução salina exibiam um crescimento tumoral rápido e contínuo, os animais tratados com CTX livre a 8mg/kg apresentaram redução tumoral, entretanto os que foram tratados com mPEG2k- PLA2k-CTX e mPEG4k-PLA4k-CTX NPs 15mg/kg tiveram uma redução significativa com desaparecimento tumoral em três de sete camundongos. Os melhores resultados foram observados através da administração de mPEG4k-PLA4k-CTX NPs a 15 mg/kg, o que produziu uma regressão do tumor durante todo o estudo. Além disso, com o uso da dose aumentada, não houve queda de peso dos animais, diferente dos que usaram a dosagem CTX livre a 8mg/kg e tiveram perda corporal de 15%.

Na avaliação antitumoral de Teng et al., (2016) tanto o uso de Cbz-NPs e Cbz-Tween diminuíram o tumor dos animais com câncer de próstata, entretanto os animais tratados com Cbz-Tween mostraram maior redução do peso corporal quando comparado com o uso de Cbz-NPs. Em uma pesquisa realizada pelos autores Qu et al., (2019) para tratamento de câncer de pulmão em animais, o uso de nanopartículas HSA e docetaxel exibiram efeitos terapêuticos com melhores resultados quando comparado ao docetaxel livre. Além disso, as nanopartículas permaneceram mais tempo em circulação sanguínea com efeito aprimorado na permeabilidade e retenção.

De acordo com Cervin et al., (2010) o estudo 1 obteve resultados promissores no uso de LCNP/docetaxel com regressão tumoral dos camundongos pesquisados (volume tumoral de 10% ou menos), e o uso de taxotere também apresentou regressão tumoral (volume tumoral de 18%). Já o uso de LCNP vazio não apresentou redução tumoral como já era esperado. No estudo 2, é possível observar resultados ainda mais promissores quanto ao uso de LCNP/docetaxel (volume tumoral de $13 \pm 7\%$), com regressão tumoral ainda maior quando comparado com a formulação de taxotere (volume tumoral de $39 \pm 13\%$). Diante disso, observou-se que o uso de LCNP/docetaxel trouxe melhores resultados quanto a regressão do tumor, sendo confirmado pelo estudo 2. Nos dois estudos o uso de

medicação trouxe perda de peso para os camundongos devido à perda de massa tumoral diferente do uso de LCNP vazio em que não houve perda de peso.

Em um estudo para tratar câncer de mama com metástase óssea, os pesquisadores Thapa et al., (2016) avaliaram a eficácia da combinação de cisplatina e docetaxel encapsulados com LCNP ligados ao folato no direcionamento ao câncer. Os animais em tratamento com a droga livre tiveram redução de peso corporal, diferente dos animais tratados com medicação nanoparticulados e ligado ao folato, que não apresentaram perda de peso corporal durante o estudo. Além disso, tiveram uma sobrevida de 100% dos animais tratados com nanopartículas. De acordo com os autores, esses resultados são possíveis devidos o tempo prolongado das medicações encapsuladas, e como consequência a diminuição dos efeitos adversos.

Para analisar a eficácia antitumoral os autores Elzoghby et al., (2013) avaliaram o nível sérico de PSA. Os ratos tratados com FLT livre 12mg/kg tiveram a redução de PSA de 12,84% e 55,43% no 14° e 28° dias, respectivamente. Quando comparado com as micelas de CAS carregadas com FLT, houve maior redução dos níveis de PSA, sendo de 42,45% e 65,95%. O peso relativo (%) da próstata e da vesícula seminal em relação ao peso corporal dos ratos também foi analisado o tratamento com FLT livre teve peso de 11,86% (próstata) e 17,74% (vesícula seminal), já o tratamento com micelas CAS e FLT teve uma redução de 34,62% (próstata) e 24,59% (vesícula seminal). De acordo com os autores, essa redução de PSA e peso relativo (%) comparando a FLT livre e a FLT ligada a CAS sucede devido à permeação e retenção aprimorada do sistema de entrega manométrico. As micélas CAS-FLT com tamanho de 74,6nm passam livremente nas junções endoteliais dos capilares do tecido tumoral trazendo melhores resultados no tratamento.

No tratamento de camundongos portadores de glioma Gao et al., (2019) utilizaram diferentes formulações de nanopartícula encapsulando hidroxycamptotecina modificados com mentol e compararam com uso da medicação livre. Os resultados também foram promissores com o uso das medicações encapsuladas, e o tempo de sobrevida dos animais foi cerca de 1,5 vezes maior em animais tratados com a nanopartícula de caseína e mentol. Os órgãos (coração, baço, fígado, pulmão e rim) foram retirados e corados com H&E para análise de alterações histológicas, e nenhum dano significativo foi observado. Os pesquisadores concluíram que os nanocarreadores ligados a metanol possuem excelente

capacidade de penetração tumoral e baixa toxicidade sistêmica, prolongando a sobrevida média dos camundongos no estudo.

Os camundongos tratados com Cellax 170mg/kg uma vez por semana durante 3 semanas não apresentaram perda de peso. Entretanto os camundongos tratados com DTX 25mg/kg apresentaram perda de peso de 13,2% no 16° dia. Como já esperado, o Cellax reduziu o tumor completamente até os 120 dias de tratamento dos modelos de camundongos enxertados com tumor PC-3. Enquanto isso, os camundongos tratados com DTX demonstraram uma diminuição tumoral nos primeiros 20 dias, mas logo depois os tumores aumentaram e os animais tiveram que ser sacrificados no 44° dia. Já os animais de controle que utilizaram solução salina tiveram que ser sacrificados com 20 dias devido à dermatite ulcerativa grave. Os camundongos com metástase óssea também apresentaram resultados parecidos, os que foram tratados com Cellax tiveram uma sobrevida de 68 dias, no entanto os camundongos em tratamento com DTX e solução salina tiveram menor tempo de vida, sendo de 30,5 e 21 dias, respectivamente (HOANG et al., 2014).

Em dois estudos que foram realizadas microCT para visualizar e quantificar a degradação da metástase óssea, os camundongos tratados com DTX e CBZ, tiveram perda óssea intensa diferente dos camundongos tratados com Cellax e Cellax-CBZ que permaneceram normais em comparação com os animais saudáveis.

O uso de CBZ livre mostrou pouca atividade antitumoral em tumor de próstata resistente a DTX. Todos os tumores analisados excederam o tamanho de 1.000mm³ em 21 dias, o que foi comparável com a administração de solução salina. Em contrapartida, as nanopartículas de Cellax-CBZ obtiveram eficácia antitumoral por 64 dias. O estudo realizado com camundongos induzidos ao câncer de próstata resistente a castração com metástase óssea que foram tratados com CBZ estabilizou a doença por 35 dias, porém com 54 dias tiveram que ser sacrificados. O melhor resultado foi com uso de Cellax-CBZ, os camundongos perderam peso até o 14° dia, recuperando-se até o 120° dia e exibindo uma atividade antitumoral mais eficaz (HOANG et al., 2017).

Para análise histológica dos estudos foram utilizadas as seguintes colorações: hematoxilina e eosina (H&E, Sigma) e coloração terminal de desoxinucleotidil transferase mediada por *dUTP nick-end labeling* (TUNEL).

Os estudos de Shuai et al., (2020) e Teng et al., (2016) tiveram resultados promissores. Em ambos os estudos, o uso de CTX-NPs e CBZ-NPs,

respectivamente, diminuíram a toxicidade dos principais órgãos estudados e não houve sinais de necrose ou morte celular quando comparado com o grupo controle. Entretanto o mesmo não foi observado no estudo de Cervin et al., (2010) no qual o nível de apoptose foi realizado pelo ensaio de TUNEL e as células dos animais tratados com LCNP/docetaxel e taxotere livre não tiveram diferenças significantes de índice apoptótico, sendo $76,6 \pm 3,7\%$ e $74,4 \pm 4,8\%$ respectivamente.

Assim como Shuai et al., (2020) utilizaram mPEG-PLA em seus estudos, Cheng et al., (2011) desenvolveram nanopartículas com uso de mPEG-PLA encapsulando cisplatina no tratamento de câncer de ovário. Ao avaliar a toxicidade dos animais com o uso de diversas doses, observaram resultado de 40% na taxa de mortalidade de animais tratados com nanopartícula e cisplatina a 100mg/kg. Entretanto com o uso de cisplatina livre a 10mg/kg tiveram taxa de mortalidade de 62,5%. Com isso concluiu que o uso das nanopartículas carregadas com cisplatina, mesmo em doses maiores, traz maior segurança na aplicação clínica.

As amostras histopatológicas do estudo Elzoghby et al., (2013) foram coradas com H&E para análise da próstata dorso lateral dos ratos. Os ratos tratados com salina tiveram elevado número de lesões hiperplásicas e displásicas indicando o CaP, diferente do tratamento utilizando FLT livre e micelas CAS carregada de FLT, que reduziram as lesões. De acordo com os autores, ambos os tratamentos conseguiram cumprir com o objetivo terapêutico.

Os neutrófilos são células brancas presentes na corrente sanguínea. Quando há uma diminuição de neutrófilos usa-se o termo de definição neutropênia. Os pacientes submetidos à quimioterapia podem ter diminuição de neutrófilos, um dos principais efeitos adversos apresentados. Também, essa diminuição celular pode ser associada à mortalidade e morbidade dos pacientes em tratamento (Nascimento et al., 2014). O uso de CTX livre causou neutropenia nos camundongos estudados (Shuai et al., 2020). O mesmo pôde se observar nos camundongos tratados com DTX livre que apresentaram diminuição dos neutrófilos desde o início do tratamento até o final, diferente do uso das medicações nanoparticuladas que não provocaram essas alterações celulares HOANG et al., 2014).

Além dos estudos hematológicos e a proliferação celular, a toxicidade sistêmica reflete todos os efeitos adversos que são apresentados pelo modelo de estudo. Numa pesquisa *in vitro* sobre micela CAS-FLT, eles obtiveram como resultado a liberação lenta do fármaco com duração de 5 dias. Já o uso da

medicação livre foi liberada ligeiramente após 2 horas. Isso mostra o benefício do encapsulamento da FLT quanto à liberação do fármaco de forma lenta ao atingir o tumor. A administração do LCNP/docetaxel mostrou redução da proliferação celular no núcleo do tumor, quando comparado com o taxotere livre. Isso se dá devido à capacidade de penetração da nanopartícula no tumor, porém concluíram que novos estudos deveriam ser realizados (CERVIN et al., (2010).

O aumento de alanina aminotransferase (ALT) está correlacionado com os danos celulares do fígado. Para avaliação de toxicidade os autores Elzoghby et al., (2013) e Hoang et al., (2014) dosaram o ALT do soro dos ratos e camundongos. Os níveis séricos de ALT com uso de FLT livre foi maior que o uso de micelas CAS-FLT e o uso de Cellax não apresentaram alterações sorológicas. Esses resultados indicam a vantagem do uso de nanopartículas na incorporação da flutamida e docetaxel. Nos estudos de Teng et al., (2016) e Hoang et al., (2017) também foi possível observar alterações do fígado, entretanto não foi dosado o ALT, as alterações foram observadas de análise histológica.

Nos estudos que foram analisados camundongos fêmeas com carcinoma de mama metastático, utilizaram como tratamento o Cellax (170mg/kg de docetaxel) comparado com uso abraxane (170mg/kg paclitaxel). No primeiro tratamento, um total de 85% de camundongos tratados com abraxane desenvolveram metástase pulmonar e apenas 40% dos camundongos tratados com cellax tinham nódulos pulmonares. No segundo tratamento, os animais tratados com abraxane apresentaram toxicidade grave com metástase (osso, baço, fígado, espaço intraperitoneal e rim), já os animais tratados com cellax não apresentaram metástase, os tumores estavam ausentes nos órgãos (ERNSTING et al., 2012)

Apenas nos estudos de Cervin et al., (2010) e Elzoghby et al., (2013) foram analisados o uso da expressão da proteína humana Ki-67, associada com a proliferação celular tumoral. No estudo de Elzoghby et al., (2013) as imagens dos três estudos (CAS-FLT, FLT livre e solução salina) foram observadas em microscópio e obtiveram os seguintes resultados: os ratos tratados com FLT livre e de controle apresentaram uma elevada coloração indicando mais células Ki-67. Já os ratos tratados com micelas de CAS-FLT a coloração estava muito mais fraca indicando a inibição de proliferação e crescimento celular. Da mesma forma, o tratamento com uso de LCNP/docetaxel em camundongos mostrou redução de

células coradas com Ki-67e o índice de proliferação celular foi muito mais baixo do que o tratamento com taxotere livre.

Como foi observado em todos os estudos analisados, houve a diminuição dos pesos dos animais tratados com medicação livre e, algumas das doses administradas eram menores quando comparadas as medicações carreadas por nanopartículas. Os estudos que utilizaram nanopartículas resultaram na diminuição dos tumores. Como mencionado o tempo de sobrevivência dos animais tratados com nanopartículas foi maior em comparação com os grupos controles (uso de solução salina e medicação livre). A eficácia do tratamento se deu devido à permanência maior dos medicamentos nanoparticulados em circulação sanguínea, aprimorando o efeito de permeabilidade e retenção. Os tecidos que foram analisados, como: fígado; rins; ossos; baço e pulmão, ou ainda, marcadores sorológicos de alanina aminotransferase (ALT) e leucócitos tiveram melhores resultados com o uso de medicação e nanopartícula.

7. CONCLUSÃO

As nanopartículas utilizadas para tratar câncer de próstata em animais foram: polímero de carboximetilcelulose, nanopartículas micelar de caseína, nanopartículas de cristal de líquido, nanopartículas de albumina sérica e nanopartícula de conjugado de poli (etilenoglicol) - bloco - polilactídeo (mPEG-PLA), encapsulando as seguintes medicações: cabazitaxel, docetaxel e flutamida.

A atividade antitumoral foi avaliada de acordo com a regressão tumoral e a perda de peso corporal dos animais em tratamento. Em todos os estudos analisados, as nanopartículas com uso de medicamento mostrou eficácia e regressão tumoral, em destaque o uso de nanopartícula carboximetilcelulose com docetaxel e nanopartícula mPEG-PLA com carbazitaxel reduziram 70% do tumor dos animais em tratamento, sem que houvesse perda de peso.

Nas análises histológicas o uso de nanopartículas mPEG-PLA com carbazitaxel e, nanopartícula de albumina sérica humana com cabazitaxel, reduziram a toxicidade dos principais órgãos, sem sinais de necrose ou morte celular. Diferentes das outras nanopartículas, que também diminuíram as lesões, entretanto os resultados mostraram ser parecidos com os tratamentos controle.

Na avaliação de atividade sistêmica as nanopartículas de mPEG-PLA com carbazitaxel e nanopartícula carboximetilcelulose com docetaxel não tiveram redução das células de defesa, além disso, as nanopartícula carboximetilcelulose com docetaxel não apresentou redução sorológica de alanina aminotransferase (ALT). As outras nanopartículas empregadas tiveram resultados significativos, contudo, eram parecidos com o uso da medicação livre.

8. REFERÊNCIAS

ADJAKLY, M. et al. Prostate cancer: The main risk and protective factors – Epigenetic modifications. **Annales d'Endocrinologie**, v. 76, n. 1, p. 25–41, fev. 2015. doi: 10.1016/j.ando.2014.09.001.

ANSELMO, A. C.; MITRAGOTRI, S. Nanoparticles in the clinic. **Bioengineering & Translational Medicine**, v. 1, n. 1, p. 10–29, mar. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/btm2.10003>

APOLINÁRIO, A. et al. Opening the pandora's box of nanomedicine: there is indeed plenty of room at the bottom. **Química Nova**. 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170481>.

ASTON, W. J. et al. A systematic investigation of the maximum tolerated dose of cytotoxic chemotherapy with and without supportive care in mice. **BMC Cancer**. v. 17, n. 684. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3677-7>.

ATTIA, M. F. et al. An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 71, n. 8, p. 1185–1198, 3 maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jphp.13098>.

AMJAD, M. T.; CHIDHARLA, A; KASI A. Cancer Chemotherapy. [Updated 2022 Mar 3]. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publicação: Jan. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564367>. Acesso em: 28 de julho de 2022.

BACELAR JUNIOR, A. J. et al. Câncer de próstata: métodos de diagnóstico, prevenção e tratamento. **Editora Master**, Minas Gerais, v. 10, n. 3, p. 40-46, Mar./Mai. 2015. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150501_174533.pdf. Acesso em: 06 nov. 2020.

BAHADORAN, Z. et al. Importance of Systematic Reviews and Meta-analyses of Animal Studies: Challenges for Animal-to-Human Translation. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 59, n. 5, p. 469–477, 1 set. 2020. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000139.

BEN-DAVID, Uri; AMON, Angélica. Context is everything: aneuploidy in cancer. **Nature Reviews Genetics**. v. 21, n. 1, pág. 44-62, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41576-019-0171-x>. Acesso em: 05 julho de 2022.

Bertrand, N., et al. Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. **Advanced Drug Delivery Reviews**. V. 66, p. 2-25. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.11.009>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes metodológicas**: Elaboraões de revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados. 1ª Ed. Brasília/DF. 2021. Disponível em:

https://rebrats.saude.gov.br/phocadownload/diretrizes/20210622_Diretriz_Revisao_Sistemica_2021.pdf. Acesso em julho de 2021.

BRASIL. Ministério da saúde. **Diretrizes metodológicas**: Elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais comparativos de risco e prognóstico. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_fatores_risco_p_ronostico.pdf. Acesso em: 06 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da saúde. **Diretrizes metodológicas**: Elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais comparativos de risco e prognóstico. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_fatores_risco_p_ronostico.pdf. Acesso em: 06 nov. 2019.

BUENO, C. P. S. **Produção de sistemas híbridos à base de hidrogel de pluronic e nanopartículas porosas de sílica para aplicação antitumoral**. 2015. Dissertação (Mestrado em Química) – Área de físico-químico UNICAMP, Campinas, 2015. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/248936>. Acesso em: 09 nov. 2019.

CARVALHO LOPES, J.; PEREIRA TORRES, M. L. Utilização de Nanopartículas no Tratamento do Câncer: Aspectos Gerais, Mecanismos de Ação Antineoplásicos e Aplicabilidades Tumorais. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 65, n. 4, 7 fev. 2020. Doi: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2019v65n4.400>.

CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTI, V. Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 521–526, 1 jun. 2014. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140086>

CERVIN, Camilla; TINZL, Martina; JOHNSON, Markus; ABRAHAMSSON, Per-Anders; TIBERG, Fredrik; DIZEYI, Nishtman. Properties and effects of a novel liquid crystal nanoparticle formulation of docetaxel in a prostate cancer mouse model. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**. v. 41, n. 2, p. 369-375, out. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2010.07.003>.

CHEN, Y. et al. Recent progress in nanoformulations of cabazitaxel. **Biomedical Materials**. v. 16, n. 3, p. 032002, 3 mar. 2021. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1748-605x/abe396>.

CHENG, Lihua et al. Developing a Highly Stable PLGA-mPEG Nanoparticle Loaded with Cisplatin for Chemotherapy of Ovarian Cancer. **PLoS One**. v. 6, n. 9, p. 25433, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025433>.

CHORILLI, M. et al. Animais de laboratório: o camundongo *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*. **Revista Ciências Farmaceuticas. Básica Aplicada**. v. 28, n.1, p.11-23, 2007. Disponível em: https://ceuaics.ufba.br/sites/ceuaics.ufba.br/files/animais_de_laboratorio_o_camundongo_0.pdf.

COSTA, A. M.; SILVA, V. V. ESTRATÉGIAS NANOTECNOLÓGICAS PARA DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 5, n. 2, p. 1–13, 3 set. 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufms.br/index.php/sameamb/article/view/4137>. Acesso em: 07 julho 2022.

COUTINHO, J. A. **Nanopartículas na entrega eficaz e segura de fármacos ao cérebro por via nasal Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia Comunitária, Hospitalar e Investigação**. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Ciências da saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2015.

DANAEI, M. et al. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 57, 18 maio 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>

Din, F. U., et al. Effective use of nanocarriers as drug delivery systems for the treatment of selected tumors. **International journal of nanomedicine**. v. 12, p.7291–7309. 2017. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S146315>

DORNAS, M. C.; JÚNIOR, J. A. D. R.; FIGUEIREDO, R. T. F.; FABRÍCIO B. C.; RONALDO, D. **Câncer de próstata**. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, on-line, Rio de Janeiro, v. 7, Janeiro/Jun. 2008. Disponível: <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/1337427623CAProst.pdf>. Acesso em: 05 nov 2019.

DUAN, X.; LI, Y. Physicochemical Characteristics of Nanoparticles Affect Circulation, Biodistribution, Cellular Internalization, and Trafficking. **Small**, v. 9, n. 9-10, p. 1521–1532, 28 set. 2012. DOI: <http://doi.org/10.1002/smll.201201390>.

EDIS, Z. et al. Nanocarriers-Mediated Drug Delivery Systems for Anticancer Agents: An Overview and Perspectives. **Jornal Internacional de Nanomedicina**. v. 16, p.1313-1330. 2021. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S289443>.

ELZOGHBY, A. O.; HELMY, M. W.; SAMY, W. M.; ELGINDY, N. A. Micellar Delivery of Flutamide Via Milk Protein Nanovehicles Enhances its Anti-Tumor Efficacy in Androgen-Dependent Prostate Cancer Rat Model. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 10, p. 2654-2663, 6 jun. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-013-1091-7>.

ENGEL, J. S. **Potenciais biológicos de nanopartículas de ouro - enfoque em tumores como alvo**. 2016. (Monografia em Ciências biológicas) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2016. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/61175/JULIANA%20DOS%20SANTOS%20ENGEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 jun. 2020.

ERNSTING, Mark J. et al. A docetaxel-carboxymethylcellulose nanoparticle outperforms the approved taxane nanoformulation, Abraxane, in mouse tumor models with significant control of metastases. **Jornal de liberação controlada**. v. 162, n. 3, p. 575-581, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.07.043>

FOX, M. E.; SZOKA, F. C.; FRÉCHET, J. M. J. Soluble Polymer Carriers for the Treatment of Cancer: The Importance of Molecular Architecture. *Accounts of Chemical Research*, v. 42, n. 8, p. 1141–1151, 25 jun. 2009. DOI: 10.1021/ar900035f.

FRANCO, R. C.; SOUHAMI, L. Radioterapia e Hormonioterapia no Câncer de Próstata de Risco Intermediário: uma Revisão Crítica. *Revista Brasileira de Cancerologia*, São Paulo, v. 61, n. 2, p. 155-163, jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2015v61n2.754>

GAO, Caifang et al. Menthol-modified casein nanoparticles loading 10-hydroxycamptothecin for glioma targeting therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 9, n. 4, p. 843-857, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.01.006>

GAVAS, S.; QUAZI, S.; KARPIŃSKI, T. M. Nanoparticles for Cancer Therapy: Current Progress and Challenges. *Nanoscale Research Letters*, v. 16, n. 1, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03628-6>

GIRI, Veda N.; BEEBE-DIMMER, Jennifer L.. Familial prostate cancer. *Seminars In Oncology*, v. 43, n. 5, p. 560-565, out. 2016. Elsevier BV. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminoncol.2016.08.001>.

GOMES, R. et al. Prostate cancer prevention: a review of the literature. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 13, n. 1, p. 235–246, 1 fev. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-81232008000100027>.

GONÇALVES, L. F.; HAAS, P. Efetividade da Nanotecnologia para Medicamentos em Pacientes com Câncer: Revisão Integrativa da Literatura. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Florianópolis, v.67, n.3, 2021. doi: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2021v67n3.1280>.

HASHEMI GORADEL, N. et al. Nanoparticles as new tools for inhibition of cancer angiogenesis. *Journal of cellular physiology*. v. 233, n. 4, p. 2902-2910. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26029>.

HAUKE, R.; TEPLY, B. Chemotherapy options in castration-resistant prostate cancer. *Indian Journal of Urology*, v. 32, n. 4, p. 262, 2016. DOI: **10.4103/0970-1591.191239**

HOANG, B. et al. Docetaxel–carboxymethylcellulose nanoparticles display enhanced anti-tumor activity in murine models of castration-resistant prostate cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 471, n. 1-2, p. 224–233, ago. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.05.021>.

HOANG, B. et al. Cabazitaxel-conjugated nanoparticles for docetaxel-resistant and bone metastatic prostate cancer. *Cancer Letters*, v. 410, p. 169–179, 1 dez. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2017.09.029>.

JIN, J.-K.; DAYYANI, F.; GALLICK, G. E. Steps in prostate cancer progression that lead to bone metastasis. *International Journal of Cancer*, v. 128, n. 11, p. 2545–2561, 28 mar. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.26024>.

KIM, J. E. et al. Annual tendency of research papers used ICR mice as experimental animals in biomedical research fields. **Laboratory Animal Research**, v. 33, n. 2, p. 171, 2017. DOI:10.5625/lar.2017.33.2.171.

KIM, J. E. et al. Annual tendency of research papers used ICR mice as experimental animals in biomedical research fields. **Laboratory Animal Research**, v. 33, n. 2, p. 171, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics11030141>.

KOMMINENI, N. et al. Cabazitaxel-Loaded Nanocarriers for Cancer Therapy with Reduced Side Effects. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 3, p. 141, 25 mar. 2019. Disponível em: [10.3390/pharmaceutics11030141](http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics11030141).

LI, T.; HIGGINS, J. P. T.; DEEKS, J. J. (ed.). Chapter 5: Collecting data. In: HIGGINS, J. P. T. et al. (ed.). **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.0 (updated July 2019)**. [S. l.]: Cochrane, 2019. Disponível em: www.training.cochrane.org/handbook. Acesso em: 15 novembro 2021.

MARTIOLI, A.; COPATTO, S.; PINHEIRO. **NANOTECNOLOGIA: UMA BREVE DISCUSSÃO SOBRE OS IMPACTOS DA NANOTECNOLOGIA À SAÚDE HUMANA E AO MEIO AMBIENTE**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: https://oswaldocruz.br/revista_academica/content/pdf/Edicao_08_Andrezza_Martioli.pdf. Acesso em: 13 set. 2022.

MEHANNA, Samya Hamad et al. Câncer e angiogênese: papel do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e terapias alvo. **Revista médica do Paraná**. p. 106-111, 2021. Disponível em: https://www.amp.org.br/site/arquivos/revistasarquivos/revista-medica-do-parana-volume-79-n-1-janeiro-junho-2021_1625669497.pdf. Acesso em: 05 julho 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) 6a edição revista e atualizada. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-6-edicao-2020.pdf>.

MOREIRA, J. R. L. **A nanotecnologia na liberação controlada de fármacos no tratamento do câncer de mama**. 2013. Monografia (Graduação) – Universidade de Brasília, faculdade de Ceilândia. Brasília, 2013. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/7034/1/2013_JoseRanclenissonLopesMoreira.pdf. Acesso em: 22 jun. 2020.

NASCIMENTO, T. G.; ANDRADE, M.; OLIVEIRA, R. A.; ALMEIDA, A. M.; GOZZO, T. O. Neutropenia: occurrence and management in women with breast cancer receiving chemotherapy. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 22, n. 2, p. 301-308, abr. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0104-1169.3305.2416>.

NEVES, S. M. P., et al. **Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo : FCF-IQ/USP, 2013. 216 p.

OLIVEIRA, L. P. S., et al. Nanomedicamentos e os desafios da ANVISA diante da existência de um marco regulatório no Brasil. **Pesquisa e Direito Ambiental da Amazônia**, v. 3, n. 3, agosto de 2016. Doi: <http://org/10.14690/2317-8442.2015v33166>.

PARREIRA, D.B.; EUGÊNIO, J. **Nanopartículas para aplicação oncológica. Instituto nacional da propriedade industrial**, 2011. Disponível em: <https://inpi.justica.gov.pt/Portals/6/PDF%20INPI/Nano%20inova%C3%A7%C3%B5es/Nanoparti%CC%81culas%20para%20aplicac%CC%A7a%CC%83o%20oncolo%C%81gica.pdf?ver=2017-08-28-152143-250>. Acesso em: 22 jun. 2020.

PRIMO, F. **Farmacovigilância de Nanomedicamentos: Desafios na inexistência de marco regulatório em nanosseguurança**. 2021. 121f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande. 2021. Disponível em: <https://sistemas.furg.br/sistemas/sab/arquivos/bdtd/0000014735.pdf>. Acesso em: 9 agosto de 2022.

Qu, N., Sun, Y., Li, Y. et al. Nanopartículas de albumina sérica humana (HSA) carregadas com docetaxel: síntese, caracterização e avaliação. **Engenharia biomédica online**. v. 18, n. 11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12938-019-06247>.

RADAIC, A.; PAULA de E.; JESUS de M. B. **Método por extrusão de microemulsão a quente para obtenção de nanopartículas lipídicas solidas e carreadores lipídicos nanoestruturados assim obtidos e usos**. Titular: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Instituto de Biologia (IB). . BR1020120273306. Depósito: 25 out. 2012. Concessão: 29 out. 2014.

RAY, S. et al. A Review on Cell Cycle Checkpoints in Relation to Cancer. **The Journal of Medical Sciences**, v. 5, n. 4, p. 88–95, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5005/jp-journals-10045-00138>.

RAWLA, P. Epidemiology of Prostate Cancer. **World Journal of Oncology**, v. 10, n.2, p. 63-89, 2019. DOI: [10.14740/wjon1191](https://doi.org/10.14740/wjon1191).

REGIS, L. H. V.; SILVA, A. F.; GUEDES, J. P. M. O uso de nanotecnologia em fármacos no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, pág. e32101522294, 2021. DOI: [10.33448/rsd-v10i15.22294](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.22294). Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22294>. Acesso em: 14 fev. 2022.

REIS, S. T. et al. Role of Genetic Polymorphisms in the Development and Prognosis of Sporadic and Familial Prostate Cancer. **PLoS One**. v. 11, n.12 e0166380. 1 de dezembro de 2016, doi:10.1371/journal.pone.0166380.

ROEVER, L. Compreendendo os estudos de revisão sistemática. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, Uberlândia, v. 15, n. 2, p. 127-130, abr-jun, 2017. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/11/875614/152_127-130.pdf. Acesso em: 25 de julho de 2021.

ROSENBLUM, D. et al. Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, 12 abr. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03705-y>.

ROY, Aniruddha et al. Nanopartículas à base de carboximetilcelulose e carregadas de docetaxel contornam a resistência a múltiplas drogas mediada por glicoproteína-P. **Farmacêutica molecular**. v. 11, n. 8, pág. 2592-2599, 2014. DOI: 10.1021/mp400643p

SAMPAIO, R.; MANCINI, M. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, n. 1, p. 83–89, 2007. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/s1413-35552007000100013>.

SANTOS, B. F. “Camundongos mutantes mais utilizados”. *Animais de Laboratório: criação e experimentação* [online]. Rio de Janeiro: **Editora FIOCRUZ**, 2002. 388 p. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/sfwtj/pdf/andrade-9788575413869.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2022.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, out. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000500017>.

SHUAI, Q. et al. Self-assembling poly(ethylene glycol)-block-poly(lactide-co-glycolide)-cabazitaxel conjugate nanoparticles for anticancer therapy with high efficacy and low in vivo toxicity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 574, p. 118879, 25 jan. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118879>.

SILVA, A. C. C. **Nanotecnologia em diagnóstico e terapia no Brasil**. Dissertação (Ciências) - Tecnologia nuclear- Aplicações. São Paulo, 2015. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-15092015-125401/publico/2015SilvaNanotecnologia.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2019.

SOHAIL, M. F. et al. Advancements in the oral delivery of Docetaxel: challenges, current state-of-the-art and future trends. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 3145–3161, 8 jun. 2018. DOI: 10.2147/IJN.S164518

SUNG, H. et al. Global cancer statistic 2020: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, v.71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.33222/caac.21660>.

TENG, L. et al. Cabazitaxel-loaded human serum albumin nanoparticles as a therapeutic agent against prostate cancer. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 11, p. 3451–3459, jul. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s105420>.

TEPLY, B. A. et al. The influence of prednisone on the efficacy of docetaxel in men with metastatic castration-resistant prostate cancer. **Prostate Cancer and Prostatic**

Diseases, v. 19, n. 1, p. 72–78, 17 nov. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/pcan.2015.53>.

TOBLER, J. P.; ROCHA, H. V. A. Bases regulatórias para a avaliação da segurança de medicamentos à base de nanotecnologia. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 8, n. 2, p. 64–74, 28 maio 2020. Doi: <https://doi.org/10.22239/2317-269x.01358>.

TONON, T. C. A.; SCHOFFEN, J. P. F. Câncer de próstata: Uma revisão de literatura. **Revista Saúde e Pesquisa**, Paraná, v. 2, n. 3, p. 403-410, set./dez. 2009. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/1189/900>. Acesso em: 06 de julho de 2021.

THAPA, R. K. et al. Liquid crystalline nanoparticles encapsulating cisplatin and docetaxel combination for targeted therapy of breast cancer. **Biomaterials Science**, v. 4, n. 9, p. 1340–1350, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6BM00376A>.

WU, J. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application. **Journal of Personalized Medicine**, v. 11, n. 8, p. 771, 6 ago. 2021. DOI: 10.3390/jpm11080771.

YAO, Y. et al. Nanoparticle-Based Drug Delivery in Cancer Therapy and Its Role in Overcoming Drug Resistance. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 7, 20 ago. 2020. DOI: 10.3389/fmolb.2020.00193.

ZHEN, J. T., et al. Genetic testing for hereditary prostate cancer: current status and limitations. **Câncer**, v. 124, n. 15, p. 3105-3117, 18 abr. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.31316>.

ZHEN, Xu et al. Captação celular, resposta antitumoral e penetração tumoral de nanopartículas de proteína do leite carregadas de cisplatina. **Biomateriais**. v. 34, n. 4, pág. 1372-1382, 2013. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.10.06>.

Anexo A - Ferramenta Risco de Viés Cochrane

Item	Tipo de preconceito	Domínio	Descrição do domínio	Revisar o julgamento dos autores
1	Viés de seleção	Geração de sequência	Descreva os métodos usados, se houver, para gerar a sequência de alocação com detalhes suficientes para permitir uma avaliação se deve produzir grupos comparáveis.	A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente? (*)
2	Viés de seleção	Características base	Descreva todos os possíveis fatores prognósticos ou características dos animais, se houver, que são comparados para julgar se os grupos intervenção e controle eram semelhantes no início do experimento.	Os grupos foram semelhantes na linha de base ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?
3	Viés de seleção	Ocultação de alocação	Descreva o método usado para ocultar a sequência de alocação com detalhes suficientes para determinar se as alocações de intervenção poderiam ter sido previstas antes ou durante a inscrição.	A alocação foi adequadamente ocultada? (*)
4	Viés de desempenho	Alojamento aleatório	Descreva todas as medidas utilizadas, se houver, para alojar os animais aleatoriamente dentro da sala de animais.	Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?
5	Viés de desempenho	Cegueira	Descreva todas as medidas usadas, se houver, para que os cuidadores e pesquisadores do estudo cego saibam qual intervenção cada animal recebeu. Forneça qualquer informação relativa à eficácia do cegamento pretendido.	Os cuidadores e/ou investigadores estavam cegos quanto ao conhecimento de qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?
6	Viés de detecção	Avaliação de resultado aleatório	Descreva se os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados e quais métodos para selecionar os animais, se houver, foram usados.	Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação dos resultados?
7	Viés de detecção	Cegueira	Descreva todas as medidas usadas, se houver, para cegar os avaliadores de resultados de saber qual intervenção cada animal recebeu. Forneça qualquer informação relativa à eficácia do cegamento pretendido.	O avaliador de resultados estava cego?
8	Viés de atrito	Dados de resultado incompletos	Descreva a integridade dos dados de resultados para cada resultado principal, incluindo atritos e exclusões da análise. Indique se foram relatados atritos e exclusões, os números em cada grupo de intervenção (em comparação com o total de animais randomizados), razões para atritos ou exclusões e quaisquer reinclusões nas análises para a revisão.	Os dados de resultados incompletos foram tratados adequadamente? (*)
9	Viés de reportagem	Relatório de resultado seletivo	Indique como o relato seletivo de resultados foi examinado e o que foi encontrado.	Os relatórios do estudo estão livres de relatórios seletivos de resultados? (*)
10	Outro	Outras fontes de preconceito	Declare quaisquer preocupações importantes sobre viés não cobertas por outros domínios da ferramenta.	O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés? (*)

ANEXO B – Checklist PRISMA

Seção/tópico	N.	Item do <i>checklist</i>	Relatado na página n.
TÍTULO			
Título	1	Identifique o artigo como uma revisão sistemática, meta-análise, ou ambos.	
ABSTRACT			
Resumo estruturado	2	Apresente um resumo estruturado incluindo, se aplicável: referencial teórico; objetivos; fonte de dados; critérios de elegibilidade; participantes e intervenções; avaliação do estudo e síntese dos métodos; resultados; limitações; conclusões e implicações dos achados principais; número de registro da revisão sistemática.	
INTRODUÇÃO			
Racional	3	Descreva a justificativa da revisão no contexto do que já é conhecido.	
Objetivos	4	Apresente uma afirmação explícita sobre as questões abordadas com referência a participantes, intervenções, comparações, resultados e desenho de estudo (PICOS).	
MÉTODOS			
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde pode ser acessado (ex. endereço eletrônico), e, se disponível, forneça informações sobre o registro da revisão, incluindo o número de registro.	
Crítérios de elegibilidade	6	Especifique características do estudo (ex. PICOS, extensão do seguimento) e características dos relatos (ex. anos considerados, idioma, se é publicado) usadas como critérios de elegibilidade, apresentando justificativa.	
Fontes de informação	7	Descreva todas as fontes de informação na busca (ex. base de dados com datas de cobertura, contato com autores para identificação de estudos adicionais) e data da última busca.	
Busca	8	Apresente a estratégia completa de busca eletrônica para pelo menos uma base de dados, incluindo os limites utilizados, de forma que possa ser repetida.	

Seção/tópico	N.	Item do <i>checklist</i>	Relatado na página n.
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os desfechos considerados (benefícios ou riscos), apresente para cada estudo: (a) sumário simples de dados para cada grupo de intervenção e (b) efeitos estimados e intervalos de confiança, preferencialmente por meio de gráficos de floresta.	
Síntese dos resultados	21	Apresente resultados para cada meta-análise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.	
Risco de viés entre estudos	22	Apresente resultados da avaliação de risco de viés entre os estudos (ver item 15).	
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex. análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão [ver item 16]).	
DISCUSSÃO			
Sumário da evidência	24	Sumarize os resultados principais, incluindo a força de evidência para cada resultado; considere sua relevância para grupos-chave (ex. profissionais da saúde, usuários e formuladores de políticas).	
Limitações	25	Discuta limitações no nível dos estudos e dos desfechos (ex. risco de viés) e no nível da revisão (ex. obtenção incompleta de pesquisas identificadas, relato de viés).	
Conclusões	26	Apresente a interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para futuras pesquisas.	
FINANCIAMENTO			
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex. suprimento de dados), papel dos financiadores na revisão sistemática.	

Seção/tópico	N.	Item do <i>checklist</i>	Relatado na página n.
Seleção dos estudos	9	Apresente o processo de seleção dos estudos (isto é, busca, elegibilidade, os incluídos na revisão sistemática, e, se aplicável, os incluídos na meta-análise).	
Processo de coleta de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos artigos (ex. formas para piloto, independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos pesquisadores.	
Lista dos dados	11	Liste e defina todas as variáveis obtidas dos dados (ex. PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer suposições ou simplificações realizadas.	
Risco de viés em cada estudo	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés em cada estudo (incluindo a especificação se foi feito durante o estudo ou no nível de resultados), e como esta informação foi usada na análise de dados.	
Medidas de sumarização	13	Defina as principais medidas de sumarização dos resultados (ex. risco relativo, diferença média).	
Síntese dos resultados	14	Descreva os métodos de análise dos dados e combinação de resultados dos estudos, se realizados, incluindo medidas de consistência (por exemplo, I ²) para cada meta-análise.	
Risco de viés entre estudos	15	Especifique qualquer avaliação do risco de viés que possa influenciar a evidência cumulativa (ex. viés de publicação, relato seletivo nos estudos).	
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análise adicional (ex. análise de sensibilidade ou análise de subgrupos, metarregressão), se realizados, indicando quais foram pré-especificados.	
RESULTADOS			
Seleção de estudos	17	Apresente números dos estudos rastreados, avaliados para elegibilidade e incluídos na revisão, razões para exclusão em cada estágio, preferencialmente por meio de gráfico de fluxo.	
Características dos estudos	18	Para cada estudo, apresente características para extração dos dados (ex. tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e apresente as citações.	
Risco de viés entre os estudos	19	Apresente dados sobre o risco de viés em cada estudo e, se disponível, alguma avaliação em resultados (ver item 12).	