

Órgão Responsável pelo Bem-Estar dos Animais | ORBEA

Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC)

Partilha de informação relativa à investigação envolvendo animais

(no âmbito do Acordo de Transparência sobre a Investigação Animal em Portugal)

1. INVESTIGADOR RESPONSÁVEL:

Nome Completo:	Amílcar Celta Falcão Ramos Ferreira
Função/Cargo:	Reitor
Instituição de origem:	Universidade de Coimbra
E-mail:	acfalcao@ff.uc.pt

2. DETALHES DO PROJETO:

Título:	Coencapsulação em transportadores lipídicos nanoestruturados como uma plataforma multifuncional para o tratamento de tumores cerebrais
Data de início:	01-01-2017
Data de término:	31-12-2020
Principais objetivos:	Neste trabalho é proposta uma abordagem inovadora para o tratamento do glioblastoma, o tumor cerebral com pior prognóstico. A estratégia consiste na dupla vetorização, baseada na modulação da superfície, recorrendo a bioconjugados, e coencapsulação em transportadores lipídicos nanoestruturados, através da combinação de estudos <i>in vitro</i> / <i>in vivo</i> / <i>in silico</i> .

3. IMPACTO ESPERADO (OU JÁ ALCANÇADO):

Potenciais benefícios para o homem (ou para outros seres) e/ou para a sociedade em geral:	<p>Neste projeto pretendeu-se a modulação da composição do nanotransportador de forma a permitir a veiculação simultânea de mais do que um fármaco, direcionando-os para o tumor e contornando possíveis mecanismos de resistência.</p> <p>A avaliação <i>in vivo</i> recorrendo a animais de laboratório (murganhos) permitiu avaliar se estas propriedades aumentam a concentração intratumoral dos fármacos (e, conseqüentemente, o seu efeito terapêutico) e o tempo de semi-vida pela sua administração prolongada vetorizada para o cérebro, sendo expectável uma maior eficácia no tratamento destes tumores e, conseqüentemente, uma melhoria da qualidade de vida dos doentes e redução da mortalidade.</p>
Resultados já alcançados:	<p>O trabalho desenvolvido no âmbito deste projeto permitiu alcançar os seguintes resultados: (i) Desenvolvimento e caracterização de formulações baseadas em transportadores lipídicos ultrapequenos nanoestruturados para co-encapsulação de fármacos, recorrendo a uma abordagem <i>Quality by Design</i>. (ii) As nanopartículas desenvolvidas mostraram uma atividade <i>in vitro</i> promissora contra o glioblastoma, tendo esta sido mais evidente para a formulação otimizada com base na modificação da superfície recorrendo a bioconjugados. (iii) A formulação otimizada mostrou-se segura, de acordo com o ensaio de hemólise de eritrócitos humanos. (iv) A formulação otimizada mostrou resultados promissores na vetorização preferencial dos fármacos para o cérebro, reduzindo simultaneamente a acumulação dos mesmos no fígado e baço, considerados órgãos <i>off-target</i>.</p>

4. APLICAÇÃO DO PRINCÍPIO DOS 3R'S:

Replacement (Substituição)

Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais:

O desenvolvimento farmacêutico incluiu uma fase preliminar onde foi feito um estudo exaustivo e abrangente de diferentes formulações para selecionar as que evidenciaram melhor performance para atingir os objetivos pretendidos. Nesse sentido, o *screening* de formulações foi previamente conduzido através de ensaios *in vitro* de libertação dos fármacos e de cultura celular para avaliar a toxicidade das formulações e os mecanismos de transporte.

Paralelamente, como estratégia de racionalização dos resultados experimentais e de forma a investigar o comportamento de difusão dos fármacos através da barreira hematoencefálica, foram realizados estudos de simulação computacional em modelos atomísticos, usando a dinâmica molecular.

Estas abordagens *in vitro/in silico* permitiram que apenas as formulações mais promissoras fossem testadas *in vivo*.

Reduction (Redução)

Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais:

Estudos farmacocinéticos/biodistribuição

Com estes estudos pretendeu-se avaliar a biodistribuição dos fármacos através da determinação simultânea da sua concentração no plasma, biofase (cérebro) e órgãos periféricos (fígado, baço, coração, rins e pulmões), com o objetivo de avaliar a capacidade das nanopartículas promoverem uma entrega vetorizada dos fármacos para o cérebro, comparativamente ao fármaco livre (fármaco em solução ou não encapsulado). Para tal, foi realizada a administração endovenosa em dose única das formulações selecionadas de acordo com os ensaios *in vitro/in silico* previamente realizados. Foram adicionalmente utilizados murganhos machos CD-1 consanguíneos para aumentar a homogeneidade genética da população e reduzir o número de animais necessários. Cada animal constituiu uma unidade experimental.

Refinement (Refinamento)

Explique por que razão o animal/modelo que escolheu é o mais adequado para este estudo e que medidas tomou para minimizar os potenciais danos ao seu bem-estar:

A escolha dos animais foi realizada de acordo com as *guidelines* no âmbito da investigação contra o cancro e é suportada pelos inúmeros estudos de investigação já disponibilizados na literatura científica, sendo assim considerada adequada.

- Estudos de biodistribuição: os animais foram sacrificados após término dos ensaios. Os murganhos foram primeiramente anestesiados e sujeitos a deslocamento cervical segundo procedimento previamente aprovado.
