

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Química e Farmácia

Nanotecnologia na dermofarmácia: aplicação a formulações antialopecia

Ana Filipa Marquez Campos

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Ana Margarida Moutinho Grenha

2020

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Química e Farmácia

Nanotecnologia na dermofarmácia: aplicação a formulações antialopecia

Ana Filipa Marquez Campos

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Ana Margarida Moutinho Grenha

2020

Nanotecnologia na dermofarmácia: aplicação a formulações antialopecia

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright © 2020 Ana Filipa Marquez Campos

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho, através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Dedico este trabalho à minha mãe,
pelo carinho e dedicação constantes e insubstituíveis.

Resumo

A alopecia, termo clínico para o que vulgarmente se designa “queda de cabelo”, é uma condição dermatológica que se caracteriza pela perda gradual ou súbita de cabelos e/ou de pelos, temporária ou definitiva, e de causas diversas. Uma vez selecionado este tema, é importante salientar o impacto psicossocial que as alterações no cabelo podem determinar no indivíduo em causa. Existem vários tipos de alopecia, com apresentações e características clínicas diferentes entre si. A forma de alopecia mais prevalente em ambos os sexos, é a alopecia androgenética.

Na prática clínica atual, prevalecem apenas duas substâncias ativas — minoxidil e finasterida — aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) para o tratamento desta condição. Para além disso, até à data, não existe nenhum tratamento cientificamente comprovado que ultrapasse as limitações da terapêutica farmacológica convencional aplicada a esta patologia, como sejam os efeitos adversos associados, que muitas vezes motivam a descontinuação do tratamento (tratamento esse que necessitará de pelo menos 6 meses para mostrar efeitos visíveis), e os resultados terapêuticos transitórios (se o doente suspender a medicação, a situação reverte ao estado inicial dentro de poucos meses).

A comunidade científica tem trabalhado sobre esta área e existem novas perspectivas terapêuticas. Estas incluem com frequência a utilização de sistemas de entrega de fármacos, entre os quais se destacam as nanopartículas poliméricas, as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e os transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC), que exibem características promissoras. Têm a vantagem de penetrar mais facilmente nos folículos pilosos do que as formulações convencionais, acumulando-se nos mesmos, e proporcionar uma libertação controlada do fármaco ao longo do tempo, aumentando, assim, a sua biodisponibilidade local. O presente trabalho tem como objetivo explorar as particularidades dos sistemas terapêuticos nanotecnológicos e as suas aplicações em termos de novas abordagens terapêuticas no tratamento da alopecia androgenética.

Palavras-chave: alopecia androgenética; folículos pilosos; nanopartículas; sistemas de entrega de fármacos; tratamento da alopecia androgenética.

Abstract

Alopecia, a clinical term for what is commonly called “hair loss”, is a dermatological condition characterized by gradual or sudden hair loss, temporary or permanent, and of different causes. Once this subject was selected, it is important to emphasise the psychosocial impact hair changes can have on each individual. There are several types of alopecia, with different presentations and clinical characteristics. The most prevalent form of alopecia in both sexes is androgenetic alopecia.

In current clinical practice, only two active pharmaceutical ingredients — minoxidil and finasteride — are approved by the Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicines Agency (EMA) for the treatment of this condition. In addition, so far, there is no scientifically proven treatment that overcomes the limitations of conventional pharmacological therapy applied to this pathology, such as the associated adverse effects, which often motivate treatment discontinuation (treatment which requires at least 6 months to provide visible effects), and transient therapeutic results (if the patient discontinues the treatment, the situation will revert to its initial state within a few months).

The scientific community has been working on this area and there are new therapeutic perspectives. These often include the use of drug delivery systems, among which stand out the polymeric nanoparticles, solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC), which show promising features. They have the advantage of penetrating hair follicles more easily than conventional formulations, accumulating in them, and providing a controlled release of the drug over time, thus increasing its local bioavailability. This present work aims to explore the particularities of nanotechnological therapeutic systems and their applications with regards to new therapeutic approaches in the treatment of androgenetic alopecia.

Keywords: androgenetic alopecia; drug delivery systems; hair follicles; nanoparticles; treatment of androgenetic alopecia.

Índice geral

Índice de figuras	ix
Lista de abreviaturas	xi
1.Introdução.....	1
2. Objetivo.....	4
3. Metodologia	4
4. Sistema tegumentar.....	5
4.1. Folículo piloso	8
4.1.1. Estrutura	8
4.1.2. Tipos de folículos pilosos e distribuição	12
4.1.3. Ciclo capilar	13
4.2. Vias de permeação cutânea	16
5. Alopecia.....	20
5.1. Definição, etiologia e tipos	20
5.2. Alopecia cicatricial	20
5.3. Alopecia não-cicatricial.....	21
5.3.1. Alopecia androgenética.....	23
5.3.1.1. Epidemiologia	24
5.3.1.2. Apresentação e características clínicas.....	25
5.3.1.3. Patogénese	27
5.3.1.4. Diagnóstico e diagnóstico diferencial.....	31
6. Tratamento da alopecia androgenética	33
6.1. Abordagem farmacológica convencional	33
6.1.1. Fármacos dependentes de androgénios	34
6.1.1.1. Inibidores da enzima 5-alfa-redutase	34
6.1.1.2. Inibidores do recetor de androgénios	36
6.1.2. Fármacos não dependentes de androgénios.....	37
6.2. Abordagem não farmacológica	40
7. Nanotecnologia como ferramenta no tratamento da alopecia androgenética.....	43
7.1. Enquadramento: conceito de nanotecnologia.....	43
7.2. Folículo piloso como alvo de nanopartículas	44
7.3. Tipos de nanossistemas utilizados em formulações antialopecia	47
7.3.1. Sistemas poliméricos	47
7.3.2. Sistemas lipídicos.....	48

7.3.3. Sistemas inorgânicos	58
7.4. Formulações antialopecia com base na nanotecnologia.....	59
7.4.1. Formulações contendo sistemas poliméricos	59
7.4.2. Formulações contendo sistemas vesiculares lipídicos	68
7.4.3. Nanoemulsões para uso tópico	71
7.4.4. Formulações contendo nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC)	72
8. Conclusão	75
9. Referências bibliográficas.....	77

Índice de figuras

Figura 4.1. Anatomia da pele. Adaptado de (30).	5
Figura 4.2. Representação de uma secção da unidade pilossebácea. Adaptado de (35). 9	
Figura 4.3. (a) Estrutura do folículo piloso. (b) Corte transversal de uma haste capilar. Adaptado de (4).	11
Figura 4.4. Representação esquemática das diferentes fases do ciclo capilar. Adaptado de (49).	15
Figura 4.5. Vias de permeação cutânea — vias transcelular, intercelular e transfolicular —, através das quais uma molécula pode atravessar o estrato córneo. Adaptado de (53).	17
Figura 5.1. (a) Alopecia de padrão masculino. (b) Alopecia de padrão feminino. Adaptado de (61).	24
Figura 5.2. Escala de Hamilton-Norwood referente à alopecia de padrão masculino, comumente usada como referência. A mesma inclui a variante tipo A das respetivas formas clínicas. Adaptado de (72).	26
Figura 5.3. Escala de Ludwig referente à alopecia de padrão feminino. Adaptado de (6).	27
Figura 5.4. Esquema representativo do mecanismo de ação dos androgénios. Os androgénios circulantes atravessam a membrana celular; no interior da célula, a testosterona e a dihidrotestosterona (DHT) podem ligar-se a recetores específicos de androgénios. Na presença do ligando, o recetor de androgénios sofre uma alteração conformacional, expondo os locais de ligação ao ADN. Nesse sentido, o complexo DHT-recetor liga-se ao ADN do núcleo e modula a expressão de genes específicos dependentes de androgénios, agindo como um fator de transcrição. Adaptado de (6,72).	28
Figura 5.5. Modelo relativo à ação dos androgénios no folículo piloso. A AAG é descrita como uma consequência dos efeitos diretos dos androgénios, em particular, da DHT, nas células da papila dérmica de folículos pilosos suscetíveis. Adaptado de (70,72).	29
Figura 7.1. Folículo piloso como alvo de nanopartículas. (A) Partículas, desde lipossomas a partículas inorgânicas sólidas e microesferas, quando administradas à superfície da pele, agregam-se na abertura folicular e penetram ao longo do canal folicular. A superfície da epiderme ao nível da região inferior do infundíbulo folicular é altamente permeável, favorecendo, assim, a difusão dos ativos para as camadas viáveis da pele; (B) Acumulação de nanopartículas dentro do folículo pilossebáceo e direcionamento do fármaco encapsulado para estruturas alvo específicas ao nível do folículo; (C) Translocação de nanopartículas para as camadas mais profundas da epiderme viável e da derme, após rutura da barreira cutânea, e interação com populações de células alvo do epitélio folicular e da derme. Adaptado de (24).	45
Figura 7.2. Representação esquemática de uma nanoesfera (A) e de uma nanocápsula (B). Adaptado de (95).	48

- Figura 7.3.** Representação esquemática onde são evidenciados os fosfolípidos, a sua organização numa camada dupla (bicamada fosfolipídica) e, por fim, a estrutura tridimensional do lipossoma. Adaptado de (97). 50
- Figura 7.4.** Estrutura do lipossoma. Adaptado de (99). 52
- Figura 7.5.** Entrega de ativos na pele mediada por lipossomas. Adaptado de (96). 53
- Figura 7.6.** Representação esquemática de uma nanoemulsão (O/A). Adaptado de (97). 55
- Figura 7.7.** Tipos de estruturas lipídicas: (A) Lipossomas; (B) Nanoemulsões; (C) Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN); (D) Transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC). Adaptado de (25). 58
- Figura 7.8.** Perfis de permeação da finasterida a partir dos diferentes veículos: loção, solução e champô. Adaptado de (104). 60
- Figura 7.9.** Estrutura química da molécula de UK-157,147. Adaptado de (105). 61
- Figura 7.10.** Imagens de microscopia de fluorescência (esquerda) e de campo claro (direita) do tecido de orelha de coelho após incubação com nanopartículas com marcador de fluorescência incorporado. Adaptado de (105). 62
- Figura 7.11.** Efeito do UK-157,147 em termos de promoção do crescimento capilar, com base numa suspensão de nanopartículas, em comparação com a aplicação de uma formulação etanólica da mesma substância. Uma solução aquosa desprovida de fármaco foi usada como controlo. Adaptado de (105). 63
- Figura 7.12.** Fotografias do estudo realizado em ratinhos para avaliar os efeitos em termos de promoção do crescimento capilar: (A) controlo; (B) formulação etanólica com UK-157,147 a 1%; (C) formulação placebo com nanopartículas; (D) suspensão de nanopartículas com incorporação de UK-157,147 a 1%. Adaptado de (105). 64
- Figura 7.13.** Imagens de microscopia de fluorescência da secção transversal de biopsias de couro cabeludo humano, após aplicação (a) da solução de hinoquitinol; e (b) da dispersão líquida de nanoesferas de PLGA contendo hinoquitinol. Adaptado de (106). .. 65
- Figura 7.14.** Perfil de libertação do minoxidil incorporado em nanopartículas poliméricas, em comparação com uma solução aquosa do fármaco. Adaptado de (108). 67
- Figura 7.15.** Concentração de fármaco nos folículos pilosos (em momentos pontuais analisados) a partir da formulação de nanopartículas de quitosano com minoxidil, em comparação com uma solução aquosa do fármaco (controlo). Adaptado de (108). 68
- Figura 7.16.** Perfis de permeação da dutasterida a partir de diferentes sistemas, lipossomais e não lipossomais, através da pele de ratinho. Adaptado de (110). 69
- Figura 7.16.** Percentagem de permeação da flutamida, determinada através de testes ex vivo utilizando células de difusão de Franz. A percentagem de fármaco que atravessa o estrato córneo corresponde à soma das quantidades encontradas ao nível da pele e no compartimento recetor da célula de difusão de Franz. Adaptado de (79). 73
- Figura 7.17.** Perfil de libertação in vitro do minoxidil a partir da formulação semissólida de NLC (média \pm desvio padrão; n = 3). Adaptado de (115). 74

Lista de abreviaturas

AAG	Alopecia androgenética
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APF	Alopecia de padrão feminino
APM	Alopecia de padrão masculino
BRE	Bainha radicular externa
BRI	Bainha radicular interna
DHT	Dihidrotestosterona
DTS	Dutasterida
EMA	Agência Europeia do Medicamento (do inglês <i>European Medicines Agency</i>)
EPC	Fosfatidilcolina da gema de ovo (do inglês <i>Egg Phosphatidylcholine</i>)
FDA	Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FSH	Hormona folículo-estimulante (do inglês, <i>follicle-stimulating hormone</i>)
LH	Hormona luteinizante (do inglês, <i>luteinizing hormone</i>)
NLC	Transportadores lipídicos nanoestruturados (do inglês <i>nanostructured lipid carriers</i>)
O/A	Oléo/Água
PCL	Poli(ϵ -caprolactona) (do inglês <i>poly(ϵ-caprolactone</i>))
PLA	Ácido polilático (do inglês <i>poly-lactic acid</i>)
PLGA	Ácido polilático-co-glicólico (do inglês <i>poly(lactic-co-glycolic) acid</i>)
SLN	Nanopartículas lipídicas sólidas (do inglês <i>solid lipid nanoparticles</i>)
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular (do inglês <i>vascular endothelial growth factor</i>)

1. Introdução

Um ser humano nasce com aproximadamente cinco milhões de folículos pilosos e estima-se que 80.000 a 150.000 estejam localizados no couro cabeludo (1). Por sua vez, as unidades foliculares estão submetidas a um ciclo evolutivo específico e estritamente definido (1,2). Assim, a maioria dos distúrbios do crescimento capilar resulta, de um modo geral, da alteração da dinâmica do ciclo capilar, o qual, por sua vez, é regulado por hormonas e fatores de crescimento (3,4). São exemplos de distúrbios do crescimento capilar, a alopecia androgenética (AAG), a hipertricose e o hirsutismo (4,5).

A AAG é uma condição induzida por androgénios, em indivíduos geneticamente predispostos (6,7). A sua frequência e severidade aumentam com a idade (6). A AAG, em circunstâncias normais, não tem repercussões diretas na saúde física dos indivíduos afetados, à exceção de poder aumentar o risco de danos induzidos pela radiação ultravioleta, dada a eventual exposição do couro cabeludo (6). Por outro lado, vários estudos demonstram que a AAG tem um impacto negativo na qualidade de vida dos indivíduos em causa, podendo mesmo levar a problemas a nível psicológico, incluindo ansiedade, depressão e fobia social (6,8,9).

Em relação a este distúrbio capilar, enfatiza-se a intervenção do farmacêutico, quer seja focada na pesquisa e desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras, quer no aconselhamento de cosméticos e produtos farmacêuticos adequados à situação específica, monitorização do tratamento e motivação do doente, principalmente porque, na ausência de tratamento, a AAG agrava-se progressivamente (10). É importante esclarecer o doente acerca dos mecanismos da condição em si, quão frequente é na comunidade, e das opções terapêuticas atualmente disponíveis; informá-lo ainda que a resposta ao tratamento pode ser lenta e sobre a eventual necessidade de tratamento continuado (6,11,12). É igualmente importante alertar para o facto de o tratamento farmacológico apresentar maior eficácia quando estabelecido atempadamente, evitando a progressão das manifestações clínicas típicas (12,13).

Por outro lado, é importante realçar que a decisão sobre o tratamento mais adequado prevê uma avaliação individual, respeitando sempre a preferência do doente (6).

Nas últimas três décadas, os avanços em termos de desenvolvimento de novos agentes destinados ao tratamento da AAG, foram escassos, prevalecendo, na prática clínica atual, apenas duas substâncias ativas (minoxidil e finasterida) aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) (14,15). O minoxidil em solução foi o primeiro, e até agora único, produto farmacêutico de aplicação tópica aprovado pela FDA para o tratamento da AAG (16,17). Apesar de a finasterida e o minoxidil constituírem agentes terapêuticos importantes no contexto desta patologia, a sua utilização é muitas vezes acompanhada de efeitos adversos significativos, que acabam por comprometer a adesão à terapêutica (10,14). Por norma, estas terapêuticas oferecem eficácia limitada e transitória (10,14,18).

No que diz respeito ao tratamento de afeções cutâneas, o tratamento a nível tópico possui geralmente um perfil de segurança favorável; comparativamente às terapêuticas orais, o uso de formulações tópicas está associado a menor risco de efeitos secundários sistémicos (19). Contudo, atendendo à sua estrutura e composição lipídica, o estrato córneo (camada mais superficial da epiderme) constitui uma verdadeira barreira à absorção percutânea para a maioria dos fármacos, inibindo seletiva e eficazmente a penetração destes na pele (20-23). A absorção percutânea é, de facto, influenciada por fatores como a integridade do tecido epidérmico, as características físico-químicas do próprio fármaco e o veículo da formulação (23,24).

Ainda no contexto desta patologia (AAG), a ausência de um tratamento plenamente eficaz beneficia a proliferação de alternativas pouco fiáveis em termos de eficácia, para além de serem, muitas vezes, extremamente dispendiosas (14,18).

Por sua vez, a nanotecnologia está na vanguarda das tecnologias que poderão contribuir para o desenvolvimento de novos conceitos terapêuticos e de diagnóstico (25).

Ao longo dos últimos anos, os sistemas de entrega de fármacos, incluindo lipossomas, nanoemulsões, nanopartículas lipídicas e nanopartículas poliméricas, têm ganho popularidade dado o vasto leque de possíveis aplicações e a sua capacidade para melhorar a penetração dos compostos ativos na pele e promover uma libertação controlada dos mesmos, com o objetivo de proporcionar melhores resultados farmacológicos e reduzir eventuais efeitos adversos (22,26).

A administração tópica de compostos ativos, mediada por sistemas nanoparticulados, tendo como alvo específico subestruturas da pele, em particular o folículo piloso, pode ajudar a tratar seletivamente reações inflamatórias localizadas, com efeitos adversos

sistêmicos reduzidos, e pode também representar uma oportunidade notável para o desenvolvimento de novas abordagens ao nível do tratamento de doenças que afetam o cabelo/couro cabeludo (25,27). Esta monografia dirige-se justamente para esta temática, proporcionando uma revisão do conhecimento atual da aplicabilidade da nanotecnologia no tratamento da AAG.

2. Objetivo

Pretende-se, primeiramente, descrever em traços gerais os diferentes tipos de alopecia. Dar-se-á ênfase à alopecia androgenética, sendo abordada a sua epidemiologia, etiologia, fisiopatologia e apresentação clínica, e o tratamento convencional. Por fim, serão detalhadas as particularidades dos sistemas nano com aplicação no tratamento desta doença.

3. Metodologia

Esta monografia consiste numa revisão bibliográfica da literatura atual, especialmente focada nas particularidades da abordagem terapêutica da alopecia androgenética, procurando esclarecer quais as potencialidades e as aplicações dos sistemas nanotecnológicos na terapêutica antialopecia.

Para a sua realização procedeu-se à análise de artigos científicos originais e artigos de revisão bibliográfica, obtidos através de bases de dados como *PubMed*, *B-On*, entre outras. A pesquisa bibliográfica foi efetuada recorrendo aos termos “*androgenetic alopecia*”; “*treatment options*”; “*minoxidil*”; “*conventional formulations*”; “*hair follicles*”; “*drug delivery systems*”; “*nanotechnology-based formulations*”; “*nanoparticles*”, os quais foram também utilizados em associação, para identificar artigos potencialmente relevantes. Foram ainda consultados alguns livros para recolha de definições e conceitos/termos chave, destacando-se entre eles “*Hair Growth and Disorders*”; “*Tecnologia Farmacêutica*”; “*Handbook of Cosmetic Science and Technology*”.

De toda a informação recolhida, apenas foi selecionada para constar nesta monografia, a informação científica mais atual e que se enquadra com o tema da nanotecnologia como ferramenta no tratamento da alopecia androgenética.

Por fim, toda a informação utilizada encontra-se devidamente referenciada.

4. Sistema tegumentar

O sistema tegumentar é composto pela pele e respectivas estruturas anexas, tais como folículos pilosos, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e unhas. Para além de constituir uma barreira física entre o corpo e o ambiente exterior, o sistema tegumentar desempenha funções que são indispensáveis à vida, como: proteção mecânica; proteção contra a radiação ultravioleta; percepção sensorial; manutenção da temperatura corporal; e síntese metabólica (síntese de vitamina D e de melanina) (28,29).

A pele representa, em média, mais de 10% da massa corporal e ocupa uma área de superfície de cerca de 2 m², pelo que é considerada o maior órgão do corpo humano (29,30). Anatomicamente, a pele é constituída por três camadas distintas, a epiderme, a derme e a hipoderme, como ilustrado na figura 4.1.

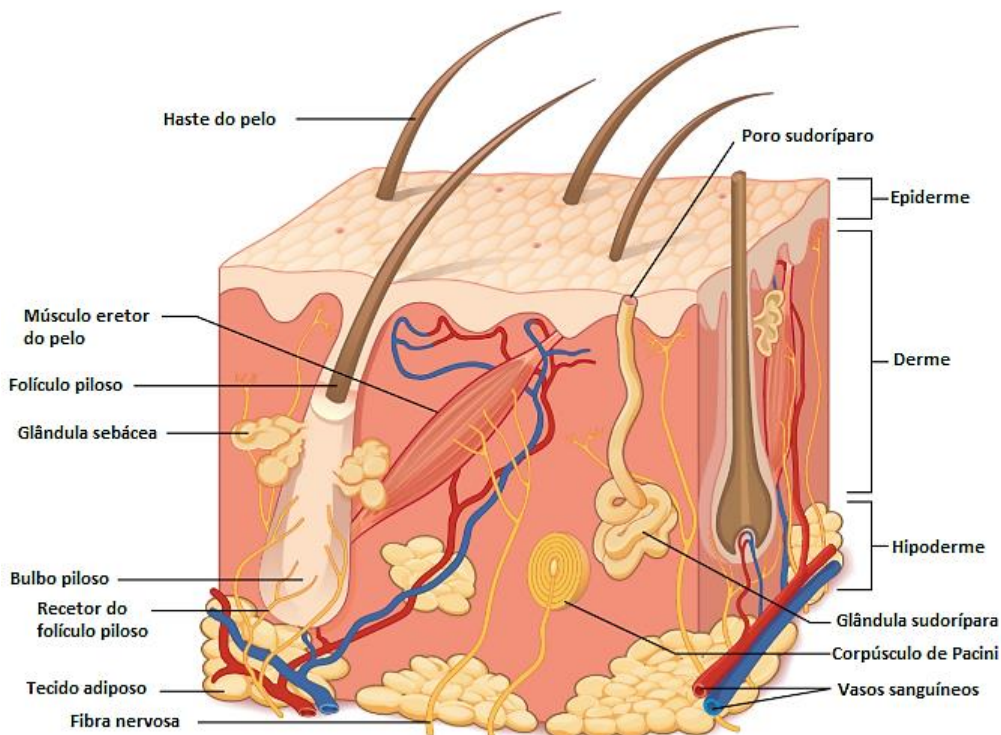


Figura 4.1. Anatomia da pele. Adaptado de (30).

A porção mais superficial da pele, a **epiderme**, não contém vasos sanguíneos (verificando-se, por isso, um tecido avascular) e é composta essencialmente por um conjunto estratificado de queratinócitos. Distinguem-se fundamentalmente quatro estratos (ou camadas) histologicamente distintos tendo em conta o nível de diferenciação dos queratinócitos constituintes (30-32).

A camada mais profunda da epiderme, a camada basal ou estrato germinativo, é responsável pelo início da diferenciação celular e, regra geral, é formada por uma única camada de células. Esta por intermédio dos hemidesmossomas, promove a fixação das camadas superiores da epiderme à lâmina dermo-epidérmica, que, por sua vez, separa a epiderme da derme (31). Ao nível da camada basal, os queratinócitos apresentam intensa atividade mitótica e a maioria das células recém-formadas passa a integrar as camadas superiores (28).

Imediatamente acima, encontra-se o estrato espinhoso ou camada de Malpighi, local onde ocorre grande parte do processo de maturação dos queratinócitos, os quais, a este nível, se apresentam como células contendo numerosos filamentos de queratina, justapostas e unidas por desmossomas (30,31). Segue-se o estrato granuloso, onde as células se encontram achatadas, sem capacidade de divisão, e com o citoplasma preenchido por grânulos de querato-hialina, os quais reforçam a resistência da queratina. Ao nível desta camada, as células enfrentam um processo terminal de diferenciação, culminando em morte celular (31).

À medida que se vão diferenciando, desde a camada mais profunda, a camada basal, até à superfície da pele, os queratinócitos sofrem um processo de queratinização, acabando então por morrer, dando origem às células do estrato córneo ou corneócitos. O **estrato córneo** corresponde à camada mais superficial da epiderme e é então constituído por células mortas, anucleadas e ricas em queratina. O espaço intercelular é preenchido por uma matriz lipídica densa e altamente organizada, a qual integra ceramidas, colesterol, triglicéridos e ácidos gordos essenciais (20,32). A mesma contribui para a formação de uma barreira córnea eficaz contra a permeação de compostos exógenos, para além de desempenhar um papel fundamental na prevenção da perda de água, tornando a pele relativamente impermeável (20,30). Por outro lado, a cada 2 a 4 semanas, as células libertam-se, ocorrendo a renovação dos corneócitos superficiais, o que permite restabelecer as propriedades da barreira cutânea (20,33).

Na epiderme, para além dos queratinócitos, estão ainda presentes outros tipos de células, nomeadamente os melanócitos, que asseguram a produção de melanina, as células de Langerhans com função imunológica, e as células de Merkel, envolvidas na perceção sensorial (32).

Subjacente à epiderme viável, encontra-se a **derme**. É formada por tecido conjuntivo e incorpora diferentes tipos de células, assim como uma rede de vasos sanguíneos, vasos linfáticos, elementos nervosos, e ainda estruturas como os folículos pilosos, as glândulas sebáceas e as glândulas sudoríparas (30,31).

A derme compreende a maior parte da pele e é responsável pela sua elasticidade e resistência estrutural (31). É composta por duas camadas de tecido conjuntivo — a camada papilar (mais superficial) e a camada reticular (mais profunda, e, por isso, mais próxima da hipoderme) —, as quais integram uma rede interconectada de fibras de elastina e de colagénio (30). A camada mais superficial da derme possui projeções, as papilas dérmicas, que se estendem em direção à camada basal da epiderme, o que explica o aspeto irregular da junção dermo-epidérmica. Estas projeções contribuem para a formação de uma ligação estrutural e funcional bastante importante entre a derme e a epiderme, pois para além de aumentarem a superfície de contacto entre estas duas camadas, agilizam a oxigenação e nutrição das células da epiderme a partir dos capilares da derme (20,28,30).

Abaixo, e em continuidade com a derme, encontra-se a **hipoderme**, ou tecido subcutâneo, que por sua vez estabelece a ligação entre a pele e as estruturas subjacentes, isto é, os músculos e os ossos (28).

Em relação às estruturas anexas, ou acessórias, da pele, merecem destaque o folículo piloso, as glândulas sebáceas e as glândulas sudoríparas.

O **folículo piloso** compreende uma invaginação de tecido epidérmico na derme. A extremidade inferior do folículo piloso expande-se, formando o bolbo piloso, o qual inclui células basais mitoticamente ativas, identificadas como células da matriz, as quais induzem o desenvolvimento do folículo e promovem a formação da haste ou fibra capilar, que, por sua vez, emerge da superfície da epiderme (3,25,30).

A cada folículo piloso estão associadas estruturas como um músculo eretor e uma ou mais **glândulas sebáceas**, que produzem sebo. Este corresponde a uma mistura lipídica complexa, com atividade bacteriostática, contendo principalmente triglicéridos, ácidos gordos livres, ésteres de cera, esqualeno e colesterol (25,34). A produção sebácea é fundamentalmente regulada por hormonas, das quais se destacam os androgénios. O sebo

flui através do ducto sebáceo e atravessa o orifício piloso até à sua libertação no exterior, favorecendo assim a hidratação natural do pelo e do estrato córneo (30,34).

As glândulas sebáceas situam-se na derme e, apesar da maioria estar profundamente associada aos folículos pilosos, podem também ser encontradas independentemente destes, em particular no rosto (20,28).

As **glândulas sudoríparas** podem ser classificadas em dois tipos: écrinas e apócrinas. As glândulas sudoríparas écrinas encontram-se distribuídas pela maior parte do corpo, sendo especialmente abundantes nas palmas das mãos, nas plantas dos pés e na fronte (30). São constituídas por uma porção glomerular, alojada na derme, juntamente com um canal excretor, o qual conduz o suor, produzido no interior do glomérulo, diretamente para a superfície da pele, onde é libertado através do poro sudoríparo (28,30). O suor é produzido em resposta a estímulos térmicos, daí a função de termorregulação, ou estímulos psíquicos. Contrariamente às glândulas sudoríparas écrinas, as glândulas sudoríparas apócrinas encontram-se geralmente associadas aos folículos pilosos, pelo que, neste caso, o suor é conduzido através do canal folicular. As glândulas sudoríparas apócrinas tornam-se ativas a partir da puberdade e existem apenas em regiões específicas do corpo, nomeadamente nas axilas e na região genital. A secreção de suor por parte destas glândulas está sujeita a controlo do sistema nervoso e a controlo hormonal. O suor produzido é ligeiramente viscoso e espesso; a sua decomposição mediada pelas bactérias residentes da pele é responsável pelo mau odor característico do suor humano (21,30).

4.1. Folículo piloso

4.1.1. Estrutura

A unidade pilossebácea é uma estrutura anatómica complexa que integra a haste capilar e o respetivo folículo piloso juntamente com o músculo eretor do pelo adjacente e a(s) glândula(s) sebácea(s) associada(s) (4,34).

Longitudinalmente, e tal como representado na figura 4.2, podem ser identificadas diferentes regiões ao nível do folículo piloso: o segmento superior (infundíbulo), o segmento intermédio (istmo) e o segmento inferior.

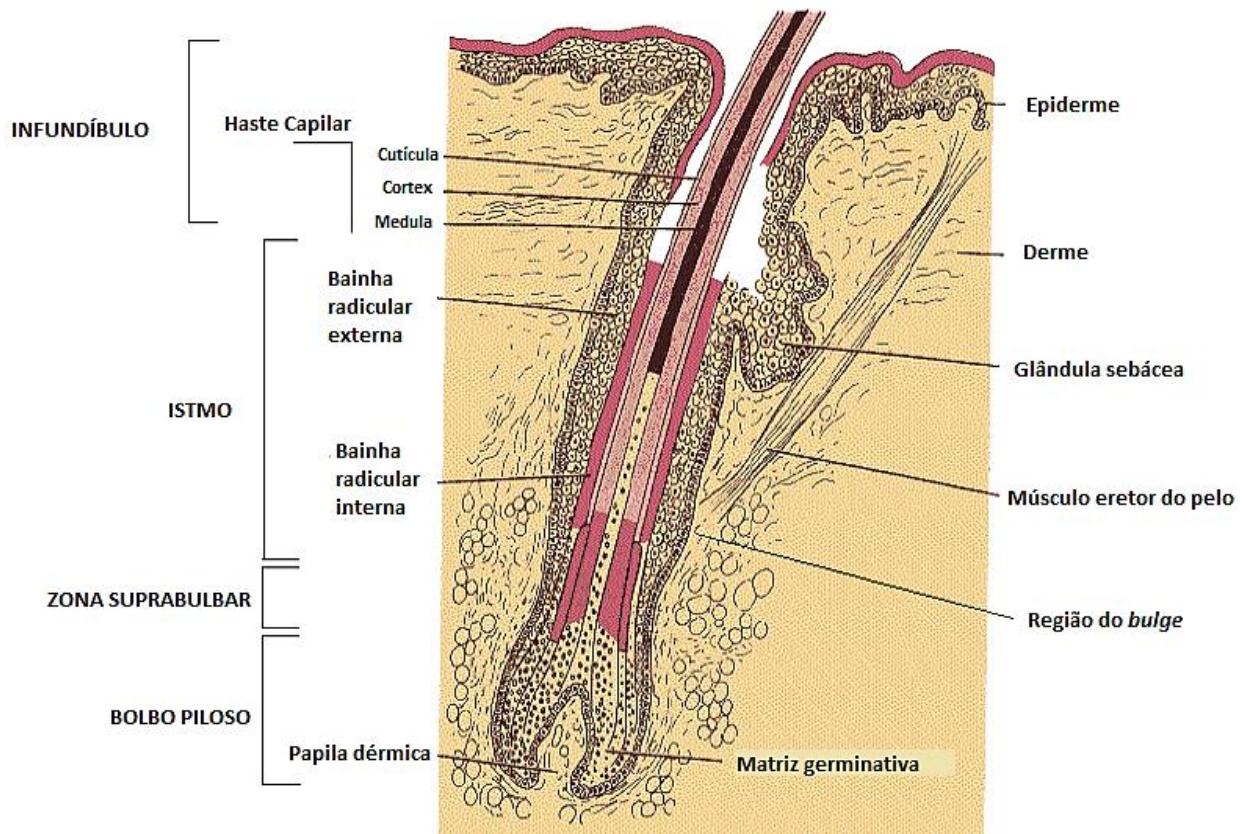


Figura 4.2. Representação de uma secção da unidade pilossebácea. Adaptado de (35).

O **infundíbulo** estende-se desde a abertura do orifício folicular até ao ponto onde o ducto da glândula sebácea desagua no folículo piloso (4,8). Na porção superior do infundíbulo folicular, designada por acro-infundíbulo, o epitélio é contínuo com a epiderme, incluindo a este nível, um estrato córneo bem desenvolvido e uma camada de estrato granuloso (4,36). Esta barreira córnea, intacta e impermeável, é interrompida ao nível da porção inferior do infundíbulo folicular — infra-infundíbulo —, pois, a este nível, o padrão de queratinização altera-se. A região do infra-infundíbulo é formada por um epitélio queratinizado, porém sem granulação. Verifica-se, assim, uma perda progressiva em termos de diferenciação epidérmica, ocorrendo em direção ao istmo, pelo que apenas alguns corneócitos diferenciados permanecem, e a invaginação da epiderme ao nível do infundíbulo folicular inferior pode ser considerada altamente permeável (4,36,37).

O **istmo** corresponde à secção que se prolonga desde a entrada do ducto da glândula sebácea até ao ponto de inserção do músculo eretor do pelo (8).

O segmento inferior, que engloba a zona suprabulbar e o bolbo piloso propriamente dito, estende-se então desde a inserção do músculo eretor do pelo até à base do folículo. A **zona suprabulbar** situa-se entre o istmo e o bolbo piloso (8,37).

Enquanto o infundíbulo e o istmo constituem a porção permanente do folículo piloso, o segmento inferior, em particular o bolbo piloso, corresponde à porção transitória. A estrutura bulbar prolifera e regride de acordo com as diferentes fases do ciclo capilar (34).

O **bolbo piloso** corresponde à dilatação terminal que, por sua vez, inclui no seu interior a **matriz germinativa**, e ainda uma pequena projeção dérmica, a **papila dérmica folicular**. A papila dérmica, localizada no centro da base do folículo, é uma estrutura provida de fibras nervosas e à qual afluem capilares sanguíneos, os quais asseguram a nutrição do epitélio germinativo (3,28,30). A papila dérmica constitui igualmente uma fonte essencial de fatores de crescimento indispensáveis ao desenvolvimento do folículo piloso (36).

Durante o crescimento ativo da fibra capilar, as células da matriz, que circundam a papila dérmica folicular, dividem-se rapidamente e diferenciam-se à medida que avançam em direção à superfície, dando origem à haste capilar. Entre as células basais da matriz podem ser também encontrados vários melanócitos (37). A melanina é transferida destes melanócitos para as células que compõem o eixo do futuro cabelo e é responsável, tendo em conta a quantidade de pigmento e o grau de atividade dos melanócitos, pela cor dos respetivos cabelos (37,38).

As células da matriz diferenciam-se nos vários tipos de células que compõem as diferentes camadas da haste capilar, como demonstrado na figura 4.3a (37). A **haste capilar** é fundamentalmente constituída por células mortas preenchidas por uma proteína fibrosa denominada queratina, e, geralmente, está organizada em três camadas concêntricas — a medula, o córtex e a cutícula —, tal como representado na figura 4.3b (8,38). Dependendo da morfologia e dimensão do próprio folículo piloso, a medula (ou canal medular), quando presente, constitui o compartimento central da fibra capilar (8,36). A medula está envolta pelo córtex, o qual corresponde à porção mais volumosa da fibra capilar, formando basicamente o corpo do fio de cabelo. As células que compõem o córtex formam uma estrutura cilíndrica compacta e sofrem queratinização à medida que se movem em direção à superfície, a partir da matriz germinativa; a queratina produzida é essencialmente queratina dura (28,37,39). A cutícula reveste o córtex e constitui, por isso, a camada mais externa da haste capilar. É composta por células totalmente queratinizadas

e sobrepostas umas em relação às outras (8,39). Atendendo à sua integridade e propriedades, a cutícula assume a proteção do córtex subjacente, nomeadamente contra danos físicos e químicos (36).

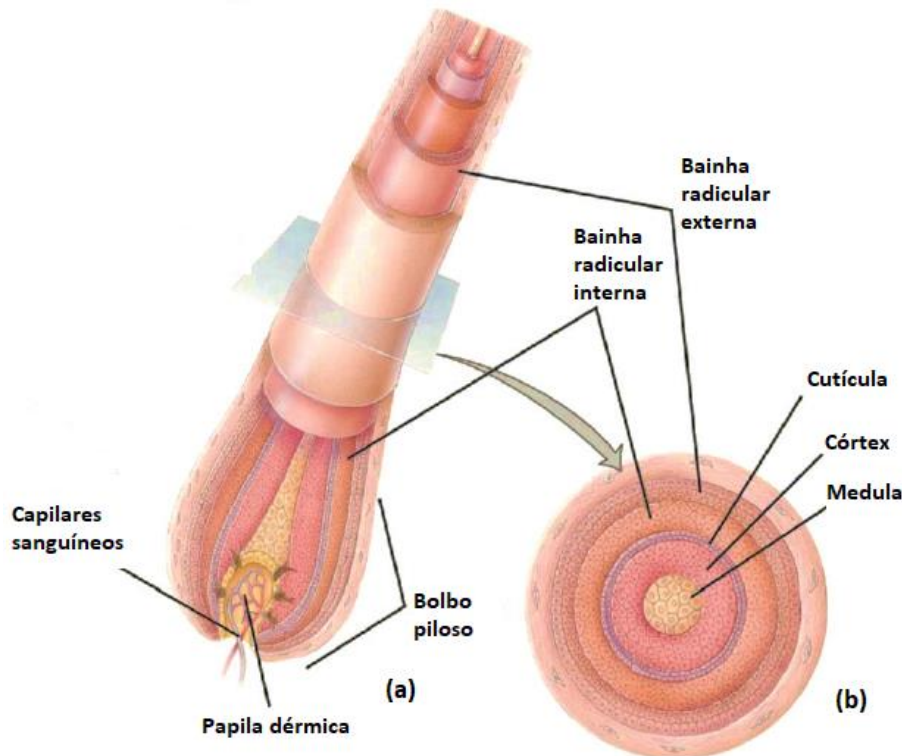


Figura 4.3. (a) Estrutura do folículo piloso. (b) Corte transversal de uma haste capilar. Adaptado de (4).

A parede do folículo piloso é organizada em três compartimentos celulares: a bainha radicular interna, a bainha radicular externa, e a membrana vítrea (30).

- As células que compõem a **bainha radicular interna** (BRI) derivam de células epiteliais indiferenciadas da matriz do bolbo piloso (28,30). A BRI consiste em três camadas concêntricas de células, estando dispostas do centro para a periferia, respetivamente: a cutícula, a camada de Huxley e a camada de Henle. A cutícula da BRI está intimamente ligada à cutícula da fibra capilar, ancorando esta ao folículo (36,37). A BRI reveste e sustenta a fibra capilar em crescimento somente até à região do istmo, uma vez que as células que a compõem se desintegram ao nível dos ductos das glândulas sebáceas que marcam a interface entre o istmo e o infundíbulo (37).
- A **bainha radicular externa** (BRE) envolve o folículo piloso em toda a sua extensão, e consiste em epitélio estratificado que é contínuo com a epiderme interfolicular (4). A sua espessura diminui progressivamente em direção à

extremidade inferior do folículo piloso (37). Ao nível do segmento inferior, isto é, na região do bolbo piloso, a BRE é composta apenas por células da camada basal; contrariamente, ao nível do infundíbulo, a BRE, contínua com a epiderme, passa pelo processo de queratinização epidérmico normal, incluindo o desenvolvimento de células granulares e da camada córnea (30,37).

Próximo da inserção do músculo eretor do pelo, a BRE comporta uma protuberância distinta que consiste na região do *bulge*. Esta região é identificada como sendo um reservatório de células estaminais epiteliais, responsáveis pela reconstituição do folículo piloso, assim como de células precursoras de melanócitos (4,8,34,36).

- A **membrana vítrea**, por sua vez mais externa, reveste a BRE, separando, deste modo, o folículo piloso do tecido conjuntivo que o circunda (37,39).

4.1.2. Tipos de folículos pilosos e distribuição

A morfogénese do folículo piloso inicia-se durante o desenvolvimento embrionário (38). Além disso, o número total de folículos pilosos que um indivíduo possui potencialmente durante toda a vida, assim como o padrão de distribuição dos mesmos, são estabelecidos durante a embriogénese (38,40).

Os diferentes tipos de folículos pilosos distinguem-se consoante a sua morfologia e dimensão, e são classificados de acordo com a natureza da fibra capilar produzida (6,34). Os folículos produzem inicialmente um tipo de cabelo denominado **lanugo**. O cabelo lanugo é delicado, macio e não pigmentado (3,28). Perto do nascimento, o cabelo lanugo é então substituído. Nesse sentido, espera-se o desenvolvimento dos **folículos produtores de cabelo terminal**, cuja distribuição se restringe ao couro cabeludo e à área das sobrancelhas e cílios, e ainda dos **folículos produtores de cabelo velus**, por sua vez distribuídos pelo resto do corpo em geral, à exceção das regiões palmo-plantares, lábios e segmentos distais dos dedos das mãos e dos pés (28,40,41). Apesar da maioria dos folículos produzir cabelo *velus*, os folículos terminais assumem maior importância (37,40).

Os folículos produtores de cabelo *velus* estendem-se até aproximadamente 1000 μm em profundidade na derme, não atingindo o tecido subcutâneo. Já os folículos terminais invadem profundamente a derme, alcançando cerca de 3000 μm de profundidade (5).

O cabelo *velus* caracteriza-se como sendo curto, fino, não medular e geralmente pouco pigmentado, enquanto o cabelo terminal é longo, espesso e pigmentado, e possui frequentemente canal medular (4,42,43). Curiosamente, algumas fibras capilares exibem características intermédias, o que sugere que provêm de folículos pilosos cuja morfologia se encontra entre a de um folículo *velus* e de um folículo terminal. (34,43).

Por outro lado, sob influência androgénica, particularmente durante a puberdade, folículos pilosos do tipo *velus*, de áreas sensíveis aos androgénios, tais como a região púbica, axilas e barba, sofrem transição para folículos terminais (3,37,41). Contudo, dependendo da região do corpo, os androgénios podem exercer funções opostas ao nível do crescimento capilar, e, em indivíduos geneticamente predispostos, folículos terminais que ocupam a região do couro cabeludo podem sofrer miniaturização progressiva, tornando-se folículos *velus* (3,37).

Além disso, existem variações significativas entre as diferentes regiões do corpo em relação ao diâmetro do orifício folicular, diâmetro e comprimento da haste capilar, volume e área de superfície do infundíbulo, e distribuição da densidade folicular (4,34). Por sua vez, a densidade folicular consiste no número de folículos por unidade de área e constitui um dos principais fatores que determina as diferentes taxas de permeação folicular (4,34,44). Enquanto o couro cabeludo e o rosto são as regiões que apresentam maior densidade de folículos (correspondendo até 10% da área de superfície da pele), noutras partes do corpo, os orifícios foliculares representam apenas cerca de 0,1% da área total da pele (25,29,34,43).

4.1.3. Ciclo capilar

As unidades foliculares estão submetidas a um ciclo evolutivo específico, ao longo do qual são traçadas mudanças morfológicas e histológicas ao nível do cabelo e do folículo (2,38). É importante referir que a produção de novos fios de cabelo pelos folículos não é sincronizada, isto é, cada cabelo cresce independentemente dos restantes folículos do couro cabeludo humano (3,45).

O ciclo de vida do cabelo compreende então três fases sucessivas — anagénica, catagénica e telogénica. —, cuja duração é muito diferente (2). A fase de **anagénes**e corresponde ao período de crescimento e a sua duração determina o comprimento do fio de cabelo (41); dura cerca de dois a três anos no homem e seis a oito anos na mulher, pelo que o ciclo de vida do cabelo acaba por ser mais longo nas mulheres do que nos homens (2,43). O cabelo cresce à medida que se formam novas células na base do folículo (28).

Esta fase de crescimento ativo é geralmente subdividida em seis fases (I – VI). No período de proanagénes, que inclui as fases I a V, as células epiteliais da matriz do bolbo piloso proliferam e diferenciam-se nos vários tipos de células que reconstituem as diferentes camadas da haste capilar e da BRI (6,36,46,47). A fibra capilar recém-formada começa a desenvolver-se, e os melanócitos localizados na matriz capilar transferem o pigmento para os queratinócitos capilares em desenvolvimento, potenciando a pigmentação do cabelo (36,47). Segue-se a metanagénes, fase VI, que abrange o período de crescimento do cabelo à superfície da epiderme (46).

Eventualmente, a divisão celular e a produção de melanina no bolbo piloso, cessam. A fase anagénica é então seguida de uma fase de involução — a fase catagénica —, que dura apenas entre duas a quatro semanas (46,47). Durante a **catagénes**e, o folículo sofre uma série de alterações morfológicas e moleculares, culminando em apoptose (46). Contrariamente a estruturas foliculares, como a BRE e a matriz capilar, a papila dérmica não está sujeita a apoptose devido à presença da proteína antiapoptótica BCL-2, sendo assim assegurada a renovação cíclica do folículo piloso (38,46).

A apoptose de células epiteliais conduz à regressão da porção inferior do folículo piloso, verificando-se uma redução do seu diâmetro normal (6,36). Morfologicamente, o que resta é essencialmente um cordão de células epiteliais sobrejacente a um aglomerado de células quiescentes da papila dérmica (41).

Para além disso, a porção do folículo piloso em contacto com a extremidade proximal do cabelo, queratiniza formando uma estrutura em forma de bolsa, que eventualmente se separa da papila dérmica (6,45).

Ainda durante a catagénes, a papila dérmica condensa e ascende em direção à região do *bulge*, permanecendo em repouso sob esta área (36,38). É importante salientar que a região do *bulge*, uma vez integrando a porção permanente do folículo piloso, está

disponível durante todas as fases que o ciclo capilar contempla, o que tem implicações ao nível do processo de autorrenovação do folículo (3,34,48).

Por último, surge a fase telogénica que marca o período entre a regressão folicular e o início de uma nova fase anagénica (45). A **telogénese** dura entre três a seis meses, e durante este período, o folículo permanece num estado quiescente em termos de proliferação e atividade bioquímica (2,38). Por sua vez, a eventual queda do fio de cabelo gerado ocorre por meio de um processo ativo, designado por processo exogénico, o qual envolve eventos proteolíticos entre as células na base do folículo telogénico (6,41,46,47).

A figura 4.4 representa de uma forma esquemática as diferentes fases do ciclo capilar ao nível do couro cabeludo humano.

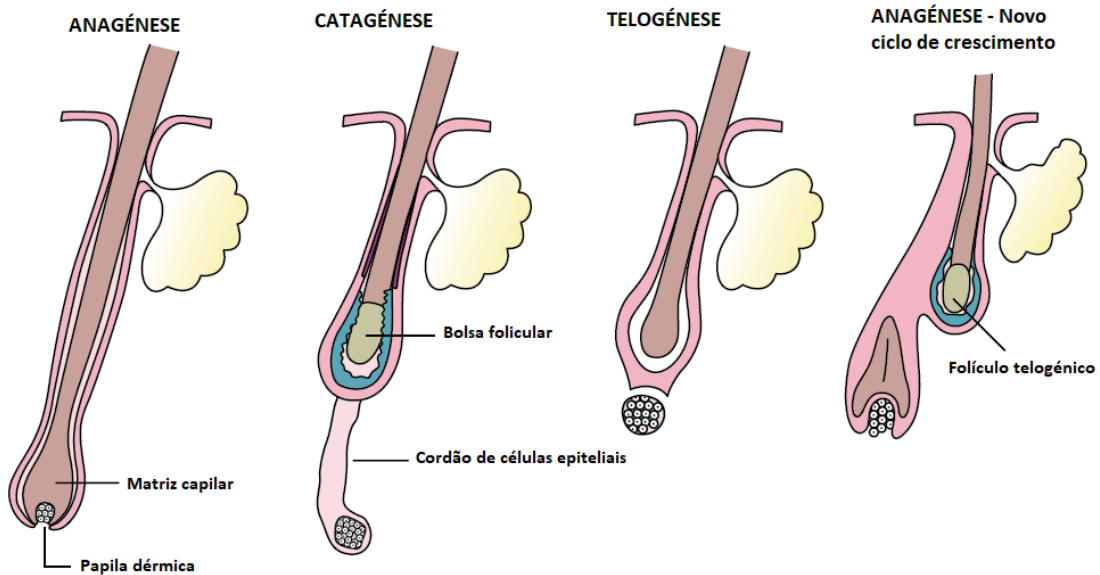


Figura 4.4. Representação esquemática das diferentes fases do ciclo capilar. Adaptado de (49).

Após o período de repouso, fase telogénica, pode dar-se início a uma nova fase de crescimento ativo (47). Fatores mitogénicos da papila dérmica atuam ao nível das células estaminais que residem na região do *bulge*, estimulando a proliferação das mesmas, e, conseqüentemente, um novo ciclo capilar é induzido. As células estaminais desta área protuberante da estrutura folicular, constituem uma fonte acessível de células multipotentes indiferenciadas, cruciais para o desenvolvimento e função do folículo piloso, incluindo a pigmentação da futura fibra capilar (36).

Posto isto, verifica-se o recomeço de uma fase anagénica, com o desenvolvimento de um novo folículo piloso dentro das diretrizes da bainha dérmica que circundara o folículo anterior (47).

Sob condições fisiológicas, ao nível do couro cabeludo humano, 85% dos folículos encontram-se em fase anagénica e aproximadamente 15% em fase telogénica (6,34,40,41). Alterações ao nível destas percentagens, assim como da duração média das diferentes fases do ciclo, estão profundamente associadas a distúrbios de crescimento capilar (4,34,40).

O ciclo capilar é ainda influenciado por vários fatores sistémicos, nomeadamente hormonas das gónadas, suprarrenais e tiroideias (2,3,38). Mais concretamente, pode ser acelerado pela tiroxina e atrasado pelo estradiol (2).

4.2. Vias de permeação cutânea

A barreira cutânea, em particular o estrato córneo altamente lipofílico, limita significativamente a penetração de substâncias exógenas, incluindo as que apresentam potencial terapêutico (4,8). Nestas circunstâncias, a lipossolubilidade é um dos fatores que condiciona o maior ou menor grau de permeação cutânea de um fármaco (24,50). Qualquer composto ativo, para penetrar na pele, terá de atravessar efetivamente duas barreiras: a camada córnea envolta por uma película lipídica externa, e as subsequentes camadas da epiderme. Uma vez ultrapassadas estas barreiras, o composto atinge os tecidos subjacentes, podendo, eventualmente, passar para a circulação geral, exercendo, nesse caso, um efeito sistémico (27,50,51).

O transporte de substâncias através do estrato córneo ocorre essencialmente por difusão passiva, incluindo quer a via transcelular quer a via intercelular (também denominada paracelular) (20,32). Por sua vez, os apêndices cutâneos, isto é, as glândulas sudoríparas e os folículos pilosebáceos, constituem uma via alternativa, e de interesse crescente, para a entrega de ativos aplicados sobre a pele (20,52). A figura 4.5 documenta estas diferentes vias de permeação cutânea.

A relevância de cada uma destas vias de transporte depende essencialmente das propriedades físico-químicas das substâncias aplicadas sobre a pele intacta (26,32).

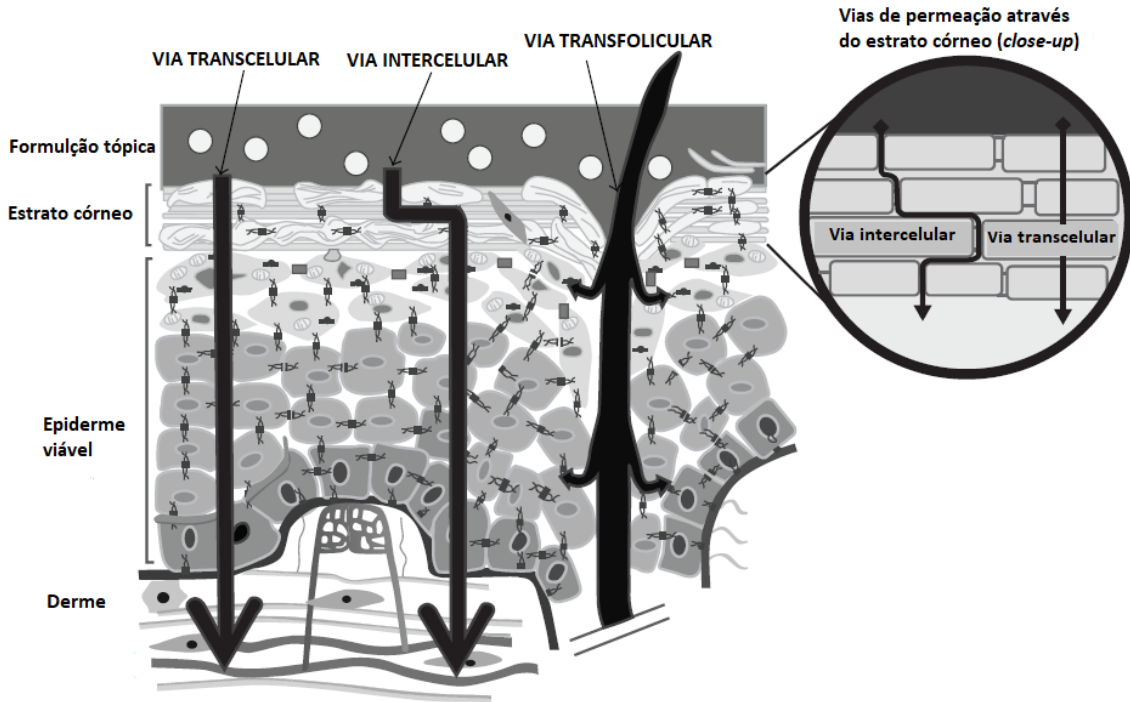


Figura 4.5. Vias de permeação cutânea — vias transcelular, intercelular e transfolicular —, através das quais uma molécula pode atravessar o estrato córneo. Adaptado de (53).

- **Via transcelular**

Mediante esta via de permeação, os ativos atravessam diretamente os corneócitos e a matriz lipídica intercelular (20,27).

A permeação por via transcelular pressupõe então uma distribuição sucessiva entre compartimentos lipofílicos e hidrofílicos, incluindo a matriz intracelular dos corneócitos consideravelmente impenetrável (29). Por sua vez, a possibilidade de repartição sucessiva entre compartimentos lipofílicos e hidrofílicos é controversa, o que leva a que a difusão por esta via seja considerada improvável na maioria dos casos (8,32).

Por outro lado, evidências experimentais e considerações teóricas sugerem que há maior probabilidade de a maioria dos solutos se difundir por intermédio dos lípidos intercelulares (29,32). Nesse sentido, a via lipídica intercelular assume maior relevância em termos da permeação através do estrato córneo, comparativamente à via transcelular (20,54).

- **Via intercelular**

Neste caso, os solutos difundem-se exclusivamente através da matriz lipídica contínua que preenche os espaços entre os corneócitos (27,55). As moléculas lipofílicas e anfifílicas seguem maioritariamente esta via de permeação (55).

Dado que a maioria das moléculas atravessa o estrato córneo por intermédio dos lípidos intercelulares, por permeação passiva, diferentes estratégias têm sido postas em prática com vista a potenciar esta via, promovendo, por vezes, alterações na arquitetura molecular — representada pelos corneócitos e pelas multicamadas lipídicas intercelulares —, de forma a que seja possível reduzir temporariamente a resistência da pele à passagem dos compostos exógenos (22,27).

▪ **Via transfolicular**

No passado assumiu-se que a via intercelular era a única via de permeação relevante para substâncias aplicadas topicamente. Investigações recentes, no entanto, enfatizam o facto de os folículos pilosos representarem uma via de permeação altamente relevante e eficiente, assim como potenciais reservatórios (56).

Como referido anteriormente, o folículo piloso representa uma invaginação da epiderme que se estende profundamente na derme, e é de destacar que a área potencialmente disponível para penetração tópica inclui as superfícies foliculares internas (43). Nesse sentido, a BRE do folículo piloso assume grande importância; a espessura da camada córnea é progressivamente menor ao nível da invaginação correspondente à BRE, e, na base do folículo, a epiderme está reduzida a uma única camada de células não queratinizadas (camada basal) (29,50). Por esta razão, a permeação por intermédio do folículo piloso poderá ser mais bem sucedida (50,54). Além disso, os folículos pilosos, uma vez rodeados por uma vasta rede de capilares sanguíneos, podem contribuir para a distribuição sistémica de fármacos (4,25).

Por outro lado, o grau de permeação dos compostos ativos através dos folículos pilosos depende essencialmente das propriedades físico-químicas da substância aplicada e das características do veículo utilizado na formulação (26,57). Regra geral, os veículos lipofílicos, em vez dos hidrofílicos, otimizam a permeação por via folicular (4,20,34). Para além disso, o estado de atividade dos folículos, o seu tamanho e o número de unidades foliculares por unidade de superfície, parecem ser igualmente fatores influentes (26,57). Naturalmente, nem todos os folículos estão acessíveis à penetração de substâncias, havendo por isso a distinção entre folículos “ativos” (ou “abertos”) e folículos “inativos” (ou “fechados”) (4,26,34). Verifica-se que as substâncias no geral penetram apenas nos folículos pilosos ditos “ativos”, que, por sua vez, se caracterizam pela presença de crescimento capilar e/ou fluxo de sebo (4,43,52,56). Em oposição, os folículos definidos como “inativos” não exibem crescimento capilar nem produção de

sebo, o que, conseqüentemente, promove a obstrução do orifício folicular, acabando por impedir a penetração de substâncias, especialmente as hidrofílicas (4,34,52,56). Este facto pode ser explicado pela eventual deposição de material queratinizado, detritos celulares e remanescentes de sebo, formando uma espécie de cobertura, que então bloqueia os orifícios foliculares; a mesma pode ser naturalmente removida através do crescimento capilar e/ou fluxo de sebo, que, por sua vez, acompanham um movimento ascendente (4,26,56). Por outro lado, a desobstrução dos orifícios foliculares por meio de *peeling* mecânico, aumenta efetivamente a taxa de permeação folicular (4,34).

Muitos estudos sugerem ainda que a via transfolicular, em oposição à via transepidérmica (intra e intercelular), é especialmente favorável para substâncias hidrofílicas e de elevado peso molecular, bem como para formulações baseadas em sistemas nanoparticulados (4,43,57).

Por fim, embora a sua relevância tenha sido negligenciada no passado, o folículo piloso tem ganho cada vez mais importância como alvo específico relativamente à entrega de ativos administrados a nível tópico (52). Para além da via transfolicular poder proporcionar uma penetração e absorção mais profundas, os folículos pilosos podem atuar como um alvo-chave para substâncias aplicadas topicamente (57,58).

5. Alopecia

5.1. Definição, etiologia e tipos

A alopecia, termo clínico para o que vulgarmente se designa “queda de cabelo”, é uma condição dermatológica que se caracteriza pela perda gradual ou súbita de cabelos e/ou de pelos, temporária ou definitiva, e de causas diversas (2,59). Este distúrbio capilar pode ser desencadeado quer por fatores endógenos — nomeadamente, fatores genéticos, desequilíbrios hormonais, processos inflamatórios e doenças sistémicas —, quer por fatores ambientais (6,40).

São reconhecidos vários tipos de alopecia, com apresentações e características clínicas diferentes entre si, e, na maioria dos casos, o fenómeno que preside ao desenvolvimento do distúrbio não está totalmente compreendido (6,59). De um modo geral, estes distúrbios capilares podem determinar alterações na espessura das fibras capilares, no número de folículos por unidade de área e/ou na duração das fases anagénica e telogénica do ciclo capilar (40,41).

Os diferentes tipos de alopecia podem ser reunidos em dois grupos principais: **alopecia cicatricial** e **alopecia não-cicatricial** (60-62). Complementarmente, dependendo do modo como se manifesta a queda capilar, a alopecia pode ainda ser classificada em **difusa** ou **localizada** (2,61).

5.2. Alopecia cicatricial

Alopecia cicatricial é um termo geral que abrange um conjunto heterogéneo de distúrbios capilares, relativamente raros e complexos, e que envolvem a destruição permanente da unidade folicular, o que se traduz numa queda de cabelo **irreversível** (6,40,62,63). Estes distúrbios são caracterizados clinicamente pela diminuição do número de orifícios foliculares visíveis com graus de inflamação variáveis (9). As células estaminais epiteliais da região do *bulge* são afetadas e destruídas pela inflamação, com subsequente atrofia da unidade folicular e substituição por tecido fibroso (6,9,40). Alterações correspondentes a fibrose são comuns nas formas de alopecia cicatricial (64).

A condição cicatricial pode ser categorizada em **alopecia cicatricial primária** e **alopecia cicatricial secundária**. A condição cicatricial primária sugere que a destruição folicular resulta de uma patologia primária subjacente ao folículo piloso, sendo comuns os seguintes exemplos: líquen plano pilar e variantes; pseudopelada de *Brocq*; lúpus eritematoso discóide; foliculite decalvante (6,62-65). Em relação à alopecia cicatricial secundária, o evento primário, alheio à unidade folicular, provoca a destruição inespecífica ou acidental do folículo piloso (6,40). Esta condição cicatricial pode ser decorrente de danos físicos (como por exemplo, queimaduras profundas); doenças infecciosas; dermatoses inflamatórias; doença sistêmica inflamatória crônica, como esclerodermia ou sarcoidose; ou doenças neoplásicas (6,9,62,65).

Na maioria dos casos, a biopsia do couro cabeludo desempenha um papel fundamental ao nível do diagnóstico. O diagnóstico precoce é crucial, uma vez que o objetivo do tratamento consiste em retardar a progressão da condição cicatricial e controlar os sintomas associados (9,62,65).

5.3. Alopecia não-cicatricial

Em relação às formas de alopecia não-cicatricial, os folículos pilosos, regra geral, mantêm-se preservados, pelo que esta condição é, muitas vezes, **reversível**, principalmente mediante tratamento (40,45,61). Fundamentalmente, o tratamento irá promover a regeneração e reforma da unidade folicular, tornando favorável a recuperação do crescimento capilar (40).

As formas comuns de alopecia não-cicatricial são: alopecia androgenética; alopecia areata; eflúvio telogénico; eflúvio anagénico; e alopecia por tração. Ainda há que referir as quedas de cabelo decorrentes de perturbações neurológicas ou comportamentais, como a tricotilomania (2,60,61). A alopecia mais prevalente em ambos os sexos, a **alopecia androgenética (AAG)**, será objeto de revisão no presente trabalho.

- **Alopecia areata**

A alopecia areata é uma condição que envolve um fenómeno autoimune mediado por linfócitos T, que afeta os folículos pilosos, provocando perda súbita de cabelos ou de pelos, o que resulta no aparecimento de manchas (peladas) tipicamente circulares, não

cicatriciais (forma clássica) (6,9,62,65). Esta condição dermatológica afeta cerca de 2% da população geral, e há evidências de uma certa predisposição genética associada ao seu desenvolvimento (6,45,62).

As características histopatológicas incluem um infiltrado linfocitário peribulbar, envolvendo apenas folículos pilosos em fase anagénica, e, nessas circunstâncias, é desencadeada a transição prematura dos folículos pilosos de fase anagénica para as fases catagénica-telogénica, precipitando, desse modo, a queda capilar (6,9,40,45).

A alopecia areata está muitas vezes associada a outras doenças autoimunes, incluindo doenças da tiróide, lúpus eritematoso, vitiligo, psoríase, artrite reumatoide, diabetes *mellitus* tipo 1, doença inflamatória intestinal, entre outras (45,62).

O algoritmo de tratamento da alopecia areata depende da gravidade e extensão das áreas afetadas, podendo incluir fármacos imunomoduladores e imunossupressores (45,63).

- **Eflúvio telogénico**

O eflúvio telogénico caracteriza-se por um aumento da queda de cabelo e diminuição da densidade capilar no couro cabeludo em geral (9,64,65). Este distúrbio resulta de um fenómeno de sincronização anormal do ciclo capilar, de vários folículos individuais, em fase telogénica, o que, posteriormente, se reflete na queda de um maior número de cabelos em simultâneo (9,62,64,65). Habitualmente, este aumento da queda de cabelo verifica-se 2-4 meses após o evento desencadeante (63). As possíveis causas do eflúvio telogénico incluem: flutuações hormonais (período pós-parto); fatores de *stress major*, como febre elevada, evento cirúrgico, hemorragia, infeção severa, etc.; choques emocionais; carências nutricionais; distúrbios endócrinos; doenças sistémicas crónicas, como insuficiência renal crónica; e a toma de alguns medicamentos (retinóides, contraceptivos orais, anticoagulantes, lítio, anticonvulsivantes, etc.) (2,6,9,61,65,66).

Esta condição tende a ser autolimitada, permanecendo, no máximo, por um período de seis meses (6,45,61,65). Contudo, numa minoria dos casos, esta queda de cabelo difusa pode persistir para além de seis meses, sendo essa situação reconhecida como eflúvio telogénico crónico (6,65)

O tratamento do eflúvio telogénico passa por eliminar a causa subjacente ou moderar condições clínicas precipitantes (9,61,66). Fármacos potencialmente indutores de queda telogénica devem ser descontinuados ou substituídos, se possível (61,66).

▪ **Eflúvio anagénico**

O eflúvio anagénico caracteriza-se pela perda abrupta de cabelo em fase anagénica, assumindo uma distribuição difusa, correspondendo, geralmente, a 80-90% do couro cabeludo (6,9,61,65,66). Esta queda de cabelo acentuada resulta, na maioria dos casos, da exposição a determinados agentes antineoplásicos. Outras possíveis causas incluem radiação e intoxicação por metais pesados (6,40,61,65,66). De um modo geral, estes eventos bloqueiam a atividade mitótica dos folículos, o que motiva a interrupção prematura do crescimento capilar (fase anagénica), ocorrendo queda atípica (9,40,62).

Por norma, o crescimento capilar é apenas temporariamente inibido, pelo que esta condição de queda capilar é geralmente reversível, após a supressão da causa subjacente. Em casos raros, a alopecia induzida pode ser permanente (6,9,40,66).

▪ **Alopecia por tração**

A alopecia por tração surge normalmente como resultado de um trauma mecânico que danifica o cabelo, como é o caso de certos penteados tradicionais que causam tensão excessiva e prolongada sobre os fios de cabelo ao nível do couro cabeludo (6). A perda de cabelo causada por fatores mecânicos é, muitas vezes, reversível. No entanto, em caso de tração constante, pode ocorrer alopecia permanente devido a atrofia folicular (alopecia cicatricial) (6,45,65).

O tratamento aponta essencialmente para a evicção de hábitos ou situações que possam danificar o cabelo por tração (6,65).

5.3.1. Alopecia androgenética

A AAG, usualmente conhecida como calvície comum, e também como alopecia de padrão masculino ou feminino, é uma condição dermatológica relativamente comum e caracteriza-se por miniaturização progressiva do folículo piloso, resultante de uma alteração da dinâmica do ciclo capilar, o que se traduz na transformação gradual de folículos terminais em folículos *velus* (6,13,67). É frequente nos homens, mas também pode afetar mulheres, e, no geral, tem um impacto negativo na autoestima e qualidade de vida dos indivíduos afetados (3,67).

A **alopecia de padrão masculino** (APM) é motivada pela ação dos androgénios, em indivíduos geneticamente predispostos (3,63). Em relação à **alopecia de padrão**

feminino (APF), há igualmente evidências de uma predisposição genética, mas, por outro lado, a influência androgénica é controversa em muitos casos (6,9,63,68). A APF tem um carácter poligénico e a sua etiologia é multifatorial, incluindo fatores ambientais (6,67).

A fim de ilustrar esta condição dermatológica, por sua vez muito prevalente em ambos os sexos, na figura 5.1 estão representadas duas imagens, sendo que uma corresponde a um caso de APM, e a outra a um caso de APF.



Figura 5.1. (a) Alopecia de padrão masculino. (b) Alopecia de padrão feminino. Adaptado de (61).

5.3.1.1. Epidemiologia

Apesar de a AAG representar um problema transversal, a sua incidência e prevalência variam consoante o género, raça e idade dos indivíduos (6,13,67).

Estudos epidemiológicos indicam que a prevalência da AAG é superior no sexo masculino (3,61,67). Estima-se que este distúrbio capilar possa afetar até 80% dos homens e 40% das mulheres em idades avançadas, embora a frequência varie significativamente de acordo com diferentes etnias (40,69). Independentemente do sexo e da raça, a prevalência da AAG tende a aumentar com a idade (6,65,67-69). Em relação à população masculina caucasiana, as taxas de prevalência estimadas são de 30% na faixa etária dos 30 anos, 50% na faixa etária dos 50 anos, e 80% na faixa etária dos 70 anos (13,67). Por outro lado, em mulheres caucasianas, a prevalência da AAG é de apenas 3% na faixa etária entre os 20 e 29 anos, e de aproximadamente 40% nas mulheres com idade igual ou superior a 70 anos (61,68,69). De um modo geral, a AAG é caracterizada por ter um início gradual e pode surgir em qualquer momento após a puberdade (2,6,11,69). O

pico de incidência, no caso do sexo feminino, coincide tipicamente com o período pós-menopausa (65,70).

A AAG pode afetar todas as raças, mas as taxas de prevalência variam. A prevalência desta condição é claramente superior na população caucasiana (6,67). Dados epidemiológicos relativos às populações asiática, nativo-americana e afro-americana, registam taxas de prevalência consideravelmente inferiores às da população caucasiana (6,11,13,67).

5.3.1.2. Apresentação e características clínicas

Clinicamente, a AAG está associada a uma miniaturização progressiva de folículos terminais, em áreas geneticamente predispostas do couro cabeludo, os quais acabam por se converter em folículos *velus* (63,71). Nesse sentido, os cabelos *velus*, que, por sua vez, apresentam um comprimento e diâmetro menores, passam a estar presentes em proporção aumentada, o que se reflete numa diminuição da densidade capilar (9,64,70,71). A distribuição destas alterações assume, muitas vezes, um padrão previsível e característico (63,70).

No homem, o padrão típico inicia-se com a recessão bitemporal da linha frontal do cabelo, seguida de rarefação capilar na parte superior do couro cabeludo (nomeadamente, no vértice), evoluindo para perda total de cabelo nessa região (3,6,40,61,71). Numa fase avançada, há efetivamente confluência das áreas de calvície, nomeadamente das áreas frontais com o vértice; o cabelo presente nas regiões temporoparietais e occipital, é, geralmente, poupado, no sentido em que permanece sem sofrer alterações aparentes (6,9,71).

Por sua vez, a **escala de Hamilton-Norwood**, apresentada na figura 5.2, descreve um conjunto de alterações clínicas que é possível observar durante a progressão da APM. De acordo com esta escala de referência, a progressão da APM pode ser categorizada em sete principais estádios (incluindo, para além destes, quatro variantes específicas), consoante a sua evolução — sendo que o grau I corresponde à forma clínica ligeira e o grau VII à forma clínica mais grave (6,40,67,71). Elucida-se, porém, que os padrões clínicos da

APM são infinitamente variáveis e nenhuma classificação única é aplicável a todos eles (6).

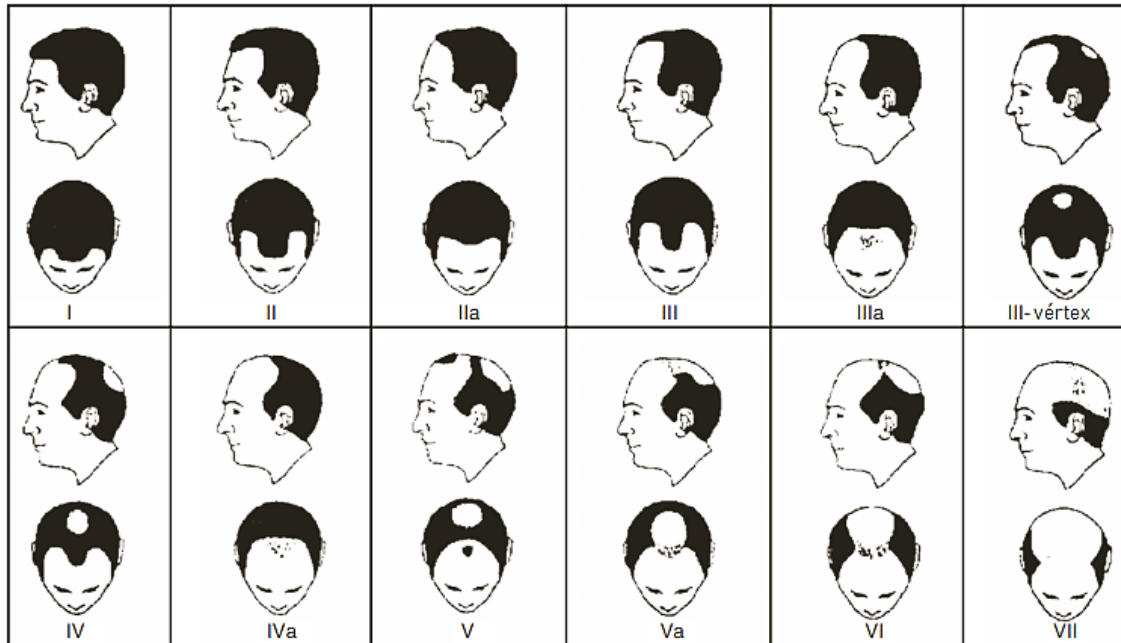


Figura 5.2. Escala de Hamilton-Norwood referente à alopecia de padrão masculino, comumente usada como referência. A mesma inclui a variante tipo A das respectivas formas clínicas. Adaptado de (72).

Por outro lado, na mulher, a progressiva perda de cabelo manifesta-se tipicamente de forma difusa, e, ao contrário do que se verifica frequentemente nos homens, não é comum a evolução para calvície total (6,60). A APF pode então exibir um dos três padrões principais:

1. O cabelo torna-se mais fino e rarefeito na zona média frontal do couro cabeludo; verifica-se, contudo, a retenção da linha frontal de implantação do cabelo. A **escala de Ludwig**, apresentada na figura 5.3, é usada para descrever este padrão em particular, e resume a progressiva perda de cabelo na mulher em três graus de evolução (6,9,65,70);
2. Miniaturização do cabelo e baixa densidade capilar ao nível do risco; há efetivamente um aumento da largura da linha do risco, assim como a rutura da linha frontal do cabelo (6,9,65,70);
3. Miniaturização capilar associada a recessão bitemporal, à semelhança do padrão típico da APM (65,70).



Figura 5.3. Escala de Ludwig referente à alopecia de padrão feminino. Adaptado de (6).

5.3.1.3. Patogénese

Diferentes processos estão envolvidos na patogénese da AAG (71). Como o próprio nome indica, esta condição é principalmente influenciada por uma interação entre fatores genéticos e hormonais (13,71). No entanto, apesar de tanto a influência androgénica como a contribuição genética serem aspetos bem estabelecidos ao nível da patogénese da APM, o grau de influência destes mesmos fatores na APF ainda não é claro (70).

Por outro lado, em pelos menos um terço dos casos de AAG, parece estar envolvido um processo de microinflamação folicular e fibrose, possivelmente desencadeado por fatores de *stress* endógeno e exógeno, flora microbiana, envelhecimento orgânico, entre outros (7,71,73). Trata-se de um processo inflamatório ao nível da região do *bulge*, com rutura de células estaminais, produzindo fibrose da zona perifolicular. Consequentemente, há um comprometimento do ciclo natural de evolução capilar, desencadeando miniaturização irreversível (71).

A influência negativa do fenómeno inflamatório em circunstâncias de queda capilar, é confirmada pela exacerbação da AAG após episódios intercorrentes de outras dermatoses inflamatórias do couro cabeludo, nomeadamente dermatite seborreica (7).

▪ Influência hormonal

Apesar de os androgénios estimularem o desenvolvimento dos folículos pilosos em áreas sensíveis a androgénios (rosto, axilas, região púbica), paradoxalmente, em indivíduos geneticamente suscetíveis, promovem miniaturização folicular e inibem o crescimento de cabelo em áreas específicas do couro cabeludo. Tendo em conta que todos os folículos pilosos estão expostos às mesmas hormonas circulantes e usam os mesmos recetores, este

paradoxo em termos endócrinos, parece resultar de diferenças na expressão de genes envolvidos na resposta aos androgénios, entre os folículos das diferentes áreas corporais (13,47).

De um modo geral, a ação dos androgénios nos folículos pilosos assume bastante relevância na etiologia da AAG (40). Ainda assim, enquanto a APM é considerada uma condição claramente dependente de androgénios, a correlação entre estes fatores hormonais e a patogénese da APF é controversa (9,40,71).

A **testosterona** corresponde ao principal androgénio em circulação, e apenas a fração livre é biologicamente ativa (6,13,68,72,74). Em certos tecidos e, em particular, no tecido cutâneo, é convertida intracelularmente, e de forma irreversível, em **dihidrotestosterona** (DHT), pela ação da **enzima 5 α -redutase** (6,13,70,72,74). A DHT assume um papel determinante na fisiopatologia da AAG, constituindo, por sua vez, um androgénio mais potente do que a testosterona; liga-se ao **recetor de androgénios** com elevada afinidade (3,6,70,74,75). O complexo hormona-recetor dirige-se então para o núcleo da célula, onde interage com o ADN, através da ligação a elementos responsivos aos androgénios, promovendo a transcrição de genes-alvo, regulando, assim, a síntese de proteínas específicas (3,6,47,60). O esquema representado na figura 5.4 acompanha o mecanismo geral de ação dos androgénios.

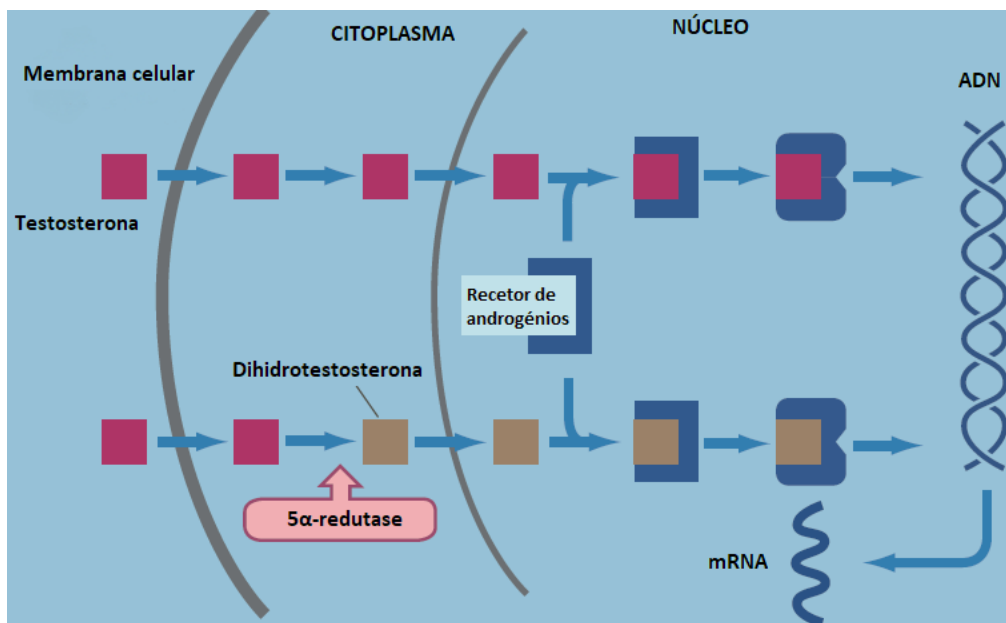


Figura 5.4. Esquema representativo do mecanismo de ação dos androgénios. Os androgénios circulantes atravessam a membrana celular; no interior da célula, a testosterona e a dihidrotestosterona (DHT) podem ligar-se a recetores específicos de androgénios. Na presença do ligando, o recetor de androgénios sofre uma alteração conformacional, expondo os locais de ligação ao ADN. Nesse sentido, o complexo DHT-recetor liga-se ao ADN do núcleo e modula a expressão de genes específicos dependentes de androgénios, agindo como um fator de transcrição. Adaptado de (6,72).

Os recetores de androgénios ao nível da pele localizam-se principalmente nas células da papila dérmica e no epitélio sebáceo (13,75). Assim, os androgénios, em particular, a DHT, produzem efeitos nas células epiteliais dos folículos pilosos através das células da papila dérmica, sendo estas últimas o principal alvo da ação androgénica (13,72). De acordo com o modelo hipotético da ação dos androgénios nos folículos pilosos, representado na figura 5.5, os androgénios atuam diretamente nas células da papila dérmica, onde se ligam a recetores de androgénios, acabando por induzir alterações na produção de fatores reguladores, como fatores de crescimento, o que influencia outras células-alvo, com subsequente modulação do período de tempo em que o cabelo cresce, tamanho da papila dérmica e atividade das células da papila dérmica, dos queratinócitos e melanócitos foliculares (38,40,47,71,72,74).

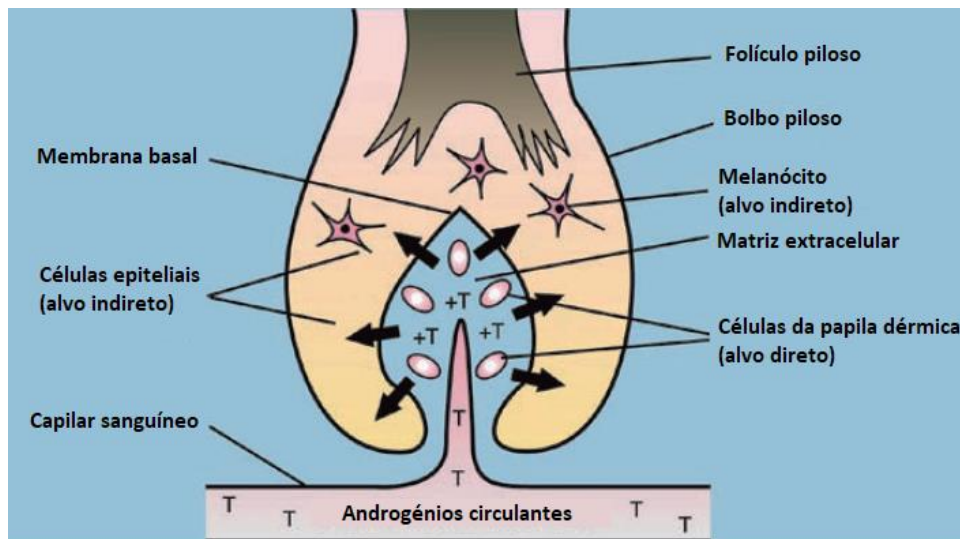


Figura 5.5. Modelo relativo à ação dos androgénios no folículo piloso. A AAG é descrita como uma consequência dos efeitos diretos dos androgénios, em particular, da DHT, nas células da papila dérmica de folículos pilosos suscetíveis. Adaptado de (70,72).

Ao nível dos folículos geneticamente predispostos, os eventos mediados por androgénios, tendo como alvo direto as células da papila dérmica, levam a uma alteração da dinâmica dos ciclos capilares e à miniaturização progressiva da unidade folicular (12). Durante a progressão do distúrbio capilar, há efetivamente, em cada novo ciclo de crescimento, uma redução gradual da duração média da fase anagénica — o que se traduz em cabelos visivelmente mais curtos e finos —, enquanto a duração da fase telogénica aumenta, atrasando assim o processo de regeneração capilar entre ciclos (6,12,13,72). Posto isto, há um comprometimento do crescimento capilar, e após ciclos sucessivos, o comprimento

máximo que o cabelo recém-formado atinge não é suficiente para alcançar a superfície do couro cabeludo — culminando em rarefação capilar nas áreas afetadas (6,12).

Os efeitos antagónicos que os androgénios exercem nos folículos, comparando diferentes regiões do couro cabeludo, refletem provavelmente diferenças ao nível da densidade e distribuição dos recetores de androgénios; da produção local de androgénios; da atividade da enzima 5α -reductase, que, por sua vez, influencia a conversão local de androgénios em DHT (38,40,71). O padrão típico da perda de cabelo na AAG, poupando normalmente a região occipital, reflete, de uma forma geral, diferenças regionais ao nível da sensibilidade aos androgénios (70). Aparentemente, os folículos pilosos das áreas frontais e do vértice contam com expressão aumentada da enzima 5α -reductase e predomínio de recetores de androgénios, o que favorece a formação e atividade dos complexos DHT-recetor. Por sua vez, os folículos occipitais exibem quantidades insuficientes da enzima 5α -reductase, facto esse que os torna pouco ou nada responsivos aos androgénios (6,70,74).

Em relação ao sexo feminino, apenas numa minoria dos casos, o processo de desenvolvimento da APF está associado a hiperandrogenismo (9,68,70). Alguns estudos sugerem ainda que o facto de a APF, em termos de características clínicas, ser menos severa do que a APM, está intrinsecamente relacionado com a presença de níveis mais baixos da enzima 5α -reductase e de recetores de androgénios, no couro cabeludo das mulheres (6,68,70). Por outro lado, mulheres jovens apresentam geralmente níveis elevados de aromatase, uma enzima que catalisa a conversão da testosterona em estradiol (70). A atividade da enzima aromatase tem então implicações ao nível da biodisponibilidade da testosterona, pelo que a produção de DHT é também afetada (6,12,68). Nesse sentido, níveis aumentados de aromatase parecem desempenhar um papel protetor em relação à ação da DHT no desenvolvimento da APF (70).

- **Suscetibilidade genética**

A componente genética desempenha um papel importante na apresentação e progressão da AAG (71,74). As diferenças de prevalência e o grau de progressão em diferentes grupos étnicos refletem, muito provavelmente, variações genéticas (74). Existem, por outro lado, evidências de que a APF e a APM partilham o mesmo fundo genético (70). Uma história familiar positiva, nomeadamente em familiares de primeiro grau, é geralmente comum nestes quadros de alopecia. Mas, a ausência de história familiar não exclui o seu diagnóstico (6,70).

Embora a AAG tenha sido aceite como uma característica autossômica dominante com penetrância variável, mais recentemente, foi estabelecido que a herança genética da AAG segue um modelo poligénico, dada a sua elevada prevalência e a ampla variedade de fenótipos (3,13,72). Alguns estudos têm sido desenvolvidos no sentido de identificar genes de suscetibilidade, que, por sua vez, determinam a idade de início da patologia, a taxa de progressão, o padrão da perda capilar e a extensão das alterações observadas (74). Estima-se que certos polimorfismos no gene que codifica o recetor de androgénios — gene AR (do inglês *androgen receptor*) —, localizado no cromossoma X, possam predispor para AAG (12,13,71,74). A análise de dois polimorfismos de repetição de tripletos — repetição de resíduos de glutamina (CAG) e de resíduos de glicina (GGN) —, revelou que o comprimento da cadeia de repetição tem implicações ao nível da atividade do recetor de androgénios, influenciando, assim, a magnitude da resposta do folículo piloso à DHT. Uma cadeia de repetição de CAG curta está associada a uma maior atividade do recetor de androgénios, conferindo por isso maior probabilidade de desenvolvimento de AAG (12,13,71,76). É conhecido um outro polimorfismo no gene AR que parece estar também associado ao desenvolvimento de AAG — presença do fragmento de restrição *StuI*. Estudos indicam ainda que, apesar de a sua presença ser necessária para o desenvolvimento de AAG, não é suficiente para causar o fenótipo. (12,13,71,74,76).

Prodi *et al.* revelaram que o gene EDA2R, localizado igualmente no cromossoma X, está fortemente associado ao desenvolvimento de AAG (71).

Por sua vez, a localização dos genes AR e EDA2R no cromossoma X, destaca a importância da contribuição materna na herança genética da AAG. Porém, não explica a contribuição genética do pai (6,12,71). No geral, estudos existentes sugerem que a AAG é uma condição determinada geneticamente. Contudo, são necessários estudos adicionais que clarifiquem o número e a natureza dos genes envolvidos (74).

5.3.1.4. Diagnóstico e diagnóstico diferencial

Regra geral, o diagnóstico de AAG baseia-se na história clínica e familiar do indivíduo em causa, em associação com o exame físico (11,68). O principal objetivo do exame físico consiste em avaliar minuciosamente o couro cabeludo e o cabelo, de forma a confirmar a condição de miniaturização capilar, principalmente nas áreas frontal e vértice, sem características cicatriciais (6,61,65).

Em relação ao sexo feminino, é igualmente importante ter o cuidado de avaliar qualquer disfunção hormonal subjacente (63,67). Considera-se que o diagnóstico de AAG no contexto feminino, é mais difícil de concretizar, do que no caso do sexo masculino, quer pelo facto de os padrões de perda capilar serem geralmente menos óbvios, quer pela frequência com que outras formas de queda capilar — algumas delas fisiológicas — ocorrem (77). Nesse sentido, o recurso a exames adicionais específicos é, muitas vezes, indispensável (68).

No caso do sexo masculino, a história clínica, completa e detalhada, conjugada com o exame físico, é normalmente suficiente para estabelecer ou excluir o diagnóstico. Em casos excepcionais, pode ser necessário recorrer a exames complementares, incluindo testes laboratoriais ou biopsia do couro cabeludo, para confirmar o diagnóstico de AAG (11).

Por outro lado, deverá haver diagnóstico de exclusão para a alopecia areata, para o eflúvio telogénico, e outras situações relacionadas com disfunções da tiroide ou restrição alimentar (deficiência proteica e deficiência de ferro) (2,70).

Por fim, é fundamental que o diagnóstico seja estabelecido atempadamente, de modo a prevenir a evolução da condição clínica.

6. Tratamento da alopecia androgenética

Em primeiro lugar, interessa esclarecer que a AAG não traduz risco de vida e a morbidade é variável, pelo que uma opção razoável passa por não instituir tratamento e permitir que a condição progrida naturalmente (12). De facto, muitos homens aceitam a condição de perda capilar, e não manifestam interesse em procurar tratamento (6,12). Contudo, em muitos outros casos, a progressiva perda de cabelo constitui uma preocupação, e pode inclusive interferir com a capacidade psicossocial e qualidade de vida do indivíduo em causa, o que torna suficientemente importante a intervenção terapêutica (6,11).

Em relação ao tratamento da AAG, as modalidades atualmente disponíveis incluem tratamento farmacológico — tópico e sistémico — e/ou tratamento corretivo/cirúrgico. Podem ser utilizados, ainda, produtos cosméticos de apoio ao tratamento (2,7,13).

Dada a natureza progressiva da AAG, o tratamento adequado deve ser iniciado atempadamente, e mantido por tempo indeterminado (62). Qualquer uma das duas situações específicas, APM e APF, constitui uma condição permanente, pelo que não há uma cura completa (68,19). Nesse sentido, o principal objetivo do tratamento consiste em estabilizar o processo de miniaturização dos folículos e, se possível, revertê-lo (11,13,63). A resposta ao tratamento é, por sua vez, muito variável, podendo depender de fatores individuais (10).

6.1. Abordagem farmacológica convencional

A APM e a APF são consideradas entidades clínicas distintas, pelo que a abordagem farmacológica difere entre homens e mulheres (76).

Os mecanismos fisiopatológicos da AAG não estão totalmente compreendidos, o que, de certo modo, explica o facto de as opções terapêuticas serem limitadas e variarem em termos de eficácia (72). Atualmente, o minoxidil e a finasterida são os únicos fármacos aprovados pela FDA especificamente para o tratamento da AAG (12,13,14).

No geral, a terapêutica farmacológica pode ser categorizada em **dependente de androgénios** e **não dependente de androgénios** (16).

6.1.1. Fármacos dependentes de androgénios

6.1.1.1. Inibidores da enzima 5-alfa-redutase

Nos seres humanos, podem ser encontradas duas isoformas da enzima 5 α -redutase — isoenzima tipo 1 e isoenzima tipo 2 — e cada uma delas é expressa diferencialmente nos diferentes tecidos. A **5 α -redutase tipo 1** está maioritariamente presente no fígado e nas glândulas sebáceas (especialmente da face e do couro cabeludo). Já a **5 α -redutase tipo 2** é predominantemente encontrada nos folículos pilosos do couro cabeludo, na próstata e no trato genito-urinário, e é responsável por cerca de 80% da DHT circulante (12,13,18).

Os inibidores da 5 α -redutase impedem a conversão da testosterona em DHT, limitando, desse modo, a ação da DHT nos folículos pilosos do couro cabeludo. Os principais inibidores da 5 α -redutase são a finasterida e dutasterida (12,18).

A **finasterida** constitui um antagonista competitivo e inibe seletivamente a 5 α -redutase tipo 2. Este fármaco liga-se irreversivelmente a esta enzima, bloqueando a conversão periférica da testosterona em DHT, com subsequente redução — entre 60 a 70% — dos níveis séricos e tecidulares de DHT (6,11-13,19,78).

A finasterida está aprovada no tratamento da APM e a dose preconizada é 1 mg/dia — administrada por via oral (10,12,13,78). A eficácia clínica da finasterida na APM está bem estabelecida e foi demonstrada em vários estudos (17). A resposta ao tratamento deve ser avaliada ao fim de seis meses. Contudo, em alguns homens, os resultados terapêuticos só se tornam evidentes aos doze meses (10,69). Para além disso, se o tratamento for bem-sucedido, o mesmo deve ser mantido a longo prazo, uma vez que, em caso de interrupção, a situação reverte ao estado pré-tratamento em poucos meses (13,17,69).

Em relação aos efeitos adversos associados ao tratamento com finasterida, identificam-se sobretudo efeitos na função sexual, tais como diminuição da libido, disfunção ejaculatória e disfunção erétil (10,11,78). Há também a possibilidade de ocorrer ginecomastia (10,61,78). Estes efeitos indesejáveis são, no entanto, pouco frequentes, e, por norma, diminuem ou desaparecem após a descontinuação do tratamento (11-13,78). Não obstante, comprometem certamente a adesão à terapêutica.

Na tentativa de contornar os efeitos adversos sistêmicos, estudos recentes avaliam a eficácia terapêutica da finasterida por via tópica. Neste momento, são necessários estudos adicionais que confirmem de facto a eficácia e segurança do tratamento tópico (12,17,18).

Por outro lado, a eficácia da finasterida no tratamento da APF não está bem estabelecida. Estudos reportam resultados discordantes quanto à sua eficácia (17,68). Doses mais altas (2,5-5 mg/dia) parecem ser necessárias para produzir melhorias efetivas (7,68). São necessários estudos adicionais, considerando diferentes subgrupos de mulheres com APF, incluindo mulheres jovens e mulheres com ou sem hiperandrogenismo, de modo a que seja possível clarificar quais as mulheres que poderão obter benefício terapêutico e qual a dose eficaz (10,69).

A finasterida é teratogénica e, portanto, está contraindicada durante a gravidez (12,69,78). Esta particularidade obriga à prescrição simultânea de uma terapêutica anticoncepcional rigorosa em mulheres em idade fértil (16-18,69). Por sua vez, indivíduos sob tratamento com finasterida devem evitar doar sangue (10,69).

A **dutasterida** inibe ambas as isoenzimas da 5α -reductase. Este fármaco está aprovado no tratamento da hiperplasia benigna da próstata e tem sido prescrito *off-label* no tratamento da APM (12,16,18,69). A dutasterida pode reduzir os níveis séricos de DHT em mais de 90%. Além disso, o tempo de semivida da dutasterida é muito mais longo do que o da finasterida (4 semanas *versus* 6-8 horas), o que pode ter implicações na persistência de efeitos secundários sistêmicos (6,7,12,17).

Existem ensaios controlados que comparam a eficácia da dutasterida com a da finasterida no tratamento da AAG (16). Estudos clínicos encontram maior eficácia terapêutica para uma dose de 2,5 mg/dia de dutasterida comparativamente a 5 mg/dia de finasterida (12,16). De acordo com uma meta-análise recente, não são encontradas diferenças significativas em termos de eficácia e segurança, perante a toma de 0,5 mg/dia de dutasterida face à toma de 1 mg ou 5 mg de finasterida (16,17). Os efeitos adversos, incluindo impotência, diminuição da libido, sensibilidade e hipertrofia mamárias, e distúrbios ejaculatórios, são mais frequentes na utilização de dutasterida (12,16).

No caso da APF, dados demonstrativos de eficácia são escassos (17). Surge apenas um relato reportando a eficácia de 0,5 mg/dia de dutasterida, durante seis meses, numa situação específica de APF, após resposta terapêutica limitada à finasterida e minoxidil

(10,68). A dutasterida não deve ser utilizada por mulheres em idade fértil sem o uso concomitante de métodos contraceptivos adequados (6,7,16).

6.1.1.2. Inibidores do recetor de androgénios

Os fármacos com **propriedades antiandrogénicas** — nomeadamente, a espironolactona, o acetato de ciproterona e a flutamida — têm sido utilizados no tratamento da APF (10,12,72). Estas substâncias impedem que os androgénios expressem a sua atividade nos locais-alvo; competem particularmente com a DHT, ou com a testosterona, na sua ligação ao recetor de androgénios, inibindo, deste modo, os processos mediados por androgénios. Devido aos efeitos sistémicos adversos associados, o tratamento com antiandrogénios é limitado em indivíduos do sexo masculino (11). Este grupo terapêutico é particularmente utilizado na APF, apesar de serem limitadas as evidências da sua eficácia (16,72).

A **espironolactona** é um antagonista da aldosterona, que inibe a síntese de androgénios e bloqueia competitivamente os recetores intracelulares dos mesmos (10,68). A dose habitual varia entre 50 e 200 mg/dia e o tratamento deve ser mantido durante um período mínimo de seis meses (16,18). Os efeitos adversos são dependentes da dose e incluem hipotensão ortostática, hipercaliemia, fadiga, cefaleias, perda de peso, aumento da frequência urinária, irregularidades menstruais, ginecomastia e sensibilidade mamária (7,16-18,68). Aconselha-se a monitorização periódica dos níveis séricos de potássio e da pressão arterial (6,7,18,68). Este fármaco não deve ser utilizado durante a gravidez (10,68).

Há relatos de que mulheres tratadas com espironolactona, durante pelo menos doze meses, apresentaram melhorias em termos de recrescimento capilar, comparativamente a um grupo não tratado (16,72).

A **flutamida** é um antiandrogénio seletivo não esteróide que inibe a ligação dos androgénios aos recetores específicos (68). Este fármaco está aprovado pela FDA para o tratamento do cancro da próstata, mas tem sido utilizado de forma *off-label* no tratamento de doenças andrógeno-dependentes — tais como a acne, o hirsutismo e a AAG —, em mulheres (79).

A flutamida pode produzir melhorias ao nível do crescimento capilar após seis meses de tratamento, e oferecer estabilidade clínica a longo prazo (16). Um estudo, por sua vez, revela que a administração de 250 mg/dia de flutamida proporcionou apenas uma melhoria modesta ao fim de um ano, em mulheres com hiperandrogenismo (16,17,68,72).

O uso de flutamida é limitado, pelo facto de comportar risco de hepatotoxicidade, o qual, por sua vez, é dependente da dose (6,16,17,72). Outros efeitos adversos incluem: alterações gastrointestinais, diminuição da libido, letargia e alterações do humor (6,10,18,79). Além disso, está contraindicada durante a gravidez e aleitamento (10).

O **acetato de ciproterona** é um antagonista dos recetores de androgénios e bloqueia competitivamente a ligação da DHT; reduz ainda os níveis de testosterona ao suprimir a libertação da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH) (10,68). Os estudos realizados com o objetivo de avaliar a eficácia do acetato de ciproterona na APF, reúnem resultados contraditórios (10,17,68). Uma análise de subgrupos de uma meta-análise sugere que as mulheres com sinais clínicos de hiperandrogenismo respondem melhor ao tratamento, mas a evidência é, por sua vez, limitada (10,69,72). O acetato de ciproterona pode ser utilizado isoladamente (50-100 mg/dia) ou em combinação com etinilestradiol funcionando, nesse caso, como um contraceptivo hormonal (2 mg de acetato de ciproterona e 0,035 mg de etinilestradiol) (16,18,69).

Os efeitos secundários incluem principalmente hepatotoxicidade, aumento de peso, diminuição da libido, sensibilidade mamária, irregularidades menstruais e depressão (16,17,68,69). Além disso, o acetato de ciproterona está absolutamente contraindicado em caso de doença hepática e na gravidez (18).

6.1.2. Fármacos não dependentes de androgénios

Por sua vez, os fármacos não dependentes de androgénios — entre os quais se destacam o minoxidil, o cetoconazol, a melatonina e os análogos da prostaglandina — atuam através de mecanismos independentes da atividade hormonal (16).

O **minoxidil** foi inicialmente concebido como fármaco oral para o tratamento de casos graves e refratários de hipertensão arterial, devido às suas propriedades vasodilatadoras

através da estimulação dos canais de potássio (6,7,16,17,68,72). O seu potencial no contexto do tratamento da alopecia foi então identificado quando se constatou que os doentes que recebiam este fármaco desenvolviam hipertricose generalizada — um efeito secundário que praticamente suprimiu a sua utilização enquanto fármaco anti-hipertensor (6,13,16).

A formulação tópica, mais tarde desenvolvida, é amplamente utilizada no tratamento da AAG — incluindo ambos os sexos —, constituindo atualmente um tratamento de primeira linha (10,60). O minoxidil parece atuar ao nível dos folículos, evoluindo eventualmente a hipertrofia dos mesmos e influenciando a dinâmica do ciclo capilar (prolongando a fase anagénica e encurtando a telogénica) (6,12,60,68). Contudo, o mecanismo pelo qual o minoxidil estimula o crescimento capilar ainda não é totalmente compreendido (6,16,17,68). Pensa-se que seja mediado via abertura de canais de potássio, levando a um aumento da vasodilatação periférica e, por conseguinte, a um aumento do fluxo sanguíneo ao nível da pele. Além disso, considera-se a hipótese de a sua ação estimular o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF). A sobreexpressão do VEGF favorece o processo de angiogénese, verificando-se um aumento da vascularização perifolicular, que, por sua vez, beneficia a proliferação e migração das células da papila dérmica, acelerando assim o crescimento capilar (12,15-18).

Este tratamento tópico encontra-se disponível em solução a 2% e a 5%, e em espuma cutânea a 5% (esta última formulação não é atualmente comercializada em Portugal) (7,10,12,13,15,16,18). Ambas as concentrações demonstram eficácia (10-12,63). No caso da APM, a solução a 5% demonstra eficácia superior comparativamente à solução a 2%, sendo por isso a concentração habitualmente recomendada (7,10,12,16,17). No caso da APF, não foram encontradas diferenças significativas entre soluções a 2% e a 5% em termos de eficácia, não parecendo existir evidência que justifique a utilização da concentração mais elevada (10,16,17,60).

No tratamento da APM, a dose recomendada é 1 mL da solução a 5%, com aplicação duas vezes por dia nas áreas afetadas, pelo que a dose diária total corresponde a 2 mL; na APF, recomenda-se geralmente a aplicação de 1 mL da solução de minoxidil a 2% duas vezes por dia, ou 1 mL da solução a 5% uma vez por dia (utilização *off-label*) (6,7,10,13,16-18,60). Com vista a assegurar a adesão à terapêutica, os doentes devem ser informados de que, no início do tratamento, é comum ocorrer um aumento transitório da queda capilar, que, por sua vez, resulta da sincronização do ciclo de crescimento, verificando-

se a substituição dos folículos que se encontram em fase telogénica — queda telogénica (6,7,10,12,13,16-18,60,68). Por outro lado, os resultados terapêuticos são normalmente avaliados após seis meses de tratamento. Quando eficaz, o tratamento deve ser mantido por tempo indefinido, uma vez que a sua descontinuação quase sempre implica o retorno à condição prévia, por sua vez insatisfatória, dentro de poucos meses (6,13,16-18,68,69).

Algumas reações adversas inerentes à utilização destas formulações incluem dermatite de contacto, irritação do couro cabeludo e prurido local; e podem estar relacionadas com o conteúdo em propilenoglicol (6,11-13,16-18,60,69). Há ainda a possibilidade de ocorrer hipertricose facial, um efeito indesejado reportado mais frequentemente por mulheres (6,10). Pode ser causada por contaminação acidental ou aplicação inadequada, desaparecendo geralmente, alguns meses após a interrupção do tratamento (7,10,69,72). A incidência deste efeito adverso é superior com a utilização da solução a 5% (20,59,68). Os efeitos adversos sistémicos são raros, e resultam da absorção sistémica do minoxidil, destacando-se entre eles, edema, dor torácica, palpitações e alterações na pressão arterial e/ou pulso (60,80). Dado esse potencial, recomenda-se precaução de utilização quando existe doença cardiovascular (10,60).

Apesar de não haver evidência de efeitos teratogénicos em animais, não existem estudos controlados em humanos. Deste modo, o uso tópico de minoxidil deve ser evitado durante a gravidez (10,69). Quando utilizado por via tópica, há uma exposição sistémica mínima e tem sido considerado compatível com a amamentação (16,17).

É importante instruir o doente sobre certos aspetos práticos da aplicação da solução de minoxidil (6). Posto isto, seguidamente estão descritas as instruções de utilização.

- Aplicar a solução diretamente no couro cabeludo (que deverá estar seco), massajando suavemente com a ponta dos dedos (6,10,68);
- Lavar as mãos após a aplicação (10,60);
- Deixar atuar o produto durante 2-4 horas (60);
- À noite, aplicar pelo menos duas horas antes da hora de deitar, de forma a evitar a transferência do produto aplicado para outras regiões corpo, durante o sono (10,60,68).

Por fim, existem ainda estudos que avaliam a eficácia da utilização de minoxidil em conjunto com outras substâncias, como a finasterida e a tretinoína (entre outros) (16,18). Estudos em seres humanos e animais indicam que a combinação, em particular, de

minoxidil em solução e finasterida 1 mg, confere vantagem terapêutica acrescida face à utilização isolada destes ativos (13,60,69). Nesse sentido, infere-se que a combinação de fármacos com diferentes mecanismos de ação, pode aumentar a eficácia (12).

O **cetoconazol** é um agente antifúngico utilizado por via tópica sob a forma de champô a 2%, particularmente eficaz no tratamento da dermatite seborreica (7,10,68). É tido como uma opção terapêutica adicional no que respeita à AAG (12,15). São-lhe reconhecidas propriedades anti-inflamatórias sobre a pele, as quais podem estar relacionadas com o seu efeito sobre a microflora do couro cabeludo, e, ainda, propriedades antiandrogénicas, por inibição local dos processos mediados pela DHT (7,10,12,15).

Tem sido sugerida a utilização de cetoconazol a 2% em conjunto com finasterida oral, demonstrando resultados positivos no tratamento da APM (15-17,68). Na APF, em particular na APF associada a hiperandrogenismo, há igualmente relatos de benefício terapêutico considerando a utilização de cetoconazol (7,16,17). Mais estudos são, no entanto, necessários para esclarecer o seu papel coadjuvante (10).

Os **análogos das prostaglandinas**, como o latanoprost, o travoprost e o bimatoprost, são habitualmente utilizados no tratamento da hipertensão ocular e glaucoma (68). O potencial desta classe de fármacos no contexto do tratamento da alopecia surgiu pelo facto de se verificar um aumento do comprimento das pestanas e das sobrancelhas, aquando da sua utilização no glaucoma (10,12). Um pequeno estudo controlado por placebo avaliou os resultados da utilização de latanoprost em solução a 0,1% na APM, confirmando um aumento significativo da densidade e pigmentação do cabelo após 24 semanas de tratamento (7,10,12,68). Aguardam-se estudos de maior dimensão e duração (10,15).

A **melatonina** parece modular o crescimento e a pigmentação do cabelo. Os resultados da aplicação tópica de uma solução a 0,1%, num estudo controlado, traduziram-se num aumento significativo da proporção de cabelos em fase anagénica, na APM e na APF (6,10).

6.2. Abordagem não farmacológica

Medidas gerais, não farmacológicas, complementares às terapias convencionais, incluem, entre outras, a evicção de hábitos ou situações que possam danificar o cabelo por tração; utilização de cosméticos capilares adequados ao estado do cabelo e couro cabeludo;

moderação no recurso a desfrisantes, colorantes e outros produtos que causem danos ao cabelo; evicção de exposições excessivas ao sol, recomendando-se ainda o uso de chapéu (2).

Produtos cosméticos de apoio ao tratamento desempenham também um papel importante. Particularmente durante o tratamento com minoxidil, recomenda-se a utilização de champô neutro para manter o couro cabeludo no estado fisiologicamente equilibrado (2).

A associação de suplementos alimentares é também bastante comum no tratamento da alopecia. Estes contêm essencialmente extrato de Ginseg, *Serenoa repens*, aminoácidos, vitaminas, minerais, e/ou antioxidantes (2,7,10,68). Contudo, dados científicos que comprovem a sua eficácia na remissão da queda capilar, são escassos (7,68).

Também o laser ou a cirurgia podem ser indicados como alternativas não farmacológicas (12,15,60). O tratamento cirúrgico, por sua vez, consiste no **transplante de cabelo**. Este procedimento envolve a extração de unidades foliculares (cada unidade folicular pode conter um ou mais fios de cabelo) de uma área dadora, que normalmente corresponde à área occipital, e a reinserção das mesmas na área em que se pretende melhorar a densidade capilar (6,7,12,17,81). A técnica cirúrgica de transplante procura tirar partido das diferenças ao nível da sensibilidade aos androgénios; os folículos pilosos da área dadora tendem a ser menos sensíveis à ação dos androgénios e mantêm as suas propriedades, mesmo sendo transplantados para áreas andrógeno-dependentes (12,17,72). A eficácia do tratamento depende sobretudo da técnica utilizada, das características do indivíduo intervencionado, e da idoneidade e experiência profissional da equipa técnica (15-17). Nos casos de sucesso, os resultados tornam-se evidentes cerca de 6 a 8 meses após a intervenção (15,17). Os resultados cirúrgicos são tanto melhores quanto maior a espessura do cabelo transplantado e a densidade da área dadora (6,12,81). Na maior parte dos casos, é necessário mais do que uma sessão cirúrgica durante a vida, em parte devido à progressão contínua da doença (69,72,81). O uso concomitante de agentes farmacológicos, como o minoxidil e/ou a finasterida, pode ser conveniente, no sentido de poder melhorar os resultados cirúrgicos e minimizar/estabilizar a progressão da AAG (12,13,15,60,68,69). As desvantagens do transplante capilar prendem-se essencialmente com a duração da intervenção cirúrgica e o custo associado a cada sessão (12,68). Para além disso, os efeitos adversos comuns incluem edema facial; eritema e crostas no local de cada folículo implantado; e eflúvio telogénico num período pós-cirúrgico (6,17,81).

Por fim, existe também a opção de colocar extensões de cabelo ou perucas (17,60,68). Chapéus, lenços e turbantes também podem ser usados, e, tal como as perucas, têm a vantagem adicional de proteger o couro cabeludo da exposição solar. Recentemente desenvolvida, a micropigmentação capilar constitui igualmente uma alternativa rápida e eficaz para disfarçar a falta de cabelo (17). Ainda, apostar num corte de cabelo ou penteado diferentes pode ser uma opção interessante, na medida em que pode ajudar a criar uma impressão de maior densidade capilar, melhorando o aspeto global (12,17).

7. Nanotecnologia como ferramenta no tratamento da alopecia androgenética

7.1. Enquadramento: conceito de nanotecnologia

A **nanotecnologia** define-se como um ramo da ciência que se dedica ao estudo e projeção de materiais cuja dimensão é da ordem dos nanómetros (27,51). Com recurso a um conjunto de métodos e técnicas avançados, os trabalhos nesta área emergente do conhecimento incluem o planeamento, caracterização, produção e manipulação de materiais estruturados (a uma escala atómica e molecular), que, por sua vez, apresentam propriedades interessantes e inovadoras (27,51,55).

Partículas à escala nanométrica são geralmente descritas como nanopartículas (24,51). A designação de “nanopartículas” atribui-se genericamente a partículas cujo diâmetro é superior a 1 *nm* mas inferior a 1 μm ; as partículas que apresentam um diâmetro igual ou superior a 1 μm são consideradas micropartículas (24,50,82). Há, no entanto, uma corrente que defende o termo “nanopartículas” associado apenas a partículas com dimensões entre 1 e 100 *nm* (24,50). Ainda assim, para os efeitos desta monografia, considera-se a corrente mais generalista. É ainda curioso constatar que um nanómetro, equivalente a 10^{-9} *nm*, é cerca de 100 000 vezes mais pequeno do que a espessura média de um fio de cabelo (51).

A nanotecnologia evoluiu ao longo dos últimos anos, e tem vindo a assumir um papel de relevo em diferentes áreas científicas (55). A medicina é uma das áreas em que mais se tem expandido o conhecimento na área da nanotecnologia, e aplicações com nanomateriais têm-se tornado muito frequentes. Estes revelam-se muito promissores em várias áreas, nomeadamente no estudo e compreensão de processos biológicos, e na criação de meios de diagnóstico avançados e novas estratégias terapêuticas, revolucionando, assim, os conceitos de prevenção e tratamento de muitas doenças, em particular de doenças do foro oncológico (24,25,51,55,83,84). De facto, a única formulação de nanopartículas até agora aprovada para comercialização na área terapêutica, Abraxane[®], visa o tratamento do carcinoma da mama metastático (85). Na área da dermatologia, a nanotecnologia tem igualmente um contributo notável (24). Os sistemas nanotecnológicos com aplicação nesta área clínica são particularmente úteis pelo

facto de promoverem a permeação de fármacos dermatologicamente ativos — contribuindo, conseqüentemente, para um aumento da eficácia terapêutica. Além disso, permitem que o fármaco seja direcionado eficazmente para o seu alvo terapêutico, e contribuem para uma libertação controlada do mesmo, favorecendo a sua retenção no local de ação (23,24,83). Os sistemas nanoparticulados, associado ao seu tamanho consideravelmente pequeno, revelam-se sistemas de veiculação distintos e inovadores, constituindo, por isso, uma ferramenta valiosa em termos de otimização das formulações já existentes para terapia tópica (24,27,51,86).

7.2. Folículo piloso como alvo de nanopartículas

Nos últimos anos, tem sido confirmada a importância de estruturas como os folículos pilosos para a distribuição dérmica e transdérmica de compostos ativos. Os folículos pilosos representam, de facto, uma via prática, versátil e eficaz para contornar a barreira córnea, facilitando a penetração e absorção de substâncias aplicadas topicamente (5,20,24,34). Os orifícios foliculares representam profundas invaginações de tecido epidérmico, que aumentam significativamente a área de superfície da pele disponível para penetração (34,87). Para além do facto de a superfície da epiderme ser mais permeável nestes locais, a estrutura do folículo piloso é altamente vascularizada, aumentando, assim, o seu potencial de entrega de compostos farmacologicamente ativos, e possibilitando o alcance da circulação sistémica para fins terapêuticos (4,25,32,87).

Sistemas transportadores como lipossomas, nanopartículas lipídicas e outras partículas coloidais, penetram preferencialmente através da via transfolicular, quando administrados à superfície da pele (23,24,86). Foi demonstrado que estes mesmos sistemas se acumulam extensivamente nos folículos pilosos, de tal modo que o infundíbulo folicular constitui como que uma espécie de “**reservatório epidérmico**” (5,24,25,34). As partículas podem persistir neste reservatório por um período de vários dias, o que promove uma libertação sustentada e mais eficaz do fármaco encapsulado (23-26).

Uma vez direcionados seletivamente para os folículos pilosos, os nanossistemas permitem a administração de doses efetivas de compostos ativos no interior do ducto folicular. As possíveis aplicações incluem o tratamento de irregularidades do ciclo de crescimento capilar, bem como o tratamento de distúrbios associados aos folículos pilosos

e de várias doenças de pele (27,82). Além disso, os nanotransportadores, por intermédio da estrutura folicular, podem proporcionar uma penetração profunda na pele, bem como melhorar a taxa de permeação da substância veiculada (24,25,86). De facto, os folículos pilosos parecem ser, cada vez mais, um alvo promissor do ponto de vista da utilização de sistemas nanoparticulados (25,26,54). O uso de nanopartículas para a entrega de ativos através dos folículos pilosos, pode abranger, por sua vez, compartimentos específicos ao nível da estrutura do folículo pilossebáceo — como por exemplo, o ducto da glândula sebácea e a região do *bulge* —, ou mesmo populações e elementos celulares específicos (nomeadamente, células de Langerhans, melanócitos e células da matriz) (24,25,34,57).

Posto isto, a figura 7.1 pretende ilustrar as diferentes potencialidades da via transfolicular considerando a penetração seletiva de nanopartículas aplicadas topicamente.

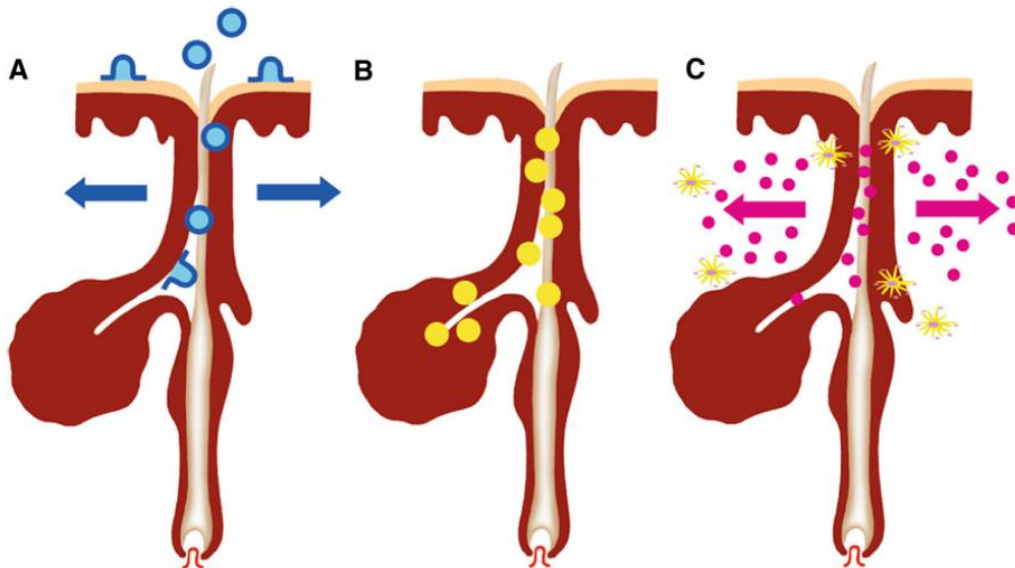


Figura 7.1. Folículo piloso como alvo de nanopartículas. (A) Partículas, desde lipossomas a partículas inorgânicas sólidas e microesferas, quando administradas à superfície da pele, agregam-se na abertura folicular e penetram ao longo do canal folicular. A superfície da epiderme ao nível da região inferior do infundíbulo folicular é altamente permeável, favorecendo, assim, a difusão dos ativos para as camadas viáveis da pele; (B) Acumulação de nanopartículas dentro do folículo pilossebáceo e direcionamento do fármaco encapsulado para estruturas alvo específicas ao nível do folículo; (C) Translocação de nanopartículas para as camadas mais profundas da epiderme viável e da derme, após rutura da barreira cutânea, e interação com populações de células alvo do epitélio folicular e da derme. Adaptado de (24).

A otimização das características das nanopartículas, a utilização de promotores da permeação, bem como a remoção parcial do estrato córneo por processos físico-químicos, são alguns dos métodos que demonstraram aumentar a penetração de nanopartículas através da rede folicular (34).

As características físico-químicas das nanopartículas influenciam o seu comportamento quanto à penetração no canal folicular e à libertação do conteúdo no ambiente lipídico do interior folicular, e, ainda, a sua estabilidade e biodegradabilidade após deposição na pele (34). O tamanho de partícula é um parâmetro importante, pois influencia a profundidade de penetração das nanopartículas no canal folicular (4,8,24,26,34). Vários estudos realizados em modelos de pele humana mostraram que partículas com diâmetro médio no intervalo de 10 a 500 *nm*, se acumulam no infundíbulo folicular, ao contrário das que apresentam um diâmetro entre 0,5 e 5 μm , que permanecem apenas na superfície da abertura folicular — o que prova que a distribuição das partículas depende muito do tamanho das mesmas (4,34). Selecionando tamanhos de partícula específicos, é possível atingir seletivamente estruturas alvo pré-determinadas dentro dos folículos pilosebáceos (8,26,34). Por outro lado, investigações sobre a penetração cutânea de nanopartículas indicam que a entrega de ativos mediada por nanopartículas nas camadas epidérmica e dérmica, enfrenta fortes constrangimentos quando a barreira cutânea se encontra em condições de “perfeita” integridade. Porém, quando esta barreira está comprometida, tal como na pele envelhecida ou lesada, a penetração das partículas estará favorecida (32,34). Também foi demonstrado em muitos estudos que determinados efeitos mecânicos, como a aplicação de massagem, potenciam a penetração de nanopartículas (4,5,25,26,32).

A composição do veículo tem também um papel decisivo no processo de penetração folicular (4,26,86). A lipofilia do sistema transportador influencia a sua capacidade de incorporação do fármaco e o seu comportamento quanto à libertação do conteúdo no ambiente lipídico do canal folicular (34). Assim, veículos lipídicos podem promover a penetração folicular, através de interações com os componentes lipídicos dos folículos pilosos (5,34).

A carga superficial do nanossistema vai também condicionar a interação com as próprias estruturas biológicas e afetar a sua internalização celular (34,86). Com base neste contexto, foi demonstrado que lipossomas anfotéricos e catiónicos penetram mais profundamente nos folículos pilosebáceos, em comparação com lipossomas aniónicos (34,88). De facto, considera-se que a pele atua como uma membrana carregada negativamente, e, de um modo geral, a internalização dos nanossistemas pelas células é facilitada quando a carga destes é contrária à da membrana celular (que normalmente é negativa) (23,88,89). Por outro lado, os sistemas com carga superficial positiva são potencialmente mais tóxicos, justamente porque têm maior potencial de interação (90).

7.3. Tipos de nanossistemas utilizados em formulações antialopecia

Existem, atualmente, diversos estudos que contemplam o desenvolvimento de sistemas nanoparticulados com aplicação em produtos farmacêuticos e cosméticos. No que diz respeito ao tratamento da AAG, existem vários tipos de sistemas nanoparticulados que podem ser usados como sistemas de entrega de fármacos, conferindo às formulações que os incorporam propriedades melhoradas. Estes sistemas, ao nível da sua constituição, podem integrar materiais como polímeros, metais e lípidos, pelo que são categorizados em sistemas poliméricos, sistemas inorgânicos e sistemas lipídicos, respetivamente (25).

De facto, o uso de nanossistemas na administração tópica de fármacos tem ganho cada vez mais relevo, devido ao seu grande potencial para direcionar o fármaco veiculado para um alvo terapêutico específico e promover uma libertação controlada do mesmo (27,91). Conferem também proteção aos fármacos contra processos de biodegradação (proporcionando assim maior estabilidade) (22,91,92). Embora as vantagens sejam muito significativas, existem também alguns aspetos menos positivos, nomeadamente a possível toxicidade. O pequeno tamanho de partícula, assim como a elevada área de superfície, são aspetos que potenciam a reatividade das nanopartículas, maximizando o risco de toxicidade (93). Além disso, uma vez reduzidas à dimensão nano, as partículas adquirem propriedades radicalmente diferentes, em comparação com as encontradas na macroescala, e podem, por isso, apresentar um maior nível de características tóxicas e imprevisíveis (94).

7.3.1. Sistemas poliméricos

As nanopartículas poliméricas são sistemas coloidais constituídos por polímeros naturais ou sintéticos (91). Podem ser classificadas como **nanoesferas** (sistemas do tipo matricial) ou **nanocápsulas** (sistemas do tipo reservatório) (82,95). As nanoesferas são partículas esféricas nas quais o fármaco se encontra homogeneamente disperso na própria matriz polimérica, ou permanece adsorvido à superfície da nanoesfera (27,50,96). As nanocápsulas, por sua vez, são compostas por um núcleo geralmente líquido, tipicamente hidrofóbico, revestido por um invólucro polimérico. Neste caso, o fármaco pode encontrar-se disperso ou dissolvido no núcleo, e/ou adsorvido na parede polimérica (27,51,96). Na figura 7.2 estão representados estes dois tipos de estruturas poliméricas.

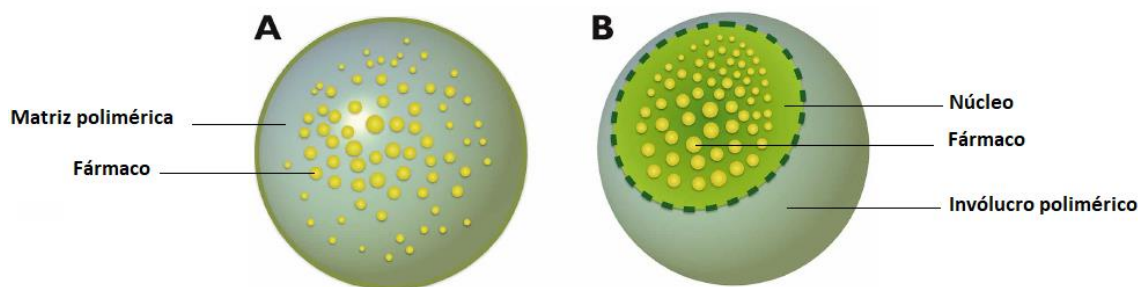


Figura 7.2. Representação esquemática de uma nanoesfera (A) e de uma nanocápsula (B). Adaptado de (95).

Os polímeros, utilizados para a obtenção deste tipo de sistemas, podem ser de origem natural, como o quitosano, alginato, gelatina e albumina, ou de origem sintética, como o ácido polilático (PLA), ácido polilático-co-glicólico (PLGA) e poli(ϵ -caprolactona) (PCL), para mencionar alguns dos mais utilizados. A escolha dos mesmos depende da análise de dois requisitos fundamentais: a biocompatibilidade e biodegradabilidade (22). Considerando os diferentes polímeros de origem natural existentes, o quitosano tem sido o biopolímero mais frequentemente utilizado, sob a forma de nanopartículas, em formulações para aplicação tópica (22). Em termos de desvantagens, os polímeros de origem natural podem apresentar variabilidade entre lotes, o que condiciona a obtenção de partículas com propriedades reprodutíveis. Assim, os polímeros sintéticos assumem uma crescente preponderância no desenvolvimento de sistemas de veiculação de fármacos (22,91,95).

7.3.2. Sistemas lipídicos

De entre os nanotransportadores lipídicos mais utilizados para fins terapêuticos, destacam-se os lipossomas, as nanoemulsões, as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e os transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC).

Dada a fisiologia da unidade pilosebácea, o interior do ducto folicular encontra-se geralmente preenchido por uma quantidade abundante de sebo (correspondendo a uma mistura lipídica complexa) (25,92). Os componentes do sebo podem facilmente interagir com os lípidos dos sistemas, dadas as semelhanças em termos de estrutura e lipofilia

(5,25). Assim, os sistemas lipídicos revelam-se muito promissores na entrega de ativos por via folicular, favorecendo interações com os componentes lipídicos dos folículos pilosos e a acumulação subsequente dentro da estrutura folicular, o que pode levar a uma absorção mais eficiente (20,25,92).

Os **lipossomas** são vesículas esféricas, de dimensões coloidais, formadas por bicamadas lipídicas concêntricas (compostas essencialmente por fosfolípidos e outros componentes semelhantes aos das membranas biológicas), envolvendo um ou vários compartimentos aquosos (50,53,86,92,96,97). Os fosfolípidos, naturais ou sintéticos, são os componentes lipídicos estruturais mais abundantes da bicamada lipídica. Para além dos fosfolípidos, esta camada inclui também outros componentes lipídicos, nomeadamente moléculas de colesterol. O colesterol é utilizado na preparação de lipossomas com o objetivo de reduzir a difusão dos fármacos hidrossolúveis para o exterior das vesículas, aumentando ainda a sua estabilidade em fluidos biológicos (50,97). Assim, o aumento da concentração de colesterol na bicamada fosfolipídica conduz à diminuição da fluidez da membrana, o que resulta em lipossomas mais rígidos (96).

Os fosfolípidos, quando dispersos em meio aquoso, tendem a agregar-se espontaneamente, formando vesículas, cuja estrutura corresponde a uma camada lipídica que encerra um núcleo aquoso — este arranjo relaciona-se com a necessidade de o sistema se tornar termodinamicamente estável (50,96). A natureza anfifílica dos fosfolípidos — trata-se, pois, de moléculas em que coexistem uma porção hidrofílica (polar) e uma fração hidrofóbica (apolar) — condiciona a sua disposição na bicamada lipídica. Assim, os fosfolípidos orientam os seus grupos polares para o meio aquoso, originando compartimentos isolados entre si, e do meio aquoso externo. Em resumo, as caudas hidrofóbicas alinham-se no interior da bicamada, criando um microambiente lipofílico interno (região hidrofóbica), enquanto os grupos polares se orientam para o exterior aquoso (50,97). Deste modo, os lipossomas apresentam um núcleo interno aquoso delimitado por uma ou várias bicamadas fosfolipídicas dispostas concentricamente (97). Na figura 7.3 é possível observar a estrutura de um lipossoma.

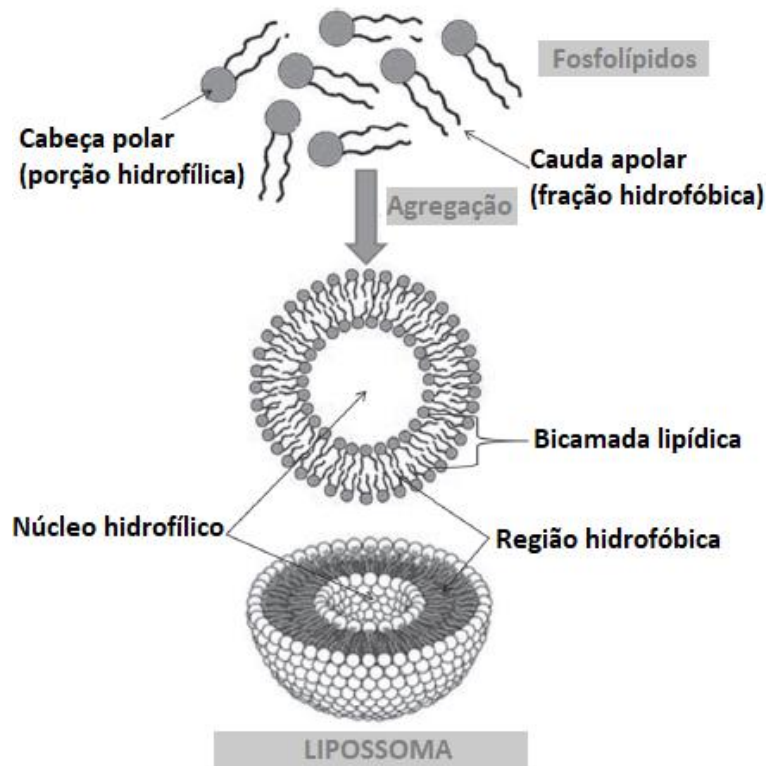


Figura 7.3. Representação esquemática onde são evidenciados os fosfolípidos, a sua organização numa camada dupla (bicamada fosfolipídica) e, por fim, a estrutura tridimensional do lipossoma. Adaptado de (97).

Devido às suas características estruturais, os lipossomas são capazes de incorporar uma grande variedade de compostos, tanto hidrofílicos como hidrofóbicos (23,86). De um modo geral, os compostos hidrofílicos são incorporados no núcleo interno aquoso dos lipossomas; os compostos lipofílicos distribuem-se na região hidrofóbica da bicamada fosfolipídica (86,96,97). Assim, uma das principais vantagens da utilização de lipossomas como sistemas transportadores baseia-se na sua capacidade para incorporar, proteger e transportar fármacos hidrossolúveis ou lipossolúveis (51,53). Para além disso, os lipossomas, sendo preparados a partir de lípidos e fosfolípidos semelhantes aos das membranas celulares, são relativamente não tóxicos, biocompatíveis e biodegradáveis, assumindo ainda elevada afinidade cutânea, promovendo, então, a penetração dos ativos na pele e, mais especificamente, nos folículos pilosos (23,26,51). Contudo, os lipossomas apresentam problemas de estabilidade: estabilidade física e química das próprias vesículas; estabilidade dos fármacos encapsulados; estabilidade no que respeita à libertação antecipada dos fármacos veiculados (50).

Os lipossomas podem ser classificados de acordo com o seu tamanho e número de bicamadas lipídicas (lamelas) (97). Como tal, podem ser divididos em vesículas unilamelares (ULV, do inglês *unilamellar vesicles*), constituídas apenas por uma bicamada lipídica, ou vesículas multilamelares (MLV, do inglês *multilamellar vesicles*), constituídas por várias bicamadas lipídicas dispostas concêntricamente, intercaladas por compartimentos aquosos (97). O tamanho dos lipossomas multilamelares varia normalmente entre 0,5 e 5 μm (82,97). Por sua vez, os lipossomas unilamelares podem ser descritos como vesículas unilamelares pequenas (SUV, do inglês *small unilamellar vesicles*), cujo tamanho pode variar entre 25 e 100 nm , e vesículas unilamelares grandes (LUV, do inglês *large unilamellar vesicles*), com dimensões entre 100 e 1000 nm , aproximadamente (82).

Os **niossomas** surgiram como uma nova geração de lipossomas, correspondendo a estruturas lamelares (vesículas unilamelares ou multilamelares) compostas por tensoativos não iônicos e, na maioria das vezes, também por colesterol e indutores de carga (97,98). À semelhança dos fosfolípidos, os tensoativos, também eles com características anfifílicas, quando dissolvidos ou dispersos numa solução aquosa a uma determinada concentração, formam agregados moleculares em bicamada com a mesma estrutura dos lipossomas (50,97,98). Os tensoativos não iônicos frequentemente utilizados para a produção de niossomas são os Spans[®], os Tweens[®] e os Brijs[®] (97,98,99). Os indutores de carga contribuem para a modificação da carga superficial das vesículas, tendo efeito na estabilização eletrostática (96,97).

Em termos de estrutura e propriedades físicas, os niossomas são semelhantes aos lipossomas, e, por outro lado, são capazes de superar os problemas habitualmente associados a estes, como a instabilidade química dos próprios fosfolípidos (92,97,98). Os fosfolípidos são suscetíveis à degradação oxidativa, apresentam custo elevado e pureza variável (50,92,100). Em geral, os niossomas, para além da possibilidade de produção em larga escala, exibem pureza elevada, maior estabilidade e uma melhor relação custo-benefício, comparativamente aos lipossomas (91,92,96,100). Estas vesículas apresentam ainda como vantagens a elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade, bem como reduzida toxicidade e ausência de imunogenicidade (97,98,100).

O tamanho dos niossomas varia normalmente entre 10 e 1000 nm , e estas estruturas são igualmente capazes de transportar tanto fármacos hidrossolúveis como lipossolúveis,

conferindo também proteção contra a biodegradação (82,97,98). São, de facto, sistemas de transporte versáteis e, selecionando o tamanho e estrutura adequados, podem ser administrados por diferentes vias, incluindo as vias dérmica e transdérmica (97,98,100). Revelam-se sistemas promissores na entrega de ativos a nível tópico, uma vez que podem aumentar o tempo de residência dos fármacos no estrato córneo, assim como na epiderme viável, para além de reduzirem a possibilidade de efeitos sistémicos adversos (53,98,100). Além disso, e à semelhança de outros sistemas lipídicos, verificou-se que os niossomas também apresentam potencial para a entrega de ativos tendo como alvo específico os folículos pilosos (96).

Apesar das vantagens em termos de perfis de produção e segurança, os niossomas podem apresentar alguns problemas relacionados com a instabilidade física, predisposição para agregação, fusão, extravasamento do fármaco encapsulado, ou hidrólise das moléculas de fármaco (92,98).

Na figura 7.4 está representada a estrutura de um niossoma.

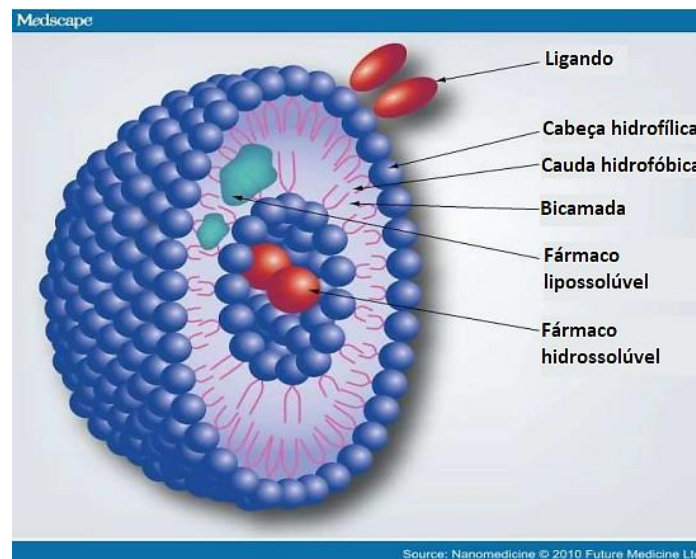


Figura 7.4. Estrutura do niossoma. Adaptado de (99).

Os **etossomas** são outro tipo de sistema de natureza lipídica. Estas estruturas, à semelhança dos lipossomas convencionais, são constituídas por fosfolípidos e água (ou seja, estruturalmente são igualmente constituídas por uma ou várias bicamadas fosfolipídicas que, por sua vez, encerram um núcleo interno aquoso), e, por outro lado,

incluem ainda concentrações relativamente elevadas de etanol (20-45% v/v), o que lhes confere propriedades singulares, especialmente em termos de capacidade de penetração através da pele (23,86,96,100). De facto, o etanol, para além de poder atuar como promotor da permeação de fármacos através da pele, confere ainda elevada elasticidade às vesículas fosfolipídicas, o que irá facilitar a penetração destas estruturas nas camadas superficiais e mais profundas da pele (86,100,101,102).

O etanol pode interagir com a região polar das moléculas lipídicas e, deste modo, a conformação dos lípidos intercelulares pode ser reversivelmente alterada. Consequentemente, a camada lipídica da pele pode apresentar-se numa fase mais fluida, e, por isso, mais permeável (23,102). Assim, o mecanismo de ação dos etossomas, ilustrado na figura 7.5, parece estar relacionado com a sua penetração na pele e alteração das propriedades do estrato córneo através da interação com os lípidos intercelulares, o que, por sua vez, resulta na libertação do fármaco nas camadas profundas da pele. Estes sistemas apresentam assim grande potencial para melhorar as taxas de permeação dérmica e transdérmica dos compostos ativos (23,91,100,102).

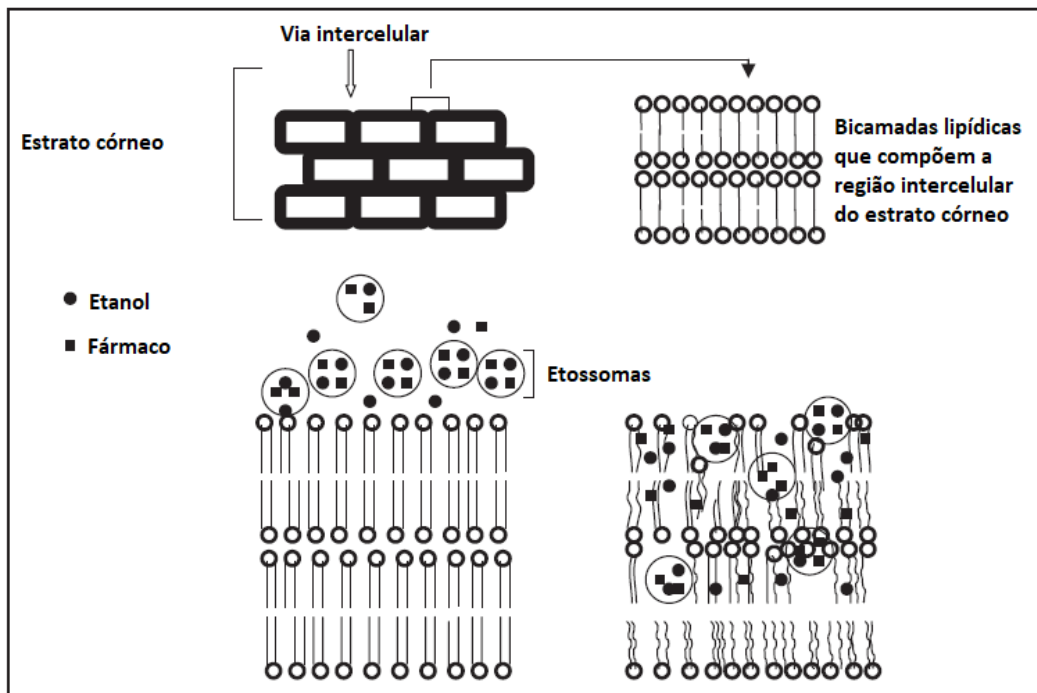


Figura 7.5. Entrega de ativos na pele mediada por etossomas. Adaptado de (96).

Admite-se, portanto, que o etanol exerce um efeito fluidificante quer sobre as bicamadas fosfolípídicas dos etossomas (aumentando a permeabilidade membranar por aumentar a fluidez desta), quer sobre a matriz lipídica intercelular do estrato córneo (86).

Foi também demonstrado que os etossomas exibem elevada eficácia de encapsulação para uma ampla gama de moléculas, essencialmente fármacos lipofílicos, o que, por sua vez, se deve à presença de etanol na sua composição (efeito solubilizante) e à sua morfologia multilamelar (86,96,100,102). A sua eficácia de encapsulação é também superior comparativamente à dos lipossomas convencionais (86). Além disso, em comparação com lipossomas convencionais com a mesma composição de fosfolípidos, os etossomas apresentam um diâmetro significativamente menor, o que mais uma vez se deve ao elevado teor de etanol (86,100).

O tamanho consideravelmente pequeno e a maleabilidade dos etossomas são aspetos que não só favorecem a sua penetração através da pele, como também influenciam a extensão da permeação transdérmica (100).

As **nanoemulsões** são uma classe de emulsões com capacidade para aumentar a taxa de permeação cutânea, prolongar a ação do fármaco sobre a pele e proteger o mesmo da instabilidade ou inativação (25). São normalmente do tipo óleo/água (O/A) e consistem em sistemas de pequenas gotículas lipídicas (cujo diâmetro médio é inferior a 100 nm) dispersas numa fase aquosa (82,96). Apresentam um mínimo de estabilidade, a qual pode ser aumentada através da adição de determinadas substâncias, nomeadamente agentes tensioativos, que, por sua vez, formam um filme ou película em torno de cada nanogotícula da fase dispersa, ou seja, na interface óleo/água. Esta película interfacial formada pelo agente tensioativo previne, pois, a coalescência das gotículas da fase dispersa (50). Além disso, os agentes tensioativos atuam sobre a tensão interfacial dos líquidos a emulsionar, contribuindo, desse modo, para o desenvolvimento de gotículas de menores dimensões, favorecendo ainda a emulsificação. Os agentes tensioativos desempenham assim um papel muito importante no desenvolvimento de emulsões, uma vez que não só facilitam a formação do pretendido sistema disperso, como também promovem a sua estabilização (50).

Conforme está indicado na figura 7.6, num sistema O/A, as moléculas de tensioativo orientam os seus grupos apolares (ou lipofílicos) para o núcleo hidrofóbico formado pela

fase oleosa, e a fração polar destas mesmas moléculas fica em contacto com a fase aquosa circundante (97). Na figura 7.6 é possível observar a representação esquemática de uma nanoemulsão (O/A).

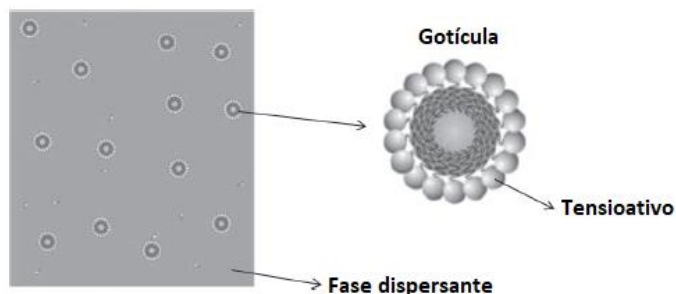


Figura 7.6. Representação esquemática de uma nanoemulsão (O/A). Adaptado de (97).

Os agentes emulsivos mais utilizados são, de facto, os tensioativos, especialmente tensioativos não iónicos. No entanto, na produção de nanoemulsões são frequentemente utilizados fosfolípidos (em proporções específicas) associados a estes agentes emulsivos primários (96). Assim, as nanogotículas são constituídas por um núcleo lipofílico delimitado por uma monocamada fosfolipídica (25). Neste sentido, as nanoemulsões (O/A) constituem bons veículos de fármacos lipofílicos, promovendo a sua penetração na pele (51,87).

O conteúdo em termos de gotículas de dimensões submicroscópicas atribui múltiplas propriedades favoráveis à formulação final, incluindo o aspeto ótico transparente ou translúcido da preparação aplicada, assim como o aprimoramento da textura sensorial (prevê-se uma textura ultraleve e não oleosa) (21,51,97).

As **nanopartículas lipídicas sólidas (SLN)** foram desenvolvidas como alternativa a sistemas transportadores como lipossomas, emulsões e nanopartículas poliméricas (86). São sistemas coloidais cujo tamanho varia normalmente entre 50 e 1000 nm, constituídos por uma matriz lipídica sólida estabilizada por uma solução aquosa de tensioativo(s)/agente(s) emulsivo(s) (53,51,86,100,103). A sua matriz é composta por lípidos (no estado sólido) biodegradáveis e fisiologicamente bem tolerados (minimizando assim o risco toxicológico). Entre os lípidos mais utilizados para a preparação de SLN destacam-se os triglicéridos, os ácidos gordos e as ceras (23,53,96,100,103).

As SLN podem servir como veículo essencialmente a fármacos lipofílicos (23). Por sua vez, a natureza química e a lipossolubilidade do fármaco determinam a sua localização e distribuição ao nível da estrutura da nanopartícula (86).

As SLN são equiparadas a nanoemulsões O/A, substituindo, no entanto, o lípido líquido (óleo) por um lípido sólido à temperatura ambiente e corporal (100,103). Devido ao facto de serem constituídas por uma matriz sólida, estas nanopartículas apresentam um perfil de libertação mais controlável, permitindo assim modular a cinética de libertação dos fármacos incorporados (23,100). As SLN conferem ainda proteção às substâncias lábeis contra a degradação química, estando esta particularidade igualmente relacionada com a sua estrutura compacta (23).

As nanopartículas lipídicas exibem, de facto, várias particularidades que, por sua vez, favorecem a penetração de fármacos através da pele (103). O pequeno tamanho de partícula, assim como a elevada área de superfície, são aspetos que influenciam positivamente a permeação dos ativos na pele (100,103). Além disso, as SLN revelam propriedades adesivas e oclusivas, o que se traduz na formação de um filme que cobre a superfície da pele, levando à redução da perda de água transepidermica e ao aumento do grau de hidratação da pele (23,53,86,100,103). Este efeito de hidratação acarreta alterações ao nível do empacotamento dos corneócitos (verificando-se, na prática, uma redução ao nível do mesmo), que se traduzem num aumento das lacunas intercorneócitos, permitindo assim a penetração dos fármacos em camadas mais profundas da pele (103).

Os **transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC)** constituem a segunda geração de nanopartículas lipídicas, que, por sua vez, foi desenvolvida com o objetivo de colmatar as limitações associadas às SLN, tais como a baixa eficácia de encapsulação e a facilidade de expulsão do fármaco durante o período de armazenamento (86,91,92,103).

Os NLC, embora sejam constituídos por uma matriz lipídica sólida, são preparados a partir de uma combinação de lípidos sólidos e líquidos (óleos) à temperatura ambiente, resultando numa estrutura menos ordenada (23,25,86,100,103). Deste modo, estes sistemas, para além das vantagens anteriormente descritas em relação às SLN, apresentam uma maior capacidade de carga. Por sua vez, a solubilidade do fármaco em óleos é geralmente maior do que em lípidos sólidos, o que também contribui para um aumento da eficácia de encapsulação (86,103).

É importante referir também que as SLN e os NLC podem ser preparados evitando o uso de solventes orgânicos ou quaisquer outros aditivos potencialmente tóxicos (100).

Admite-se que a administração tópica de fármacos mediada por nanopartículas lipídicas constitui uma abordagem promissora em relação ao tratamento de diversas patologias do foro dermatológico (23,86). Estudos demonstram que estes sistemas coloidais são capazes de atingir estruturas específicas da pele (96). Em particular, os folículos pilosos representam uma via de penetração considerável para nanopartículas lipídicas. No interior dos orifícios foliculares existe uma quantidade abundante de sebo, que, por sua vez, consiste numa mistura de lípidos. Por sua vez, as SLN e os NLC são preparados a partir de lípidos semelhantes aos do sebo (5).

Devido ao facto de recentemente ter sido descrita uma interação preferencial entre a matriz lipídica de uma dispersão de partículas lipídicas sólidas e o sebo, a utilização de nanopartículas lipídicas como um sistema transportador de fármacos através dos folículos pilosos pode ser considerada como uma estratégia para a entrega dérmica e transdérmica de compostos ativos. A subsequente libertação do fármaco devido à erosão ou dissolução da matriz lipídica no sebo, foi observada e, conseqüentemente, pode contribuir para a permeação folicular do composto ativo (5).

Na figura 7.7 estão representados os principais sistemas lipídicos. Esta mesma figura apresenta de uma forma muito objetiva as características estruturais dos respetivos sistemas.

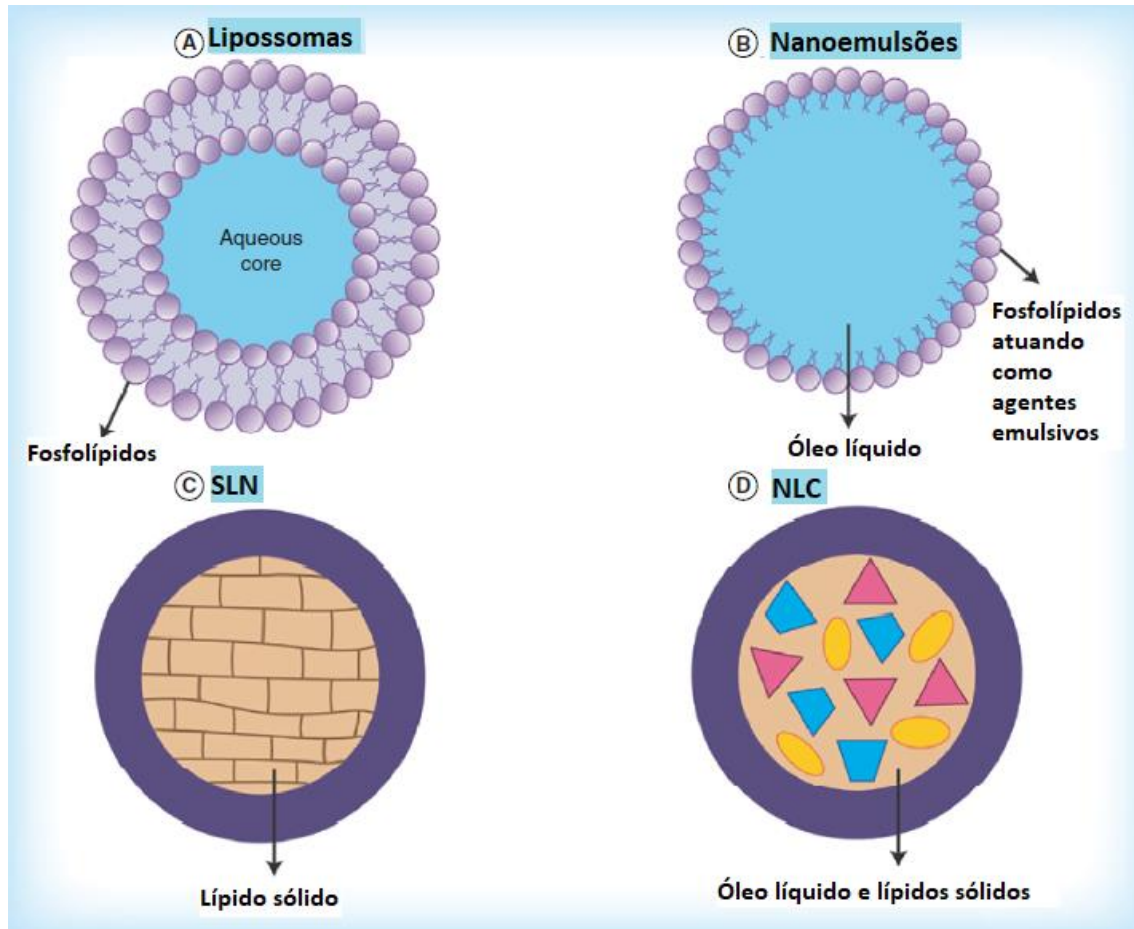


Figura 7.7. Tipos de estruturas lipídicas: (A) Lipossomas; (B) Nanoemulsões; (C) Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN); (D) Transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC). Adaptado de (25).

7.3.3. Sistemas inorgânicos

As nanopartículas metálicas são sistemas inorgânicos com uma composição rígida devido à incorporação de materiais como metais (por exemplo, ouro, prata, zinco, titânio) ou óxidos de metal (por exemplo, óxido de ferro), sendo conhecidas pelos seus possíveis efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios, cicatrizantes e antioxidantes (24,91). Estas estruturas coloidais podem assumir diversas formas (24).

A encapsulação de fármacos no núcleo das nanopartículas, ou a sua adsorção à superfície do sistema, permite o transporte e a libertação de várias substâncias, evitando ainda o metabolismo e a biodegradação dos ativos (24,91).

7.4. Formulações antialopecia com base na nanotecnologia

Nesta secção serão abordados estudos que avaliam as potencialidades das formulações tópicas, que incorporam sistemas nanotecnológicos de libertação de fármacos, no âmbito do tratamento da AAG.

Grande parte dos compostos ativos incorporados em formulações antialopecia dos estudos que se seguem, já foram referidos anteriormente, pois fazem parte integrante do tratamento convencional desta patologia. Por sua vez, a disponibilização de formulações baseadas em nanotecnologia tem em vista a otimização dos efeitos terapêuticos de alguns destes fármacos. Esta otimização assenta em dois pontos principais: a segurança (reações adversas) e a eficácia. Por outro lado, o recurso à nanotecnologia permitiu ainda a introdução de outras substâncias ativas.

7.4.1. Formulações contendo sistemas poliméricos

Recentemente, um grupo de investigadores portugueses desenvolveu um estudo relativo ao uso de nanopartículas poliméricas de PLGA contendo finasterida para o tratamento da AAG. As nanopartículas poliméricas, que têm um tamanho de aproximadamente 300 nm, e um potencial zeta próximo da neutralidade (cerca de -6 mV), foram posteriormente incorporadas em três formas farmacêuticas de aplicação tópica distintas: loção, champô e solução. A eficácia de encapsulação foi de aproximadamente 80%, bastante satisfatória, o que se deve certamente à elevada lipofilia da finasterida, que tem assim grande afinidade pelo PLGA. Os ensaios *in vitro* demonstraram que as nanopartículas proporcionam a libertação total do fármaco em aproximadamente 3 horas. Avaliaram-se ainda o valor de pH, a viscosidade e as características organoléticas das formulações desenvolvidas. Os valores de pH obtidos para as três formulações foram compatíveis com a pele humana, que normalmente apresenta um pH entre 4,5 e 6,5, e a viscosidade foi em todos os casos adequada. Foi realizado um estudo de permeação cutânea *in vitro*, cujos resultados se apresentam na figura 7.8. Verificou-se uma maior taxa de difusão da finasterida com o champô, sendo a menor observada com a solução. Estes resultados podem ser explicados pelo facto de cada formulação apresentar características muito particulares (incluindo o elevado teor de água e a baixa viscosidade da loção e da solução aplicadas), que, por sua vez, influenciam a capacidade de permeação das nanopartículas em estudo (104).

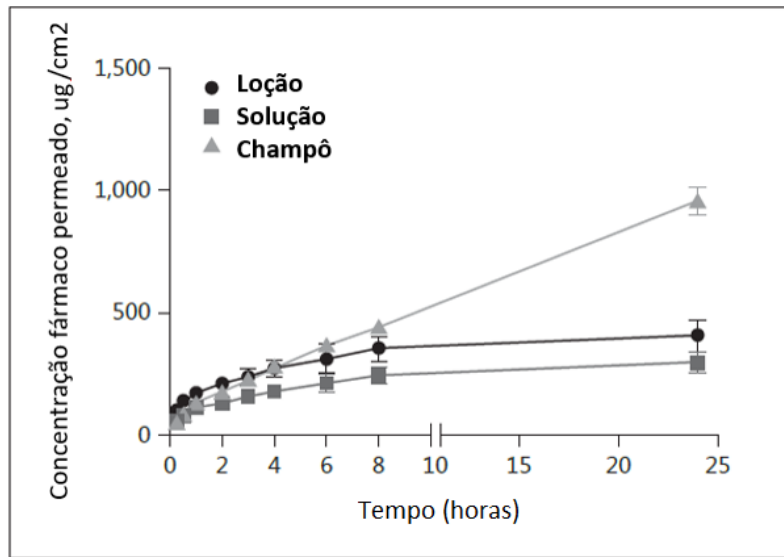


Figura 7.8. Perfis de permeação da finasterida a partir dos diferentes veículos: loção, solução e champô. Adaptado de (104).

Foram ainda realizados testes de segurança em voluntários humanos, com foco na avaliação do efeito dos excipientes envolvidos (PLGA, surfactantes, solventes). Todos os excipientes usados provaram ser seguros, não tendo causado eritema ou outra reação adversa. No futuro, devem ser realizados estudos que permitam avaliar a segurança e eficácia das formulações nanoestruturadas anteriores com incorporação de finasterida. Por fim, o uso deste tipo de nanossistemas como sistemas transportadores de finasterida poderá constituir uma estratégia para que seja possível obter uma penetração favorável do composto ativo, com a mesma eficácia clínica associada à sua administração por via oral, mas com efeitos adversos reduzidos (104).

Um outro estudo reportou a utilização de nanopartículas poliméricas de etilcelulose contendo UK-157,147, um ativo lipofílico (105). Este composto possui um efeito de abertura de canais de potássio, e foi desenvolvido pela *Pfizer* especialmente para o tratamento da alopecia (25,105). A sua estrutura química está representada na figura 7.9.

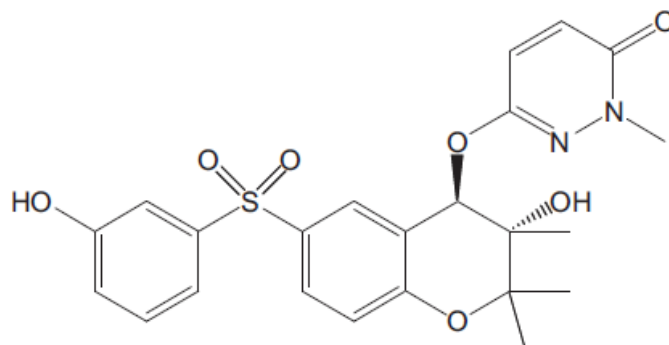


Figura 7.9. Estrutura química da molécula de UK-157,147. Adaptado de (105).

As nanopartículas foram estabilizadas através da adição de uma quantidade de glicocolato de sódio, observando-se que concentrações elevadas deste surfactante resultaram em nanopartículas de menores dimensões. A etilcelulose foi selecionada como matriz em virtude da sua capacidade para solubilizar uma grande variedade de fármacos hidrofóbicos. As nanopartículas foram caracterizadas e o seu desempenho foi avaliado com base em 1) um teste *ex vivo* para avaliar a distribuição do fármaco na pele (sendo utilizado tecido de orelha de coelho); 2) um teste *in vivo* para avaliar a entrega do composto ativo ao nível das glândulas sebáceas; e 3) um teste *in vivo* para avaliar a eficácia em termos de crescimento capilar (sendo, no caso deste último teste, utilizados como modelo *in vivo* ratinhos C3H). Por sua vez, os estudos *in vitro* permitiram avaliar qualitativamente a penetração das nanopartículas nos folículos pilosos. Conforme documentado na figura 7.10, as nanopartículas não penetram além da superfície do estrato córneo, pois pouca ou nenhuma fluorescência foi observada em regiões mais profundas da pele, podendo provavelmente penetrar ao longo do folículo piloso. Estes resultados sugerem que as nanopartículas em estudo apresentam potencial para a entrega de ativos nos folículos pilosos, através da via transfolicular, limitando ainda a difusão dos ativos para as camadas mais profundas da epiderme viável e da derme, assim como a sua absorção para a circulação sistêmica, prevenindo, deste modo, efeitos secundários sistêmicos, o que origina um aumento do índice terapêutico (105).

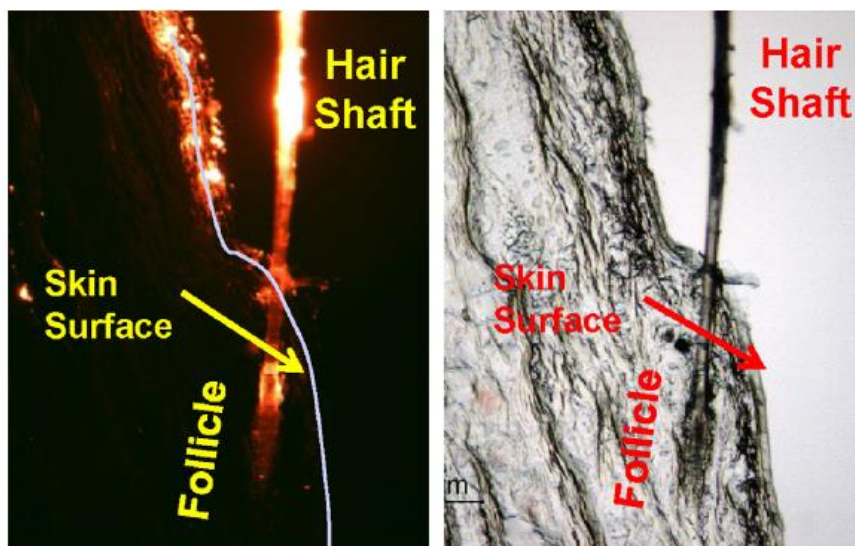


Figura 7.10. Imagens de microscopia de fluorescência (esquerda) e de campo claro (direita) do tecido de orelha de coelho após incubação com nanopartículas com marcador de fluorescência incorporado. Adaptado de (105).

Ainda neste trabalho, um ensaio *in vivo*, no qual uma suspensão aquosa de nanopartículas foi aplicada na orelha de ratinho, avaliou a entrega de UK-157,147 ao nível das glândulas sebáceas. Verificou-se que a concentração de fármaco nestas estruturas foi comparável à obtida com uma solução de base alcoólica (105).

Por outro lado, as nanopartículas poliméricas contendo UK-157,147 foram testadas em ratinhos C3H, com o objetivo de avaliar os efeitos em termos de promoção do crescimento capilar. Com base na figura 7.11, verifica-se que a suspensão de nanopartículas com UK-157,147 incorporado, apresenta eficácia comparável à formulação à base de etanol e propilenoglicol com UK-157,147 a 1% (usada como controlo positivo). Verifica-se ainda que o início do crescimento capilar ocorreu em fases semelhantes para as duas formulações. As soluções controlo (sem substância ativa) não estimularam o crescimento capilar (105).

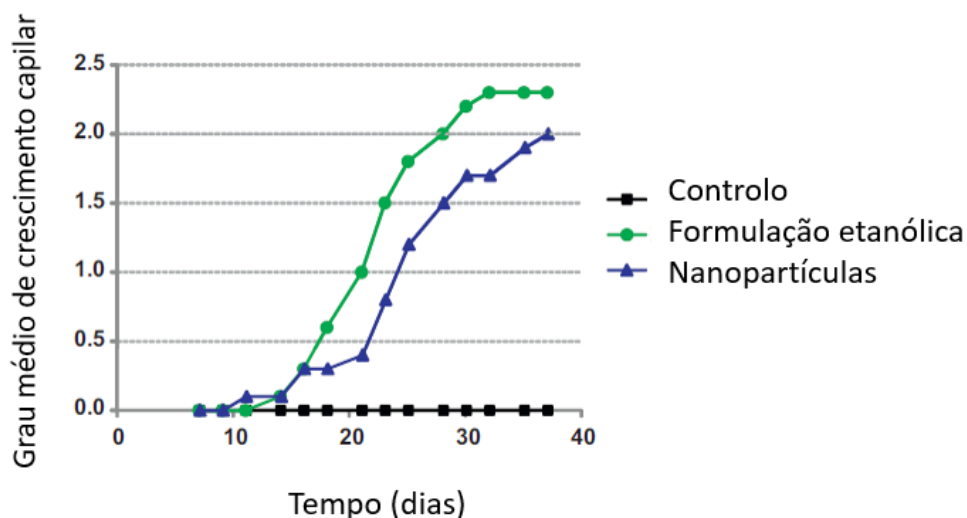


Figura 7.11. Efeito do UK-157,147 em termos de promoção do crescimento capilar, com base numa suspensão de nanopartículas, em comparação com a aplicação de uma formulação etanólica da mesma substância. Uma solução aquosa desprovida de fármaco foi usada como controlo. Adaptado de (105).

Na figura 7.12 estão representadas imagens que permitem avaliar a evolução do crescimento capilar em ratinhos, nos primeiros 25 dias do ensaio. Aproximadamente 50% dos ratinhos tratados com a suspensão de nanopartículas com incorporação de UK-157,147 a 1%, apresentou crescimento visível de pelos na região dorsal. Por outro lado, dos ratinhos tratados com a formulação etanólica (UK-157,147 a 1%), 70% apresentou resultados em termos de crescimento capilar. No final do ensaio (dia 35), observaram-se resultados em termos de crescimento capilar, em 70% dos ratinhos tratados com a suspensão de nanopartículas, e em 80% dos ratinhos tratados com a formulação etanólica, a qual não inclui qualquer tipo de nanoestruturas. Já os ratinhos submetidos às soluções controlo não apresentaram crescimento de pelos nas áreas tratadas. Importa ainda referir que as formulações baseadas em nanopartículas não causaram irritação cutânea e foram bem toleradas (105).

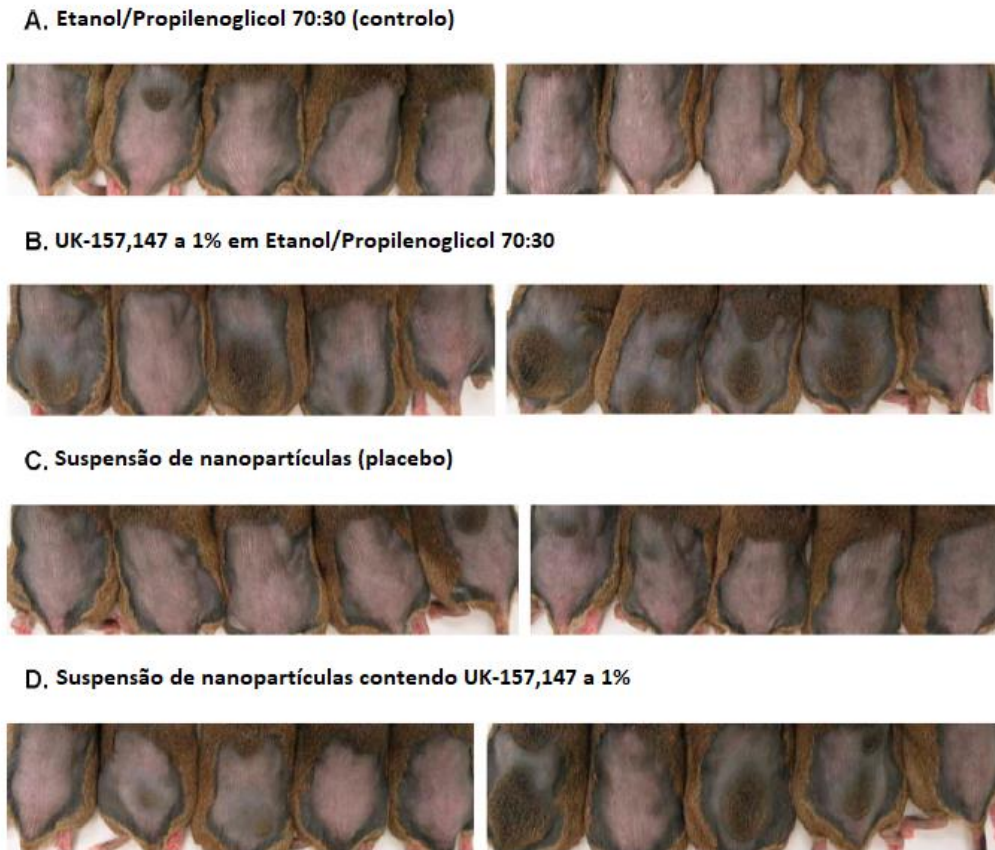


Figura 7.12. Fotografias do estudo realizado em ratinhos para avaliar os efeitos em termos de promoção do crescimento capilar: (A) controle; (B) formulação etanólica com UK-157,147 a 1%; (C) formulação placebo com nanopartículas; (D) suspensão de nanopartículas com incorporação de UK-157,147 a 1%. Adaptado de (105).

Com base nos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que a produção de formulações de nanopartículas poliméricas poderá constituir uma alternativa válida, principalmente para fármacos que apresentam um índice terapêutico desfavorável devido à toxicidade sistêmica associada. Admite-se ainda que as nanopartículas podem representar uma abordagem promissora no que diz respeito ao tratamento da AAG, uma vez que promovem o direcionamento seletivo de compostos lipofílicos para os folículos pilosos (105).

Um outro estudo propôs a encapsulação de hinoquitíol em nanoesferas de PLGA (cerca de 200 nm), como estratégia para promover a sua permeação através dos folículos pilosos (106). O hinoquitíol é conhecido por apresentar propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias, mas está também reportado o seu poder de inibição da apoptose dos

queratinócitos. Posto isto, recentemente tem sido utilizado como agente tópico para a promoção do crescimento capilar (106,107).

Foi realizado um ensaio de permeação *in vitro*, utilizando amostras de couro cabeludo humano, com o objetivo de avaliar qual a influência das nanoesferas na permeação do ativo. As nanoesferas de PLGA contendo hinoquitiol foram testadas em comparação com a aplicação de uma solução controlo do mesmo composto ativo, sem qualquer tipo de nanoestrutura. Na figura 7.13 estão representadas imagens de microscopia de fluorescência do corte transversal das biopsias do couro cabeludo humano, após incubação com as preparações em análise referentes ao hinoquitiol. Com base na análise da intensidade de fluorescência deste ativo, verifica-se que as nanoesferas promovem a permeação de hinoquitiol nos folículos pilosos, podendo ainda proporcionar concentrações elevadas deste ativo em regiões profundas do folículo. Comparando a área total abrangida pelo perfil de intensidade de fluorescência, concluiu-se que a utilização de nanoesferas conduziu a um maior efeito em termos de promoção da permeação folicular, em comparação com a aplicação do ativo não formulado (106).

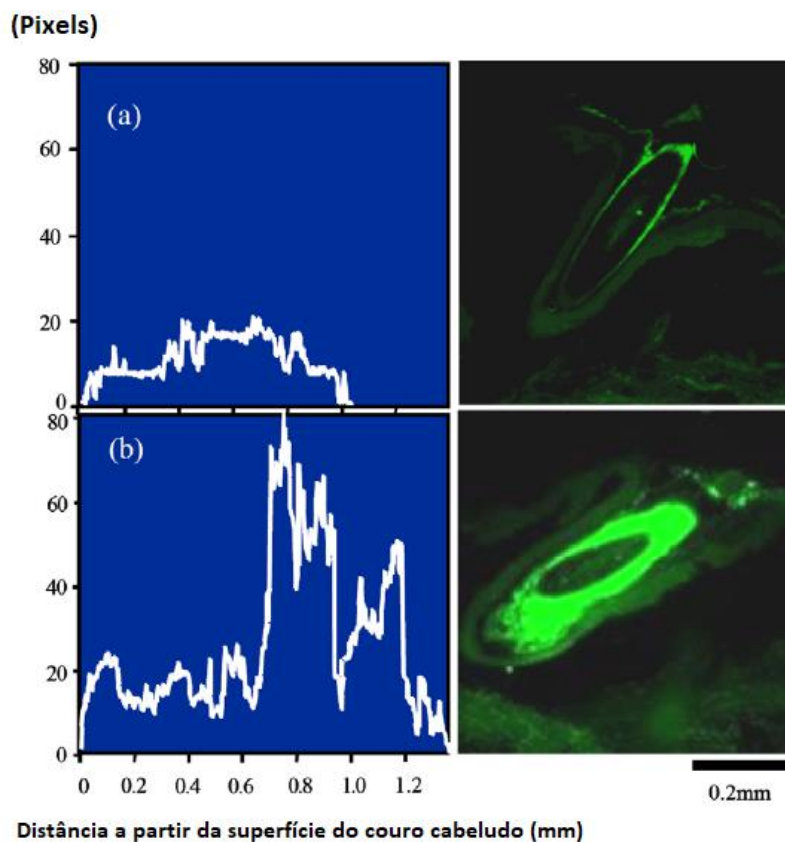


Figura 7.13. Imagens de microscopia de fluorescência da secção transversal de biopsias de couro cabeludo humano, após aplicação (a) da solução de hinoquitiol; e (b) da dispersão líquida de nanoesferas de PLGA contendo hinoquitiol. Adaptado de (106).

Por outro lado, as nanoesferas de PLGA com hinoquitiol incorporado foram testadas em ratinhos C3H (teste *in vivo*), com o objetivo de avaliar os efeitos em termos de promoção do crescimento capilar. Verificou-se que a administração tópica de hinoquitiol, mediada por nanoesferas de PLGA, desencadeou uma atividade positiva em termos de crescimento capilar, induzindo eficazmente a transição dos folículos em fase telogénica para fase anagénica, com melhores resultados em comparação com a aplicação da solução hidroalcoólica da mesma substância (106).

Existe ainda um estudo que consistiu no desenvolvimento e caracterização de formulações de nanopartículas de quitosano com minoxidil (108). O quitosano é um polímero natural (polissacárido) derivado da quitina, o principal constituinte do exoesqueleto dos crustáceos (91,109). Este polímero é descrito como sendo um material biocompatível e biodegradável (91,108). Além disso, destaca-se o facto de possuir propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes, e, ainda, propriedades de bioadesão (22,91). O quitosano pode atuar como coadjuvante em formulações para aplicação tópica, sendo comumente usado como promotor da permeação (22,108). Foi também relatado que, dadas as suas propriedades de bioadesão, o quitosano pode aumentar a retenção do sistema transportador/fármaco no local de ação (109). Por todas as razões anteriormente referidas, a encapsulação de ativos antialopecia em sistemas nanoparticulados à base de quitosano parece ser uma alternativa muito promissora e de grande potencial no tratamento da AAG (91,108).

No que diz respeito ao estudo em questão, numa primeira fase procedeu-se à caracterização de preparações de nanopartículas de quitosano com minoxidil, variando a proporção de polímero em relação ao fármaco. Verificou-se que um aumento da proporção de quitosano em relação ao minoxidil, resultou num aumento da eficácia de encapsulação. No geral, as nanopartículas apresentaram forma esférica, valores de potencial zeta acima de +30 mV, o que indica estabilidade, e um diâmetro médio de aproximadamente 235 nm. Não foram observadas diferenças significativas em relação ao tamanho médio de partícula e índice de polidispersão entre os diferentes grupos. A eficácia de encapsulação atingiu os 73%. Como se pode verificar pela figura 7.14, as nanopartículas proporcionam uma libertação controlada do minoxidil ao longo do tempo, por comparação com uma solução aquosa do fármaco (controlo). De facto, ao fim de 6

horas as nanopartículas libertaram menos de 20%, que comparam com quase 60% detetado a partir da solução (108).

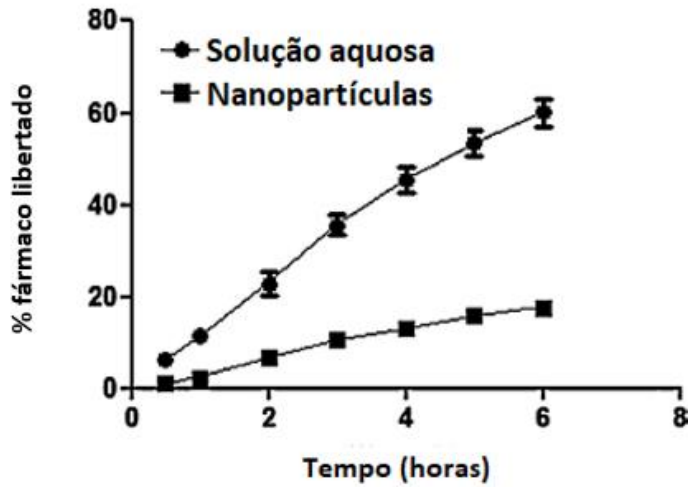


Figura 7.14. Perfil de libertação do minoxidil incorporado em nanopartículas poliméricas, em comparação com uma solução aquosa do fármaco. Adaptado de (108).

Testes *ex vivo*, realizados com pele de orelha de porco, demonstraram que, com poucas exceções, a retenção de minoxidil nos folículos pilosos foi significativamente maior quando se utilizaram as nanopartículas de quitosano, em comparação com a solução controlo (figura 7.15). Os resultados demonstraram que, com as nanopartículas de quitosano, é possível manter concentrações relativamente elevadas de minoxidil dentro da estrutura folicular, durante, pelo menos, 12 horas, sendo por isso expectável uma menor frequência de administração e, com isso, um aumento da comodidade do tratamento. Estes resultados corroboram, então, a hipótese de que as nanopartículas de quitosano podem promover o direcionamento e entrega de minoxidil ao nível do folículo piloso, que corresponde ao local de ação, a fim de garantir um efeito terapêutico mais eficaz (108).

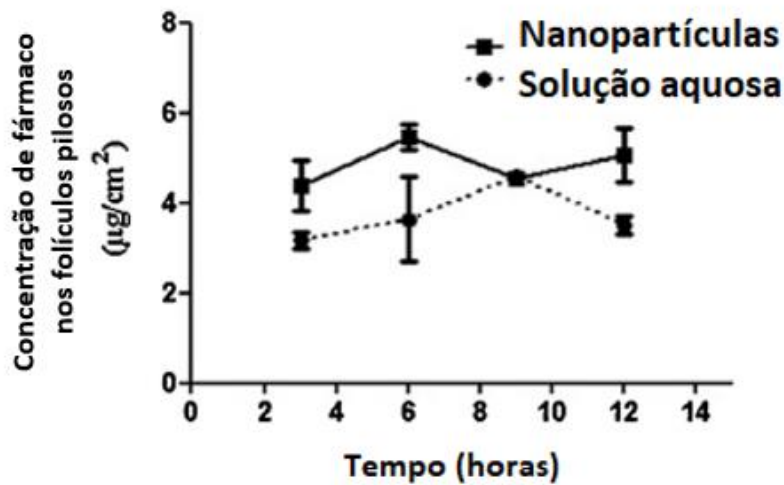


Figura 7.15. Concentração de fármaco nos folículos pilosos (em momentos pontuais analisados) a partir da formulação de nanopartículas de quitosano com minoxidil, em comparação com uma solução aquosa do fármaco (controle). Adaptado de (108).

7.4.2. Formulações contendo sistemas vesiculares lipídicos

Os sistemas vesiculares lipídicos, entre os quais se destacam os lipossomas, niossomas e etossomas, também têm sido estudados tendo em vista a sua utilização como sistemas de entrega de fármacos no tratamento da alopecia (92).

Existe um estudo que descreve o uso de lipossomas multilamelares contendo dutasterida para o tratamento tópico da AAG (110). A dutasterida atua através da inibição da enzima 5α -redutase, diminuindo os níveis séricos de DHT em cerca de 90%. A terapêutica oral, apesar de ser eficaz no controlo das alterações que a AAG determina, provoca efeitos adversos indesejados. Assim sendo, a terapêutica farmacológica tópica apresenta-se como uma alternativa para contornar os efeitos adversos decorrentes da ação sistémica do fármaco. O objetivo da incorporação da dutasterida em formulações nanoestruturadas prende-se sobretudo com o direcionamento do fármaco para o folículo piloso, que corresponde ao local de ação (109,110).

Os lipossomas foram preparados a partir de fosfatidilcolina da gema de ovo (EPC) e colesterol. Para uma razão molar de 2:1 de EPC/colesterol, registou-se uma elevada encapsulação de dutasterida (94,6%) em vesículas com tamanho médio de aproximadamente $1,82 \mu m$. Os lipossomas foram estabilizados por adição de dicetilfosfato, que é um indutor de carga, tendo-se verificado que uma concentração

elevada do mesmo não induz variações na eficácia de encapsulação do ativo, mas conduz a uma diminuição do tamanho das vesículas, em comparação com as vesículas eletricamente neutras (vesículas obtidas apenas com EPC). Este efeito pode ser atribuído a repulsões eletrostáticas nas bicamadas lipídicas durante o processo de vesiculação, que resultam num aumento da curvatura das vesículas, com conseqüente diminuição do seu tamanho (110).

Estudos de permeação em pele de ratinho, cujos resultados se apresentam na figura 7.16, indicaram que as formulações lipossomais de dutasterida apresentaram maior capacidade de permeação, quando comparadas com uma solução hidroalcoólica e um gel de metilcelulose que continham quantidade equivalente de ativo (110).

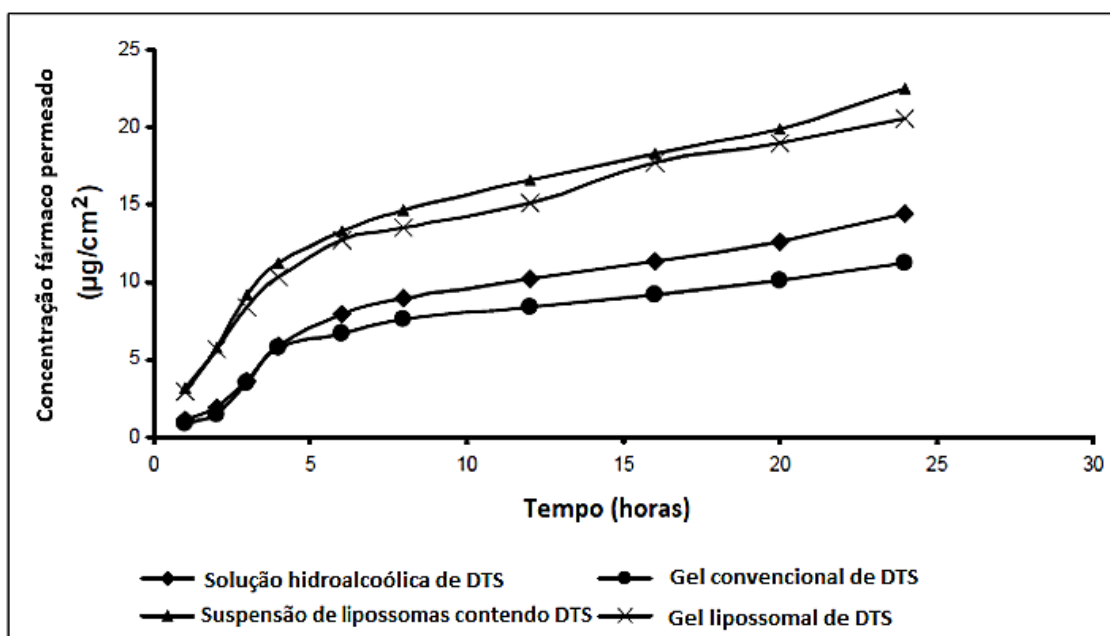


Figura 7.16. Perfis de permeação da dutasterida a partir de diferentes sistemas, lipossomais e não lipossomais, através da pele de ratinho. Adaptado de (110).

De facto, ao fim de 24 horas a percentagem de permeação do fármaco foi de 45,3% e 41,4% a partir da suspensão de lipossomas e do gel lipossomal, respetivamente; tendo-se verificado valores inferiores a partir da solução hidroalcoólica e do gel convencional (29,1% e 22,6%, respetivamente). Para além disso, a incorporação dos lipossomas multilamelares (contendo dutasterida) num veículo secundário (hidrogel de metilcelulose (2% m/m)) não afetou significativamente as características de permeação da formulação

lipossomal. Por sua vez, a interação favorável das moléculas de fosfolípidos da membrana do lipossoma com as células da pele, pode desencadear um aumento da fluidez da barreira cutânea, o que explica, então, o aumento da permeação da dutasterida. Verificou-se também que a quantidade de fármaco (%) retido nas amostras de pele foi consideravelmente maior no caso das formulações lipossomais, isto é, suspensão de lipossomas (35,3%) e gel lipossomal (37,8%), do que com as formulações não lipossomais, isto é, solução hidroalcoólica (3,4%) e gel convencional (5,4%) (110).

Devido às suas propriedades estruturais, os niossomas têm-se mostrado muito interessantes para serem usados como sistemas de veiculação de fármacos no tratamento de distúrbios dermatológicos, entre os quais se destaca a AAG (98,100). Neste contexto, um estudo propôs a encapsulação de minoxidil em niossomas compostos por Span[®] 20, Span[®] 60 ou Tween[®] 20, juntamente com colesterol e dicetilfosfato. A utilização de Span[®] 60 permitiu maior encapsulação de minoxidil. A concentração de colesterol mostrou afetar diretamente a eficácia de encapsulação e o tamanho das vesículas; um aumento da concentração de colesterol levou a um aumento de ambos os parâmetros (111).

Os niossomas compostos por Span[®] 60 foram posteriormente incorporados num gel à base de Carbopol[®] e testados *ex vivo* em pele de rato, tendo-se verificado uma deposição de minoxidil na pele significativamente mais elevada do que a proporcionada por um gel convencional com a mesma quantidade de fármaco. Para além disso, verificou-se também que um aumento da quantidade de colesterol incluída na composição das vesículas, produz um aumento da retenção de minoxidil na pele (111).

Em suma, a encapsulação de minoxidil em niossomas pode ser uma estratégia interessante, sendo expectável um aumento da biodisponibilidade deste composto e, finalmente, um aumento da eficácia terapêutica.

O minoxidil foi também encapsulado em etossomas preparados a partir de fosfatidilcolina (5%), etanol (30%) e água. Obtiveram-se etossomas multilamelares com aproximadamente 195 nm e a eficácia de encapsulação foi de 90%. Os resultados de permeação sugeriram que os etossomas promovem a entrega de minoxidil a nível tópico,

permitindo alcançar estruturas mais profundas da pele, em particular os folículos pilosebáceos, favorecendo, por fim, o crescimento capilar (112).

7.4.3. Nanoemulsões para uso tópico

As nanoemulsões têm emergido como potenciais estratégias de formulação. A sua natureza lipofílica e o pequeno tamanho de gotícula associado promovem a penetração nas unidades pilosebáceas, proporcionando uma maior eficácia dos ativos incorporados (87,113).

Um estudo recente propôs a incorporação de minoxidil em nanoemulsões O/A para aplicação tópica, as quais se compõem de ácido oleico ou eucaliptol como fase oleosa, e Volpo-N10 e etanol como tensioativo e co-tensioativo, respetivamente. Os componentes de fase oleosa utilizados — ácido oleico e eucaliptol — atuam como promotores da permeação cutânea. O ingrediente ativo (minoxidil 2% (m/m)) foi incorporado nas nanoemulsões desenvolvidas e também nas soluções controlo. Estas últimas foram compostas por água e PEG-6000, constituindo veículos inertes que não alteram as propriedades intrínsecas da pele, e, conseqüentemente, não originam o aumento da penetração (87).

O objetivo do estudo consistiu em avaliar a libertação e a permeação do fármaco a partir das nanoemulsões O/A contendo promotores da permeação (ácido oleico ou eucaliptol). Verificou-se um aumento significativo da permeação do minoxidil através da pele, comparativamente às soluções controlo. Os resultados revelaram que as nanoemulsões à base de eucaliptol proporcionaram maior efeito no aumento da solubilidade do minoxidil no estrato córneo (em comparação com as soluções controlo e com as nanoemulsões à base de ácido oleico), promovendo ainda a retenção do fármaco no estrato córneo e nas camadas mais profundas da pele. Por outro lado, verificou-se que as nanoemulsões à base de ácido oleico penetram preferencialmente através da via transfolicular, promovendo efetivamente a retenção do minoxidil nos folículos pilosos. Esta penetração folicular aumentada está provavelmente associada à solubilidade do minoxidil nas nanoemulsões concebidas e à compatibilidade destas mesmas formulações com os constituintes lipídicos do sebo (por sua vez presente nos folículos). Estes resultados sugeriram que o mecanismo de transporte do fármaco através da pele depende da composição e propriedades físicas, tanto da formulação como do próprio soluto envolvido. O efeito de promoção da

acumulação de minoxidil nos folículos pilosos por parte das formulações desenvolvidas neste estudo, sugere que as nanoemulsões podem constituir veículos adequados para mediar a entrega de agentes terapêuticos ao nível das unidades pilossebáceas. São, no entanto, necessários estudos adicionais que avaliem o potencial de efeitos adversos destas formulações nanoestruturadas contendo promotores da permeação, desenvolvidas para o tratamento da AAG (87).

7.4.4. Formulações contendo nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC)

As nanopartículas de base lipídica (SLN e NLC) são sistemas coloidais relativamente acessíveis em termos de produção. Têm emergido como potenciais sistemas de entrega de minoxidil, exibindo a possibilidade de libertação controlada do fármaco, direcionando-o para locais de ação alvo (91).

Num estudo realizado com suspensões de SLN contendo minoxidil a 5%, foram avaliados os efeitos destas formulações ao nível da penetração na pele e potenciais efeitos irritantes, por comparação com formulações convencionais de minoxidil. As partículas apresentaram um diâmetro médio de aproximadamente 190 *nm* — o que aparentemente favorece a entrega de minoxidil através dos folículos pilossebáceos. Os resultados experimentais permitiram concluir que as suspensões de SLN podem ser tão eficientes quanto as soluções comerciais de minoxidil em termos de penetração na pele. Além disso, os resultados dos estudos de irritação da pele indicaram ausência de efeito irritante da formulação de SLN, enquanto os diferentes produtos comerciais testados exibiram potencial irritante, o que muitas vezes acaba por afetar a adesão à terapêutica. Estas diferenças podem ser explicadas pelo facto de estes sistemas nanoestruturados terem sido preparados utilizando lípidos fisiologicamente bem tolerados, e segundo um processo isento de solventes potencialmente tóxicos. Assim, a produção de SLN com minoxidil poderá representar uma alternativa promissora no que diz respeito ao tratamento da AAG (114).

A flutamida é um antiandrogénio que tem vindo a ser estudado no âmbito do tratamento da APF (10). Contudo, este fármaco, quando administrado a nível sistémico, causa inúmeros efeitos adversos (10,79). Por sua vez, um estudo propôs SLN com flutamida, para terapia tópica. Realizaram-se testes *ex vivo* com pele de rato, que permitiram concluir

que a deposição de flutamida na pele aquando da utilização dos nanossistemas foi significativamente mais elevada ($62,95 \pm 6,2\%$) do que com a solução hidroalcoólica de flutamida ($35,83 \pm 4,1\%$), sendo possível verificar estes dados na figura 7.16. No geral, os dados sugerem que as SLN permitem a entrega de flutamida de uma forma eficaz na pele, minimizando ainda a sua absorção sistémica (79).

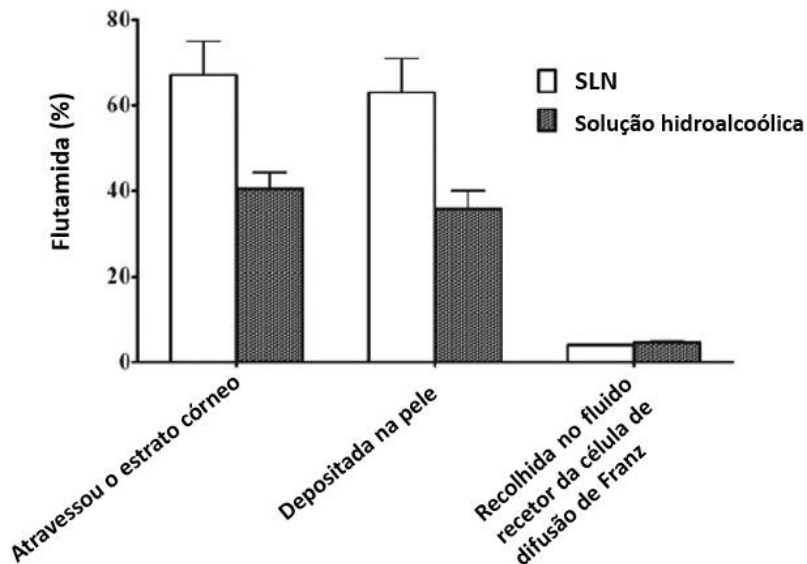


Figura 7.16. Percentagem de permeação da flutamida, determinada através de testes *ex vivo* utilizando células de difusão de Franz. A percentagem de fármaco que atravessa o estrato córneo corresponde à soma das quantidades encontradas ao nível da pele e no compartimento recetor da célula de difusão de Franz. Adaptado de (79).

O mesmo trabalho fez ainda uma avaliação *in vivo* em ratinhos, comparando os efeitos da formulação tópica de SLN com flutamida, com a solução hidroalcoólica da substância. Verificou-se que as SLN proporcionam a entrega de flutamida nos folículos pilosos com maior eficácia, do que a solução hidroalcoólica de flutamida, induzindo o desenvolvimento do folículo piloso e promovendo assim o crescimento capilar. Os resultados sugerem ainda que as SLN possibilitam a libertação lenta e controlada das moléculas de fármaco (79).

No geral, os resultados obtidos neste estudo apoiam o potencial de utilização de SLN como sistema de entrega de fármacos no tratamento da AAG (79).

O minoxidil também tem sido alvo de estudos de encapsulação em sistemas de NLC. Num destes estudos, o minoxidil foi encapsulado em NLC preparados a partir de triestearina e ácido oleico (proporção de lípido sólido/lípido líquido 2:1); e a matriz lipídica foi estabilizada através da adição de uma solução aquosa de Tween[®] 80. A dispersão coloidal apresentou partículas com diâmetro médio de 280 nm, e um potencial zeta de cerca de -43 mV, prevendo-se uma boa estabilidade. A eficácia de encapsulação foi de aproximadamente 87%, bastante satisfatória, o que se deve provavelmente à elevada lipofilia do minoxidil (115).

De modo a aumentar a sua consistência e potenciar a permeação através da pele, a dispersão aquosa de NLC foi incorporada num gel à base de Carbopol[®] (115). O perfil de libertação do fármaco foi então avaliado, tendo-se verificado que a libertação do minoxidil apresentou um padrão bifásico, com uma libertação rápida na primeira hora de ensaio (possivelmente devido à existência de moléculas de fármaco adsorvidas à superfície dos NLC), seguida de libertação gradual e controlada (sugerindo que o fármaco se encontrava encapsulado no interior da matriz lipídica dos NLC), com libertação praticamente total do fármaco em aproximadamente 16 horas, tal como se pode verificar na figura 7.17 (115,116).

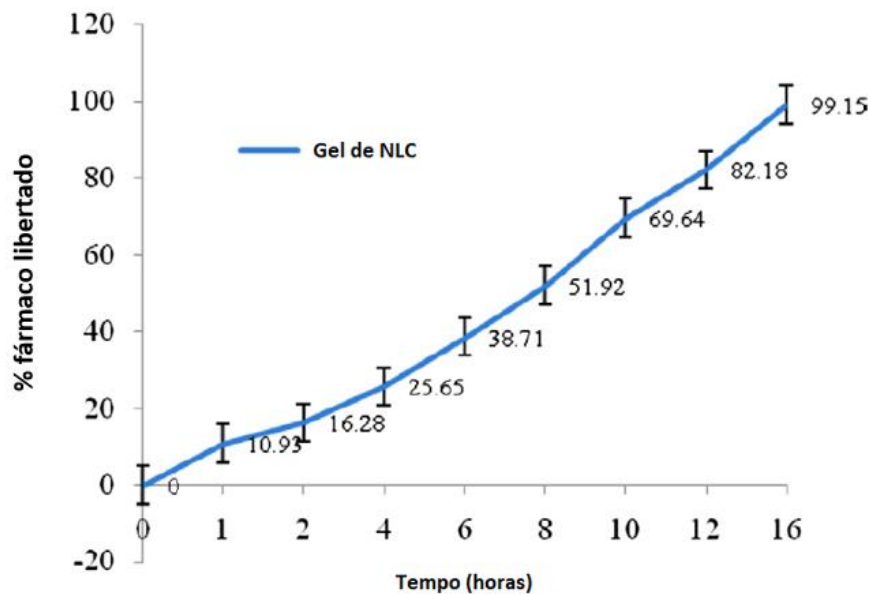


Figura 7.17. Perfil de libertação *in vitro* do minoxidil a partir da formulação semissólida de NLC (média \pm desvio padrão; n = 3). Adaptado de (115).

8. Conclusão

O tratamento tópico da AAG pode encontrar vantagens na utilização de sistemas de veiculação de fármacos, os quais constituem uma abordagem inovadora, permitindo, de um modo geral, melhorar a seletividade e a eficácia do ativo antialopecia incorporado, atenuando ainda os seus efeitos secundários. Uma das possibilidades é a utilização de sistemas nanoparticulados, cujos principais benefícios incluem o aumento da penetração do fármaco encapsulado nos folículos pilosos e a sua libertação controlada ao longo do tempo. Além disso, contrariamente às formulações convencionais, estes sistemas demonstram ser, no geral, bastante seguros na evicção de efeitos adversos, sendo, por isso, expectável a garantia de uma boa adesão à terapêutica. A via transfolicular permite a penetração através dos anexos cutâneos e tem sido relatada como a principal via de penetração para nanopartículas, quando administradas por via tópica. A estrutura singular, bem como a renovação cíclica do folículo piloso são aspetos relevantes que devem ser tidos em conta aquando da projeção de sistemas de entrega de fármacos que têm como alvo específico elementos que integram a estrutura folicular.

Diferentes trabalhos de desenvolvimento e caracterização de formulações antialopecia com base na nanotecnologia, comentados nesta monografia, comprovam a viabilidade deste tipo de abordagem no tratamento da AAG. No entanto, na maior parte dos casos, os estudos encontram-se ainda em fases iniciais. Verificou-se que o recurso a nanopartículas poliméricas como sistema de veiculação de ativos antialopecia tem sido das estratégias mais exploradas dentro dos nanossistemas considerados neste trabalho. É, no entanto, necessário alargar os ensaios realizados para se poder encaminhar este tipo de sistema para comercialização.

Referenciam-se, ainda, as seguintes metas para o futuro:

— O transporte dos sistemas nanoparticulados ao nível da pele, assim como a influência do seu tamanho na sua distribuição dentro do folículo pilosebáceo são aspetos que não estão totalmente definidos/claros. Para efeitos de otimização das propriedades das formulações nanoestruturadas para aplicação tópica, é necessário compreendê-los melhor, o que requer uma continuidade dos trabalhos de investigação no tema;

— Por fim, apesar de, em muitos casos, os resultados serem promissores, ao nível da eficácia, é necessário aprofundar a avaliação da segurança e o potencial de toxicidade de todos os sistemas envolvidos nas estratégias de veiculação de fármacos anteriormente mencionadas.

9. Referências bibliográficas

1. Faria HC, Amaro C. Hyperandrogenism in pediatrics – Clinical manifestations and approach. *Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology*. 2013;71(3):313-322.
2. Instituto Pharmcare. Protocolo de Indicação Farmacêutica na Queda de Cabelo (Alopecia). *Farmácia Distribuição* 2018 (313).
3. Alwaleedi SA. The involvement of androgens in human hair growth. *American Journal of Biomedical Sciences*. 2015;7(2):105-124.
4. Wosicka H, Cal K. Targeting to the hair follicles: current status and potential. *Journal of Dermatological Science*. 2010;57(2):83-89.
5. Lauterbach A, Müller-Goymann CC. Applications and limitations of lipid nanoparticles in dermal and transdermal drug delivery via the follicular route. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015;97(Pt A):152-163.
6. Blume-Peytavi U, Tosti A, Whiting DA, Trüeb RM (Eds.). *Hair Growth and Disorders*. Berlin: Springer, 2008. doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-540-46911-7>.
7. Fabbrocini G, Cantelli M, Masarà A, Annunziata MC, Marasca C, Cacciapuoti S. Female pattern hair loss: a clinical, pathophysiologic, and therapeutic review. *International Journal of Women's Dermatology*. 2018;4(4):203-211.
8. Rosen J, Landriscina A, Friedman AJ. Nanotechnology-based cosmetics for hair care. *Cosmetics*. 2015;2(3):211-224.
9. Nalluri R, Harries M. Alopecia in general medicine. *Clinical Medicine*. 2016;16(1):74-78.
10. Mendes AP. Alopecia androgenética: terapêutica em homens e mulheres. E-Publicação do Centro de Informação do Medicamento. 2019 [Acedido a 11 de Dezembro de 2019]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/publicacoes/e-publicacoes/alopecia-androgenetica-terapeutica-em-homens-e-mulheres/>
11. Trüeb R, Hoffmann R. Aging of Hair. In: Lunenfeld B, Gooren LJG, Morales A, Morley JE (Eds.). *Textbook of Men's Health and Aging*. United Kingdom: Informa Healthcare, 2007. p.697-708.
12. Cranwell W, Sinclair R. Male Androgenetic Alopecia. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, et al. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. [Atualizado a 29 de Fevereiro de 2016; Acedido a 23 de Novembro de 2019]. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278957/>

13. Lolli F, Pallotti F, Rossi A, Fortuna MC, Caro G, Lenzi A, et al. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*. 2017;57(1):9-17.
14. Paus R. Therapeutic strategies for treating hair loss. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*. 2006;3(1):101-110.
15. Jones MC. Treatment options for androgenetic alopecia. *US Pharmacist*. 2018 [Acedido a 12 de Dezembro de 2019];43(8):12-16. Disponível em: <https://www.uspharmacist.com/article/treatment-options-for-androgenetic-alopecia>
16. Varothai S, Bergfeld WF. Androgenetic alopecia: an evidence-based treatment update. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2014;15(3):217-230.
17. Kelly Y, Blanco A, Tosti A. Androgenetic alopecia: an update of treatment options. *Drugs*. 2016;76(14):1349-1364.
18. Alves R. Androgenetic alopecia: a review and emerging treatments. *Clinical Research in Dermatology Open Access*. 2017;4(4):1-13.
19. Santos Z, Avci P, Hamblin MR. Drug discovery for alopecia: gone today, hair tomorrow. 2015;10(3):269-292.
20. Jepps OG, Dancik Y, Anissimov YG, Roberts MS. Modeling the human skin barrier – Towards a better understanding of dermal absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(2): 152-168.
21. Barel AO, Paye M, Maibach HI. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, 2009.
22. Zhang Z, Tsai P-C, Ramezanli T, Michniak-Kohn BB. Polymeric nanoparticles-based topical delivery systems for the treatment of dermatological diseases. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2014;5(3):205-218.
23. Gupta M, Agrawal U, Vyas SP. Nanocarrier-based topical drug delivery for the treatment of skin diseases. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2012;9(7):783-804.
24. Papakostas D, Rancan F, Sterry W, Blume-Peytavi U, Vogt A. Nanoparticles in dermatology. *Archives of Dermatological Research*. 2011;303(8):533-550.
25. Fang CL, Aljuffali IA, Li YC, Fang, JY. Delivery and targeting of nanoparticles into hair follicles. *Therapeutic Delivery*. 2014;5(9):991-1006.
26. Patzelt A, Lademann J. Drug delivery to hair follicles. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2013;10(6):787-797.

27. Antonio JR, Antônio CR, Cardeal ILS, Ballavenuto JMA, Oliveira JR. Nanotechnology in dermatology. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2014;89(1):126-136.
28. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. Sistema Tegumentar. In: *Anatomia & Fisiologia*, 8.^a Edição. Loures: Lusociência – Edições Técnicas e Científicas, 2011. p.155-179.
29. Walters KA. *Dermatological and transdermal formulations: drugs and the pharmaceutical sciences*. 1st ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, 2002.
30. Betts JG, Desaix P, Johnson E, Johnson JE, Korol O, Kruse D, et al. *Anatomy & Physiology*. Houston, Texas: OpenStax; 2013 [Acedido a 13 de Março de 2019]. Disponível em: <https://openstax.org/details/books/anatomy-and-physiology>.
31. Kolarsick PA, Kolarsick MA, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2011;3(4):203-213.
32. Prow TW, Grice JE, Lin LL, Faye R, Butler M, Becker W, et al. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2011;63(6): 470-491.
33. Prausnitz MR, Mitragotri S, Langer R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004;3(2): 115–124.
34. Rancan F, Afraz Z, Combadiere B, Bulme-Peytavi U, Vogt A. Hair follicle targeting with nanoparticles. In: Nasir A, Friedman A, Wang S (Eds.). *Nanotechnology in Dermatology*. New York: Springer, 2013. p.95-107. doi: 10.1007/978-1-4614-5034-4_9.
35. Fernandes BP. Preparation of particles for cosmetic applications in human hair. [Dissertação de Mestrado]. Universidade do Minho; 2012.
36. Buffoli B, Rinaldi F, Labanca M, Sorbellini E, Trink A, Guanziroli E, et al. The human hair: from anatomy to physiology. *International Journal of Dermatology*. 2013;53(3):331-341.
37. Alaiti S. Hair Anatomy: Overview, Microanatomy of Anagen Phase Hair, Microanatomy of Catagen Phase Hair, Microanatomy of Telogen Phase Hair [Internet]. *Medscape*; 1994-2019 [Atualizado a 21 de Julho de 2015; Acedido a 15 de Abril de 2019]. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/835470-overview#showall>
38. Araújo R, Fernandes M, Cavaco-Paulo A, Gomes A. Biology of human hair: know your hair to control it. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 2010;125:121-143.
39. Junqueira LC, Carneiro J. *Pele e Anexos*. In: *Histologia Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p.359-370.

40. Chu TW, Santos L, McElwee KJ. Biology of the hair follicle and mechanisms of nonscarring and scarring alopecia. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. 2015;34(2):50-56.
41. McElwee KJ, Sinclair R. Hair physiology and its disorders. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 2008;5(2):163-171.
42. Vogt A, Mandt N, Lademann J, Schaefer H, Blume-Peytavi U. Follicular targeting - A promising tool in selective dermatotherapy. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2005;10(3):252-255.
43. Meidan VM, Bonner MC, Michniak BB. Transfollicular drug delivery - Is it a reality?. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005;306:1-14.
44. Robinson JK, Hanke CW, Siegel DM, Fratila A, Bhatia AC, Rohrer TE. Follicular unit hair transplantation. In: *Surgery of the Skin: Procedural Dermatology*. London, United Kingdom: Saunders, 2014.
45. Pratt CH, King LE, Messenger AG, Christiano AM, Sundberg JP. Alopecia areata. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;3:17011.
46. Brajac I, Vikić M, Periša D, Kaštelan M. Human Hair follicle: an update on biology and perspectives in hair growth disorders treatment. *Hair: Therapy & Transplantation*. 2014;4(1):115.
47. Randall VA. Androgens and hair growth. *Dermatologic Therapy*. 2008;21(5):314-28.
48. Chon SY, Champion RW, Geddes ER, Rashid RM. Chemotherapy-induced alopecia. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2012;67(1):e37-e47.
49. Ellis JA, Sinclair R, Harrap SB. Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2002;4(22):1-11.
50. Prista LN, Alves AC, Morgado R, Lobo JS. *Tecnologia Farmacêutica*. 8.^a Edição. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2011.
51. Arif T, Nisa N, Amin SS, Shoib S, Mushtaq R, Shawl MR. Therapeutic and diagnostic applications of nanotechnology in dermatology and cosmetics. *Journal of Nanomedicine & Biotherapeutic Discovery*. 2015;5(3):1-10.
52. Blume-Peytavi U, Vogt A. Human hair follicle: reservoir function and selective targeting. *British Journal of Dermatology*. 2011;165(2):13-17.
53. Lohani A, Verma A, Joshi H, Yadav N, Karki N. Nanotechnology-based cosmeceuticals. *ISRN Dermatology*. 2014;2014:1-14.
54. Schneider M, Stracke F, Hansen S, Schaefer UF. Nanoparticles and their

- interactions with the dermal barrier. *Dermato-Endocrinology*. 2009;1(4):197-206.
55. Bibi N, Ahmed N, Khan GM. Nanostructures in transdermal drug delivery systems. In: Andronescu E, Grumezescu A (Eds.). *Nanostructures for Drug Delivery*. Elsevier, 2017. p.639-668. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00021-X>.
 56. Lademann J, Knorr F, Richter H, Blume-Peytavi U, Vogt A, Antoniou C, et al. Hair follicles – An efficient storage and penetration pathway for topically applied substances. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2008;21(3):150-155.
 57. Tran T-N. Cutaneous drug delivery: an update. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2013;16(1):S67-S69.
 58. Patzelt A, Richter H, Knorr F, Schäfer U, Lehr C-M, Dähne L, et al. Selective follicular targeting by modification of the particle sizes. *Journal of Controlled Release*. 2011;150(1):45-48.
 59. Gomes MJ, Martins S, Ferreira D, Segundo MA, Reis S. Lipid nanoparticles for topical and transdermal application for alopecia treatment: development, physicochemical characterization, and in vitro release and penetration studies. *International Journal of Nanomedicine*. 2014;9(1):1231-1242.
 60. Hogue MD. Hair Loss. In: Berardi RR, Ferreri SP, Hume AL, Kroon LA, Newton GD, Popovich NG, et al. (Eds.). *Handbook of Nonprescription Drugs: An Interactive Approach to Self-Care*. Washington, DC: American Pharmacists Association, 2009. p.825-833.
 61. Phillips TG, Slomiany WP, Allison R. Hair loss: common causes and treatment. *American Family Physician*. 2017;96(6):371-378.
 62. Gordon KA, Tosti A. Alopecia: evaluation and treatment. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2011;4:101-106.
 63. Wolff H, Fischer TW, Blume-Peytavi U. The diagnosis and treatment of hair and scalp diseases. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2016;113(21):377-386.
 64. Pinto-Almeida T, Machado S, Selores M. Tricoscopia – Estruturas tricoscópicas e sua aplicabilidade nas patologias do cabelo e do couro cabeludo. *Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*. 2013;71(4):455-464.
 65. Macbeth A, Harries M. Hair loss in hospital medicine: a practical guide. *British Journal of Hospital Medicine*. 2012;73(7):372-379.
 66. Ficha Técnica do Centro de Informação do Medicamento. *Alpécias Difusas*. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos* 2013 (109).
 67. Kaliyadan F, Nambiar A, Vijayaraghavan S. Androgenetic alopecia: an update. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*. 2013;79(5):613-

- 625.
68. Levy LL, Emer JJ. Female pattern alopecia: current perspectives. *International Journal of Women's Health*. 2013;5:541-556.
69. Kanti V, Messenger A, Dobos G, Reygagne P, Finner A, Blumeyer A, et al. Evidence-based (S3) guideline for the treatment of androgenetic alopecia in women and in men – short version. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2018;32(1):11-22.
70. Vujovic A, Del Marmol V. The female pattern hair loss: review of etiopathogenesis and diagnosis. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-8.
71. Martinez-Jacobo L, Villarreal-Villarreal CD, Ortiz-López R, Ocampo-Candiani J, Rojas-Martínez A. Genetic and molecular aspects of androgenetic alopecia. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*. 2018;84(3):263-268.
72. Trüeb RM, Tobin DJ (Eds.). *Aging Hair*. Berlin: Springer, 2010. doi: 10.1007/978-3-642-02636-2.
73. Mahé YF, Michelet J-F, Billoni N, Jarrousse F, Buan B, Commo S, et al. Androgenetic alopecia and microinflammation. *International Journal of Dermatology*. 2000;39(8):576-584.
74. Breitkopf T, Leung G, Yu M, Wang E, McElwee KJ. The basic science of hair biology: what are the causal mechanisms for the disordered hair follicle?. *Dermatologic Clinics*. 2013;31(1):1-19.
75. Deplewski D, Rosenfield RL. Role of hormones in pilosebaceous unit development. *Endocrine Reviews*. 2000;21(4):363-392.
76. Mulinari-Brenner F, Seidel G, Hepp T. Entendendo a alopecia androgenética. *Surgical and Cosmetic Dermatology*. 2010;3(4):329-337.
77. Olsen EA. Female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2001;45(3):S70-S80.
78. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP. Resumo das características do medicamento – Propecia® 1 mg comprimidos revestidos por película; 2019.
79. Hamishehkar H, Ghanbarzadeh S, Sepهران S, Javadzadeh Y, Adib ZM, Kouhsoltani M. Histological assessment of follicular delivery of flutamide by solid lipid nanoparticles: potential tool for the treatment of androgenic alopecia. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016;42(6):846-53.
80. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP. Resumo das características do medicamento – Folcare® 50 mg/ml Solução Cutânea; 2017.

81. Alopecia | CUF [Internet]. © 2020 [Acedido a 15 de Abril de 2020]. Disponível em: <https://www.cuf.pt/saude-a-z/alopecia>.
82. Escobar-Chávez JJ, Rodríguez-Cruz IM, Domínguez-Delgado CL, Díaz-Torres R, Revilla-Vázquez AL, Aléncaster NC. Nanocarrier systems for transdermal drug delivery. *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*. 2012: 201-240.
83. Chen DL, Zheng D, Paller AS. Nano-Based Gene Therapy for Dermatologic Diseases. In: Nasir A, Friedman A, Wang S (Eds.). *Nanotechnology in Dermatology*. New York: Springer, 2013. p.109-117. doi: 10.1007/978-1-4614-5034-4_10.
84. Nasir A. Nanotechnology and dermatology: Part I – potential of nanotechnology. *Clinics in Dermatology*. 2010;28(4):458-466.
85. Yared JA, Tkaczuk KHR. Update on taxane development: new analogs and new formulations. *Drug Design, Development and Therapy*. 2012;6:371-384.
86. Vanić Z, Holsæter A-M, Škalko-Basnet N. (Phospho)lipid-based nanosystems for skin administration. *Current Pharmaceutical Design*. 2015;21(29):4174-4192.
87. Abd E, Benson, HAE, Roberts MS, Grice JE. Minoxidil skin delivery from nanoemulsion formulations containing eucalyptol or oleic acid: enhanced diffusivity and follicular targeting. *Pharmaceutics*. 2018;10(1):19.
88. Jung S, Otberg N, Thiede G, Richter H, Sterry W, Panzner S, et al. Innovative liposomes as a transfollicular drug delivery system: penetration into porcine hair follicles. *Journal of Investigative Dermatology*. 2006;126(8):1728-1732.
89. Honary S, Zahir F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems — a review (part 1). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2013;12(2):255-264.
90. Alhariri M, Azghani A, Omri A. Liposomal antibiotics for the treatment of infectious diseases. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2013;10(11):1515-1532.
91. Santos AC, Pereira-Silva M, Guerra C, Costa D, Peixoto D, Pereira I, et al. Topical minoxidil-loaded nanotechnology strategies for alopecia. *Cosmetics*. 2020;7(2),21.
92. Pereira MN, Ushirobira CY, Cunha-Filho MSS, Gelfuso GM, Gratieri T. Nanotechnology advances for hair loss. *Therapeutic Delivery*. 2018;9(8):593-603.
93. Nasir A. Nanotechnology and dermatology: part II — risks of nanotechnology. *Clinics in Dermatology*. 2010;28(5):581-588.

94. Borikun T. The potential issues surrounding the use of nanomaterials in medicine. [Internet]. AZoNano.com; 2020 [Acedido a 14 de Setembro de 2020]. Disponível em: <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=4055>
95. Bahamonde-Norambuena D, Molina-Pereira A, Cantin M, Muñoz M, Zepeda K, Vilos C. Polymeric nanoparticles in dermocosmetic. *International Journal of Morphology*. 2015;33(4):1563-1568.
96. Wu X, Guy RH. Applications of nanoparticles in topical drug delivery and in cosmetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2009;19(6):371-384.
97. Bruschi ML. Drug delivery systems. In: *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, 2015. p.87-194.
98. Rahimpour Y, Hamishehkar H. Niosomes as carrier in dermal drug delivery. *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*. 2012;141-164.
99. Chandu VP, Arunachalam A, Jeganath S, Yamini K, Tharangini K, Chaitanya G. Niosomes: a novel drug delivery system. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*. 2012;2(1):25-31.
100. Uchechi O, Ogbonna JDN, Attama AA. Nanoparticles for dermal and transdermal drug delivery. *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. 2014;4:193-227.
101. Touitou E, Dayan N, Bergelson L, Godin B, Eliaz M. Ethosomes - Novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *Journal of Controlled Release*. 2000;65(3):403-418.
102. Sudhakar CK, Upadhyay N, Jain S, Charyulu RN. Ethosomes as non-invasive loom for transdermal drug delivery. In: Sebastian M, Ninan N, Haghi AK (Eds.). *Nanomedicine and Drug Delivery*. Apple Academic Press. 2012;1:1-16.
103. Vitorino C, Sousa J, Pais A. Overcoming the skin permeation barrier: challenges and opportunities. *Current Pharmaceutical Design*. 2015;21(20):2698-2712.
104. Roque LV, Dias IS, Cruz N, Rebelo A, Roberto A, Rijo P. Design of finasteride-loaded nanoparticles for potential treatment of alopecia. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2017;30(4):197-204.
105. Morgen M, Lu GW, Du D, Stehle R, Lembke F, Cervantes J, et al. Targeted delivery of a poorly water-soluble compound to hair follicles using polymeric nanoparticle suspensions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;416(1):314-322.
106. Tsujimoto H, Hara K, Tsukada Y, Huang CC, Kawashima Y, Arakaki M, et al. Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007;17(17):4771-4777.

107. Hwang SL, Kim J-C. In vivo hair growth promotion effects of cosmetic preparations containing hinokitiol-loaded poly(ϵ -caprolacton) nanocapsules. *Journal of Microencapsulation*. 2008;25(5):351-356.
108. Matos BN, Reis TA, Gratieri T, Gelfuso GM. Chitosan nanoparticles for targeting and sustaining minoxidil sulphate delivery to hair follicles. *International Journal of Biological Macromolecules* 2015;75:225–229.
109. Noor NM, Sheikh K, Somavarapu S, Taylor KMG. Preparation and characterization of dutasteride-loaded nanostructured lipid carriers coated with stearic acid-chitosan oligomer for topical delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;117:372-384.
110. Sharma P, Jain D, Maithani M, Mishra SK, Khare P, Singh R, et al. Development and characterization of dutasteride bearing liposomal systems for topical use. *Current Drug Discovery Technologies*. 2011;8(2):136-145.
111. Mali N, Darandale S, Vavia P. Niosomes as a vesicular carrier for topical administration of minoxidil: formulation and in vitro assessment. *Drug Delivery and Translational Research*. 2013;3(6):587-592.
112. Jun-Bo Tu, Zhuang-Qun Y, Xi-Jing H, Ying X, Yong S, Zhe X, et al. Effect of ethosomal minoxidil on dermal delivery and hair cycle of C57BL/6 mice. *Journal of Dermatological Science*. 2007;45(2): 135—137.
113. Nastiti CMRR, Ponto T, Abd E, Grice JE, Benson HAE, Roberts MS. Topical nano and microemulsions for skin delivery. *Pharmaceutics*. 2017;9(4):37.
114. Padois K, Cantiéni C, Bertholle V, Bardel C, Pirot F, Falson F. Solid lipid nanoparticles suspension versus commercial solutions for dermal delivery of minoxidil. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;416(1):300-304.
115. Uprit S, Sahu RK, Roy A, Pare A. Preparation and characterization of minoxidil loaded nanostructured lipid carrier gel for effective treatment of alopecia. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013;21(4):379–385.
116. Almeida H. Aplicação de polímeros sensíveis a estímulos em sistemas de libertação modificada de fármacos para uso oftálmico. [Dissertação de Douturamento]. Universidade do Porto; 2015.