

Ana Rita Monteiro Centeno

AS MICROAGULHAS NA VACINAÇÃO

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Rita Monteiro Centeno

As Microagulhas na Vacinação

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Rita Monteiro Centeno, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº2011143991 declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 16 de setembro de 2016.

Os meus sinceros agradecimentos:

À Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro, agradeço a orientação da presente Monografia.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelas bases e conhecimentos científicos que me proporcionou.

À Phartuna – Tuna de Farmácia de Coimbra, só quem te vive é que sabe e eu sei.
Obrigado amigos.

Aos amigos da faculdade que levo comigo para a vida que muito ajudaram e aturaram durante todo este percurso, vocês sabem que estão no meu coração.

Aos meus pais, irmão, família e amigos de infância pelo pilar que são na minha vida.

A Coimbra.

ÍNDICE

1. RESUMO.....	6
2. INTRODUÇÃO.....	7
3. ADMINISTRAÇÃO POR VIA INTRADÉRMICA OU TRANSDÉRMICA	8
3.1. ESTRUTURA DA PELE E SISTEMA IMUNITÁRIO ASSOCIADO	8
3.2. A PELE COMO ALVO PARA VACINAÇÃO.....	10
4. MICROAGULHAS	11
4.1. DESIGN DAS MICROAGULHAS.....	11
4.1.1. MICROAGULHAS SÓLIDAS.....	12
4.1.2. MICROAGULHAS REVESTIDAS	13
4.1.3. MICROAGULHAS SOLÚVEIS	15
4.1.4. MICROAGULHAS OCAS.....	17
4.1.5. MICROAGULHAS FORMADAS POR HIDROGEL	18
4.2. SEGURANÇA E ADESÃO DO DOENTE	19
4.2.1. DOR.....	20
4.2.2. INFEÇÃO.....	20
4.2.3. IRRITAÇÃO DA PELE	21
4.2.4. HEMORRAGIA.....	21
5. ESTRATÉGIAS COMPLEMENTARES PARA PERMEAÇÃO DA PELE.....	22
6. APLICAÇÕES DAS MICROAGULHAS.....	22
6.1. VACINAÇÃO	23
6.2. OUTRAS APLICAÇÕES.....	23
6.2.1. BIOFARMACÊUTICOS	23
6.2.2. PRODUTOS COSMÉTICOS.....	24
6.2.3. EXTRAÇÃO DE FLUIDOS BIOLÓGICOS	24
7. INTANZA®/ IDflu®	24
8. MICROAGULHAS EM DESENVOLVIMENTO	26
9. CONCLUSÃO	29
10. BIBLIOGRAFIA.....	30

ABREVIATURAS

APC	<i>Antigen Presenting Cell</i> (Célula Apresentadora de Antígenos)
BCG	Bacilo de Calmette e Guérin
BD	Becton, Dickinson and Company
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> (Albumina Sérica Bovina)
DC	<i>Dendritic cell</i> (Célula Dendrítica)
DDC	<i>Dendritic Dermal Cels</i> (Célula Dendrítica Dérmica)
DLN	<i>Draining Lymph Node</i> (Nódulo Linfático de Drenagem)
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
hMTS	<i>Hollow Microneedle System</i> (Sistema de Microagulhas Ocas)
ID	Intradérmica
IM	Intramuscular
LC	<i>Langerhans Cells</i> (Células de Langerhans)
NK	<i>Células Natural Killers</i>
PTH	<i>Parathyroid Hormone</i> (Hormona da Paratiroide)
SC	<i>Stratum Corneum</i> (Estrato Córneo)
siRNA	<i>Small Interfering Ribonucleic Acid</i> (Ácido Ribonucléico de Interferência Curto)
sMTS	<i>Solid Microneedle System</i> (Sistema de Microagulhas Sólidas)
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)

I. RESUMO

A administração de vacinas por via intradérmica e transdérmica apresenta-se com elevado potencial dada a presença de um grande número de células do sistema imunitário na pele. No entanto, devido à impressionante função barreira do estrato córneo (SC) que impede a difusão de fármacos, e à falta de tecnologias de fabrico de sistemas que permitam ultrapassar esta camada, a administração de vacinas a partir destas vias tem-se demonstrado limitada.

A presente monografia aborda um sistema inovador, as microagulhas, que permitem o transporte de fármacos através da pele. Através da sua utilização é possível transportar as vacinas diretamente para as células apresentadoras de antigénios (APCs) da epiderme e derme, de uma forma simples, eficaz, minimamente invasiva e indolor. Ao longo do documento serão abordados os mais recentes progressos na tecnologia das microagulhas, incluindo os tipos de *designs* de microagulhas, modo de atuação e vantagens. Serão ainda abordadas questões relacionadas com a segurança e destacados alguns produtos no mercado e em desenvolvimento.

Palavras-chave: microagulhas, administração de vacinas por via intradérmica.

ABSTRACT

Intradermal and transdermal vaccine delivery holds great promise due to the skin's rich immune system cells. However, due to the fact that the stratum corneum (SC) represents an impressive barrier to the diffusion of drugs and the lack of manufacturing technologies to produce systems that can overcome this barrier, vaccine delivery through these routes has been limited.

This review focuses on a new innovative system, microneedles, that facilitate the delivery of drugs across the skin. Microneedles allow the delivery of vaccines directly to epidermal and dermal antigen presenting cells (APCs), in a simple, effective, minimally invasive and painless manner. Throughout this document the most recent progresses in microneedles technology will be addressed, including types of microneedle designs, its main challenges and advantages, safety aspects and products on the market and in development.

Key-words: microneedles, intradermal vaccine delivery.

2. INTRODUÇÃO

A vacinação, que representa a estratégia fundamental de profilaxia contra doenças e mortes causadas por doenças infecciosas, tem contribuído consideravelmente para os bons índices de saúde pública a nível mundial (Hirobe *et al.*, 2013). Foi Edward Jenner que divulgou a descoberta da 1ª vacina no século XVIII, a vacina que permitiu erradicar a varíola, uma das doenças mais temíveis da época.

Na atualidade, as vacinas são administradas por uma de cinco principais vias: intramuscular (IM), por exemplo as vacinas da hepatite A e B, influenza e raiva; subcutânea, para a vacina do sarampo, rubéola e febre amarela; intradérmica, para a BCG (Bacilo de Calmette e Guérin); intranasal, para a vacina viva atenuada contra a influenza; e oral, para a vacina da poliomielite, cólera e rotavírus.

A maioria das vacinas é administrada por via IM ou subcutânea, utilizando uma agulha hipodérmica, sendo uma forma barata e rápida de administrar qualquer tipo de molécula bioativa. No entanto, a injeção com agulhas hipodérmicas apresenta várias desvantagens, como o facto de precisarem de ser administradas por profissionais de saúde, serem dolorosas e estarem associadas a fobias, o que limita a adesão dos utentes. Para além disso, a reutilização indevida das agulhas aumenta o risco de transmissão de agentes patogénicos, especialmente em países em desenvolvimento. Uma alternativa à sua utilização, como é o caso das formulações orais, permite ultrapassar grande parte destes problemas. No entanto, muitos fármacos não podem ser administrados por esta via, devido a uma baixa absorção ou à sua degradação no trato gastrointestinal e fígado (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Lambert e Laurent, 2008). Estes inconvenientes levaram à necessidade de procurar novos métodos para a administração de vacinas, que fossem seguros, económicos e eficientes.

Os primeiros estudos com a administração de fármacos recorrendo ao uso de microagulhas foram publicados no final dos anos 90. Desde essa data a investigação nestes dispositivos médicos tem aumentado exponencialmente (Kim, Park e Prausnitz, 2012). As microagulhas são pequenas estruturas na ordem dos micrómetros que conseguem ultrapassar a barreira constituída pelo SC e aumentar a permeabilidade da pele, permitindo a administração de fármacos e vacinas na epiderme ou derme, de uma forma minimamente invasiva e indolor. A sua capacidade de depositar a formulação injetada, junto das APCs, tem particular interesse para a administração de vacinas (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

3. ADMINISTRAÇÃO POR VIA INTRADÉRMICA OU TRANSDÉRMICA

3.1. ESTRUTURA DA PELE E SISTEMA IMUNITÁRIO ASSOCIADO

A pele é o maior e um dos mais complexos órgãos do corpo humano apresentando uma área de aproximadamente 2 m² e uma profundidade que varia entre 1 mm e 4 mm ao longo de toda a superfície corporal (Combadiere e Liard, 2011; Larrañeta *et al.*, 2016). A pele forma uma barreira que protege o corpo do meio exterior, impedindo a invasão por microorganismos patogénicos e a penetração de agentes químicos, mantendo também a homeostase corporal (Teunissen, Haniffa e Collin, 2012). Estruturalmente, a pele é constituída por três camadas principais: a epiderme, camada mais exterior constituída maioritariamente por queratinócitos, a derme, formada por um tecido denso, fibroso e elástico que proporciona um suporte robusto para a pele e a hipoderme, camada subcutânea mais profunda constituída essencialmente por tecido adiposo (Combadiere e Liard, 2011; Teunissen, Haniffa e Collin, 2012).

A epiderme é um tecido não vascularizado composto por várias subcamadas estratificadas de células escamosas e queratinizadas que correspondem a diferentes fases de diferenciação dos queratinócitos. A mais profunda, a camada basal ou germinativa apresenta queratinócitos progenitores, com uma elevada capacidade de multiplicação e diferenciação, que vão sofrendo variadas alterações morfológicas e bioquímicas enquanto migram em direção à superfície. Ao longo da sua diferenciação, os queratinócitos vão perdendo o seu núcleo e organelos citoplasmáticos, atravessando os estratos espinhoso e granuloso, até atingirem o SC, camada mais superficial da epiderme, sendo agora células mortas, alongadas e achatadas, designadas de corneócitos (Teunissen, Haniffa e Collin, 2012).

Os corneócitos no SC formam múltiplas camadas e estão intimamente interligados por desmossomas, que unem microfilamentos e microtúbulos do citoesqueleto de queratinócitos subjacentes, e pela queratina, proteína fibrosa resistente secretada pelos corneócitos. Estes são ainda envolvidos por uma matriz lipídica intersticial que se pensa ser a principal responsável pelas propriedades de barreira do SC. Esta matriz lipídica previne a dessecação dos tecidos subjacentes impedindo a perda de água e limita a penetração de substâncias do meio exterior (Combadiere e Liard, 2011; Larrañeta *et al.*, 2016).

Para além de queratinócitos, a epiderme contém também células dendríticas designadas de células de Langerhans (LC), essenciais para a iniciação da resposta imunitária.

As LC formam uma rede à volta dos queratinócitos na camada suprabasal da epiderme, e representam entre 1 % a 5 % de todas as células epidérmicas (Combadiere e Liard, 2011; Levin, Perrin e Combadiere, 2015). Podem ser identificadas pela expressão constitutiva de Langerina (CD207) e pela presença de organelos intracitoplasmáticos designados de grânulos de Birbeck, importantes para a captação de antígenos (Levin, Perrin e Combadiere, 2015).

Consistente ao seu papel de imunovigilância, as LC apresentam elevada motilidade mesmo num estado de equilíbrio, circulando naturalmente da pele para os nódulos linfáticos de drenagem (DLNs), atravessando a derme. A circulação das LC permite uma monitorização contínua do ambiente cutâneo, contribuindo para a premissa de que a pele é um potencial alvo para a vacinação (Combadiere e Liard, 2011; Levin, Perrin e Combadiere, 2015). Estando a pele continuamente a ser “desafiada” por microorganismos não patogénicos como comensais e auto-antígenos, as LC apresentam também excecionais propriedades imunossupressoras e toleranogénicas (Levin, Perrin e Combadiere, 2015).

Os queratinócitos, presentes na epiderme têm também a capacidade de reagir rapidamente a danos na integridade cutânea e secretar citocinas funcionais, necessárias para a migração e diferenciação das LCs (Combadiere e Liard, 2011).

A epiderme está firmemente fixada à derme por uma área de adesão designada de junção dermo-epidérmica, uma membrana basal composta por colagénio IV, glicoproteínas estruturais e proteoglicanos (Combadiere e Liard, 2011).

A derme é um tecido denso, fibroso e elástico com uma espessura que varia de 1 mm a 4 mm e que suporta firmemente a pele. É constituída maioritariamente por um gel mucopolissacarídico suportado por uma rede fibrosa de colagénio e elastina. É um tecido fortemente vascularizado, com uma excelente drenagem linfática, com nervos e diversos apêndices (glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos) (Teunissen, Haniffa e Collin, 2012). Os fibroblastos são os seus componentes celulares principais e apresentam um papel essencial na secreção de citocinas durante a resposta imunitária. A derme apresenta uma elevada população de células imunológicas residentes como células dendríticas dérmicas (DDCs), macrófagos, mastócitos, células *natural killers* (NK) e células T de memória (CD4 e CD8). O número e composição desta população de células varia substancialmente em situações de inflamação, sendo que, nestes casos, uma grande variedade de leucócitos (granulócitos, monócitos, células dendríticas (DCs) e células T adicionais) são recrutados a partir dos capilares sanguíneos (Combadiere e Liard, 2011; Teunissen, Haniffa e Collin, 2012).

A camada mais profunda da pele, a hipoderme, ou tecido subcutâneo, é essencialmente constituída por tecido adiposo conectado à região inferior da derme por fibras de colagénio. Apresenta também na sua composição fibroblastos, pequenos capilares sanguíneos e tecido nervoso e apesar de ser um dos tecidos mais extensivamente usados para a administração de fármacos e vacinas não apresenta células imunitárias residentes (Combadiere e Liard, 2011; Teunissen, Haniffa e Collin, 2012).

3.2. A PELE COMO ALVO PARA VACINAÇÃO

A pele é um tecido extremamente rico em células do sistema imunitário sendo capaz de induzir respostas imunológicas inatas e adaptativas. A vacinação na pele, por via transdérmica ou intradérmica, tem como alvo as APCs existentes na epiderme, LC, e na derme, DDCs, A indução de uma resposta imunológica adaptativa depende do reconhecimento e captura inicial dos antígenos pelas APCs, e do seu transporte para os órgãos linfáticos, onde são apresentados às células T e B específicas (Combadiere e Liard, 2011; Lambert e Laurent, 2008; Levin, Perrin e Combadiere, 2015).

Apesar destas propriedades, a administração de fármacos por via transdérmica é extremamente limitada. A camada mais superficial da pele, o SC oferece uma barreira extraordinária à penetração de moléculas, tanto pequenos compostos hidrofóbicos como essencialmente todos os fármacos de elevado peso molecular. Apenas moléculas extremamente lipofílicas e com menos de 500 Da conseguem atravessar esta membrana, podendo entrar na circulação sanguínea por difusão (Arora, Prausnitz e Mitragotri, 2008; Kim, Park e Prausnitz, 2012).

A administração de fármacos por via intradérmica (ID) atual é baseada na técnica de Mantoux, desenvolvida por Charles Mantoux em 1910, para o diagnóstico da tuberculose. Nesta técnica uma agulha hipodérmica é inserida quase paralelamente à superfície da pele, e a vacina é injetada lentamente na derme. Se posicionada corretamente, é possível detetar alguma resistência à injeção do fluido e o levantamento de uma pápula é imediatamente visível. Apesar de induzir respostas imunológicas comparáveis a outras vias de administração de vacinas mais utilizadas, mesmo com doses reduzidas de antígeno, esta técnica não é utilizada para a maioria das vacinas, devido às dificuldades que apresenta. Para a realizar eficazmente e de forma reprodutível é necessário treino e prática, sendo que o correto posicionamento da agulha é difícil de alcançar, principalmente em peles inelásticas ou com alterações anatómicas relacionadas com a idade. Outros problemas como a baixa consistência do volume injetado e fugas inevitáveis da vacina no local da injeção também

afetaram negativamente o interesse na indústria farmacêutica nesta via de administração (Lambert e Laurent, 2008; Laurent *et al.*, 2007).

4. MICROAGULHAS

As Microagulhas são pequenas estruturas tipo agulha de dimensões na ordem dos micrómetros, podendo o seu comprimento variar desde 25 μm até 2000 μm (Larrañeta *et al.*, 2016; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

O primeiro conceito de microagulhas como dispositivos para administração de fármacos surgiu em 1976 pelos investigadores Gerstel e Place, com a designação de *puncturing projections*. No entanto, foi apenas em 1998 que Henry *et al.* demonstraram que a utilização de uma microagulha de silício permitia o transporte de calceína através da pele Humana. Com o desenvolvimento de tecnologias de microfabrico foi possível obter os recursos necessários para produzir estas microestruturas, adequadas para aplicação farmacêutica. Atualmente, as microagulhas são produzidas através de inúmeros métodos e a partir de diversos materiais como silício, metal, hidratos de carbono, vidro, cerâmica e vários polímeros (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013). Estas estruturas são utilizadas para perfurar a pele, promovendo a disrupção do SC e criando microporos transitórios que vão facilitar o transporte de fármacos para a epiderme ou derme, de forma minimamente invasiva e indolor (Kolli, 2015; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

4.1. DESIGN DAS MICROAGULHAS

O *design* das microagulhas é limitado por vários parâmetros. Em primeiro lugar as microagulhas têm de ter a capacidade de se inserir na pele sem quebrar. Enquanto que os metais são tipicamente fortes o suficiente, os polímeros precisam de ser cuidadosamente escolhidos de modo a garantirem suficiente força mecânica (Arora, Prausnitz e Mitragotri, 2008).

A geometria das microagulhas é também importante, sendo que a acuidade das suas pontas afeta significativamente a força necessária para a inserção na pele (Arora, Prausnitz e Mitragotri, 2008). O diâmetro das microagulhas é também um fator a considerar. Diâmetros muito pequenos resultam em fluxos de difusão muito limitados e tornam as microagulhas muito frágeis podendo quebrar facilmente na pele. Por este motivo foram criadas matrizes de microagulhas que ajudam a repartir as forças da superfície por várias microagulhas, diminuindo a probabilidade de quebrarem durante a inserção na pele. Para além disso, a

utilização de uma matriz de microagulhas promove a formação de uma maior quantidade de microcanais na pele, aumentando a difusão do fármaco (Ding *et al.*, [s.d.]).

Teoricamente as microagulhas precisam apenas de perfurar uma espessura de 15 μm a 20 μm correspondente ao tecido subcutâneo até atingir a epiderme viável. No entanto, devido à elasticidade e heterogeneidade da pele e às diferenças nas suas propriedades mecânicas e estruturais, (idade, tipo de pele, nível de hidratação, local do corpo e entre indivíduos) as microagulhas devem apresentar um comprimento superior ao anteriormente referido, tendo em conta que, microagulhas com comprimentos demasiado grandes podem atingir os vasos sanguíneos e os nervos, provocando hemorragia e dor (Ding *et al.*, [s.d.]; Kolli, 2015).

De forma geral, as microagulhas podem ser classificadas em 5 categorias: sólidas, revestidas, solúveis, ocas e formadas por hidrogel.

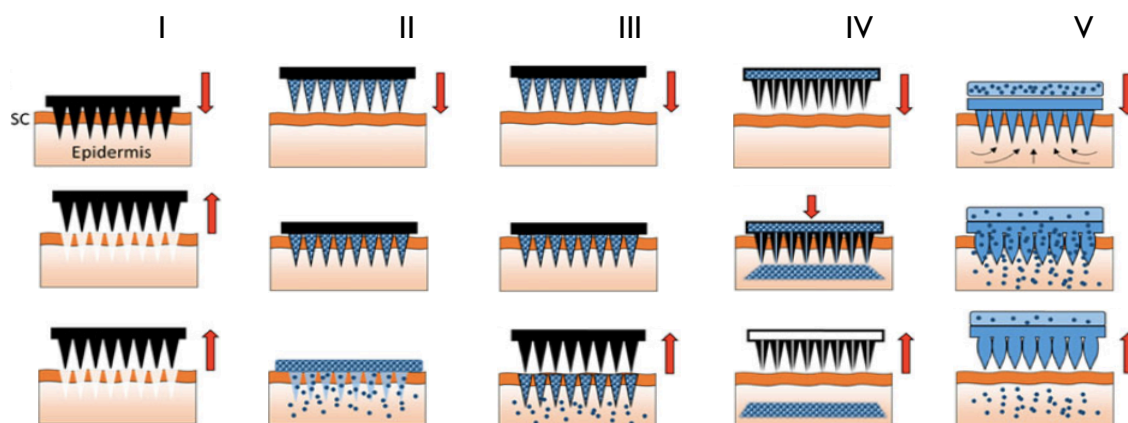


Imagem I – Tipos de microagulhas e mecanismos de ação.

I- Microagulhas sólidas, II- Microagulhas solúveis, III- Microagulhas revestidas, IV- Microagulhas ocas e V- Microagulhas formadas por hidrogel

Imagem adaptada de Larrañeta *et al.*, 2016

4.1.1. MICROAGULHAS SÓLIDAS

As microagulhas sólidas foram o primeiro tipo desenvolvido para administração de fármacos por via transdérmica (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013). Estas são utilizadas para pré-tratamento da pele, aumentando a sua permeabilidade e facilitando a administração do fármaco. Quando aplicadas na superfície da pele criam microcanais por onde os fármacos são transportados por difusão passiva, após a remoção da microagulha. Os fármacos podem ser aplicados através de um sistema transdérmico convencional ou utilizando formulações tópicas como pomadas, cremes, géis ou loções (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Larrañeta *et al.*, 2016; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

O processo de fabrico de microagulhas depende do material escolhido para a sua produção, que necessita de conferir à agulha força mecânica suficiente para a sua inserção na pele (Kim, Park e Prausnitz, 2012). As primeiras microagulhas sólidas foram produzidas a partir de silício, utilizando técnicas de microprodução. Atualmente são utilizados diversos materiais como, polímeros, metais, vidro e cerâmica (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Vários estudos demonstram a eficácia destas microagulhas no aumento da permeabilidade de diversas moléculas até quatro ordens de grandeza, incluído compostos de baixo peso molecular, como a calceína, e macromoléculas como a insulina e a BSA (albumina sérica bovina). No entanto, a difusão passiva dos fármacos através dos microcanais nem sempre resultou numa elevada biodisponibilidade do fármaco (Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Após a remoção das microagulhas é extremamente importante que os microporos por elas formados se mantenham abertos até à administração do fármaco. Estudos efetuados revelam que os microporos residuais, quando sob oclusão, permanecem abertos durante mais de 24 horas, mas que quando descobertos fecham em menos de 2 horas. Desta forma é permitida a administração de fármacos sem que haja um risco de infeção acrescido, pela permanência da abertura dos microporos por longos períodos de tempo (Arora, Prausnitz e Mitragotri, 2008; Kim, Park e Prausnitz, 2012; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

As microagulhas sólidas podem ser utilizadas para aumentar a permeação por um método alternativo, que não implica a sua penetração nos tecidos. Nesta estratégia, as microagulhas são “raspadas” contra a pele de modo a provocar microabrasões na sua superfície, onde de seguida é aplicada a formulação com o fármaco (Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

4.1.2. MICROAGULHAS REVESTIDAS

As microagulhas revestidas são microagulhas sólidas revestidas com uma formulação que contém o fármaco a administrar, funcionando não só como um sistema para aumento de permeabilidade, mas também como um veículo para administração de fármacos. Após a sua inserção na pele, o revestimento é rapidamente dissolvido libertando o fármaco nos tecidos. Estes dispositivos oferecem a vantagem de permitir a administração de fármacos de forma mais simples e numa única etapa, ao contrário das microagulhas sólidas (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

O uso das microagulhas revestidas tem mostrado ser bastante promissor no transporte de macromoléculas, como vacinas, proteínas, péptidos e ácido desoxirribonucleico (DNA), através do SC. No entanto, as microagulhas conseguem apenas ser revestidas com uma pequena quantidade de fármaco, o que limita bastante a dose de fármaco que pode ser administrada. Assim, a utilização das microagulhas revestidas está limitada a fármacos potentes, de modo a assegurar uma dose de fármaco ideal, sem comprometer a força mecânica da agulha, necessária para a penetração na pele (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013). Para além disso, a otimização dos métodos de revestimento e das características da formulação sofrem de problemas como garantir a consistência, a uniformidade, a reprodutibilidade e a estabilidade das microagulhas, tentando também minimizar as perdas de fármaco durante o processo de revestimento (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

As microagulhas revestidas podem ser fabricadas a partir de metal ou silício por diversos métodos que normalmente envolvem imergir ou pulverizar as microagulhas numa solução aquosa (Kim, Park e Prausnitz, 2012). O método mais simples, o *dip-coating*, engloba duas etapas. Primeiro a microagulha é mergulhada e retirada da solução de revestimento, levando à formação de um filme líquido na sua superfície. No segundo passo a microagulha é seca levando à conversão do filme líquido num revestimento sólido (Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012). É também possível efetuar um revestimento localizado da microagulha, apenas na sua ponta. Nestes casos esta pode ser mergulhada em micropoços individuais para cada microagulha ou mesmo num filme fino de solução de revestimento localizado na superfície de um *roller* (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

Recentemente foi desenvolvido o método de revestimento *layer-by-layer*, onde a microagulha é alternadamente mergulhada em duas soluções com solutos de cargas opostas, formando uma multicamada de polieletrólito. Esta técnica é normalmente utilizada para revestir DNA e proteínas e oferece a vantagem obter revestimentos muito finos, preservando melhor a geometria e a acuidade da microagulha (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012). Outros métodos de revestimento consistem na pulverização das microagulhas com um atomizador (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

As formulações para revestimento das microagulhas têm de ter em conta diversos fatores como a tensão superficial e a viscosidade da solução. Uma diminuição da tensão superficial, por adição de um surfatante, e um aumento da viscosidade da solução, levam a

um melhor humedecimento da microagulha e permitem que esta retenha uma maior quantidade de formulação resultando isto num revestimento uniforme e de espessura apropriada. A formulação deve ser solúvel em água de modo a permitir uma dissolução rápida e completa na pele, que apresenta um ambiente aquoso. Nalguns casos pode também ser necessário adicionar um agente estabilizante à formulação, de modo a garantir a estabilidade do fármaco, durante a secagem e armazenamento. Por fim, é importante que o revestimento seco apresente força mecânica suficiente para se manter aderente à microagulha durante a sua aplicação (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Para além da otimização das formulações, o *design* das microagulhas tem também sofrido melhorias, incluindo o desenvolvimento de *groove-embedded microneedles*, microagulhas com ranhuras incorporadas que permitem que uma maior quantidade de formulação seja revestida, e *pocketed microneedles*, que facilitam o direcionamento do fármaco na pele e permitem a utilização de revestimentos líquidos (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

Na administração de vacinas, as reduzidas doses de fármaco que podem fazer parte do revestimento não se tornam um problema, pois pequenas quantidades de antígeno são suficientes para desencadear uma resposta imunitária. Para além disso, o armazenamento das vacinas num revestimento sólido das microagulhas confere-lhes uma maior estabilidade, permitindo ultrapassar os problemas de estabilidade associados ao armazenamento de vacinas na forma injetável (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

4.1.3. MICROAGULHAS SOLÚVEIS

As microagulhas solúveis são fabricadas utilizando micromoldes preenchidos com soluções de polímeros ou hidratos de carbono, polímeros ou hidratos de carbono no estado líquido, que solidificam no molde, ou por polimerização *in situ* dos monómeros líquidos no molde (Kim, Park e Prausnitz, 2012). O baixo custo dos materiais poliméricos utilizados para o fabrico destas microagulhas, e o fato da sua produção ser relativamente fácil, a partir de técnicas de *micromoulding*, tornam este sistema para administração de fármacos extremamente apelativo (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

No entanto, o desenvolvimento destes dispositivos apresenta também alguns obstáculos. A integração de uma elevada quantidade de fármaco na formulação pode comprometer a força mecânica da microagulha. Para além disso, a estabilidade do fármaco pode ser afetada pelos processos de fabrico, por exemplo quando estes utilizam elevadas

temperaturas para facilitar a fusão do polímero. Deste modo, para permitir a encapsulação de fármacos mais sensíveis, como proteínas e antígenos, foi necessário encontrar métodos de fabrico alternativos, que evitem utilizar elevadas temperaturas e solventes orgânicos. Alguns destes métodos envolvem técnicas de centrifugação e vácuo, não danificando assim a atividade dos fármacos (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Como foi dito anteriormente, a escolha do material para o fabrico das microagulhas é de extrema importância, pois vai determinar o perfil de dissolução do fármaco a administrar (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013). Microagulhas formuladas a partir de hidratos de carbono normalmente libertam o fármaco rapidamente após inserção. Para contornar este problema, no caso de ser necessária uma libertação mais prolongada, foi desenvolvida uma microagulha na qual o fármaco está incorporado não nas pontas das microagulhas, mas na base destas, que funciona como um reservatório de libertação controlada, onde o fármaco é libertado devido ao intumescimento da base com o fluido intersticial e devido a canais formados pela dissolução da microagulha (Hong *et al.*, 2013).

A utilização de polímeros, por sua vez, permite que a libertação do fármaco seja muito mais prolongada, podendo durar até meses. Contudo, estas microagulhas necessitam de permanecer na pele vários dias para que a degradação do polímero e a libertação prolongada do fármaco sejam eficazes. De modo a diminuir este tempo de permanência, foi desenvolvida uma microagulha com uma ponta em forma de flecha, onde é encapsulado o fármaco. Após inserção na pele a ponta separa-se da restante microagulha permanecendo na pele para posterior dissolução e libertação do fármaco (Hong *et al.*, 2013; Kim, Park e Prausnitz, 2012).

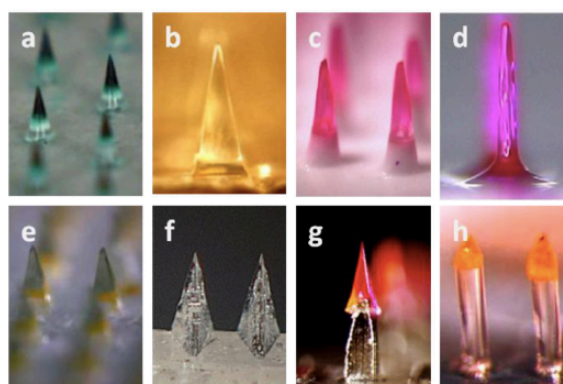


Imagem 2 – Microagulhas solúveis fabricadas a partir de polímeros.
Imagem adaptada de Larrañeta *et al.*, 2016.

4.1.4. MICROAGULHAS OCAS

As microagulhas ocas estabelecem um canal para a administração de fármacos, a partir de um orifício presente na microagulha, de forma semelhante às agulhas hipodérmicas. Estas microagulhas são fabricadas principalmente a partir de silício e metal, podendo também ser utilizados polímeros, cerâmicas e vidro oco (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013). A injeção da formulação líquida é feita através de um fluxo contínuo, que pode ser modulado para uma injeção rápida ou para uma infusão mais lenta (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

A entrega do fármaco através do canal da microagulha pode ser feita por transporte passivo ou por transporte ativo. Este último obriga a que seja aplicada uma força motora, através de pressão. Assim, combinando a microagulha a um aplicador com uma seringa, a uma bomba infusora ou a gás pressurizado, é possível controlar a velocidade da infusão do fármaco do reservatório para a pele. O fármaco a administrar pode também ser introduzido num reservatório flexível, que ao ser pressionado manualmente contra a pele, liberta a formulação (Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

Atualmente, as microagulhas ocas podem ser apresentadas com dois modelos distintos: um sistema constituído apenas por uma microagulha ou um sistema onde múltiplas microagulhas são inseridas numa matriz. O último, apresenta a vantagem de permitir a entrega simultânea da formulação a uma maior área e, nalguns casos, mais rapidamente do que uma injeção subcutânea, com maior biodisponibilidade e com a possibilidade de direcionar o fármaco para os vasos linfáticos (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

As vantagens deste sistema são imensas. A injeção da formulação através de um fluxo controlado permite a administração de uma quantidade muito superior de fármaco e de forma mais rápida do que os restantes sistemas de microagulhas. É também possível um maior controlo das doses a administrar, de acordo com as necessidades de cada utente e ajustar as velocidades de infusão ao longo do tempo. Para além disso, a utilização de formulações líquidas possibilita a utilização de injetáveis já existentes, sem ser necessária a sua reformulação (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Uma limitação deste sistema prende-se ao facto de as taxas de infusão serem bastante mais baixas do que as conseguidas com outros métodos de administração de injetáveis. No entanto, através de uma retração parcial da microagulha após a sua inserção ou adicionando hialuronidase à formulação (enzima capaz de despolimerizar o ácido

hialurónico presente nas fibras de colagénio, diminuído a resistência dos tecidos) é possível contornar este problema (Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

A utilização das microagulhas ocas é também dificultada por possíveis obstruções nos orifícios dos canais das microagulhas pelos tecidos, durante a sua inserção. De forma a ultrapassar este obstáculo é possível alterar a estrutura da microagulha, fazendo localizar o orifício do canal na parte lateral da sua ponta, em vez de no extremo da ponta. Para além de solucionar o problema, esta inovação no *design* da microagulha aumenta também a área de exposição do fármaco ao tecido retendo a acuidade da ponta da microagulha (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Para além da sua aplicação na administração de fármacos, as microagulhas ocas foram também desenvolvidas para extração de amostras biológicas. Microagulhas de vidro e silício são utilizadas para extrair fluido intersticial e microagulhas de aço inoxidável permitem a recolha de sangue (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

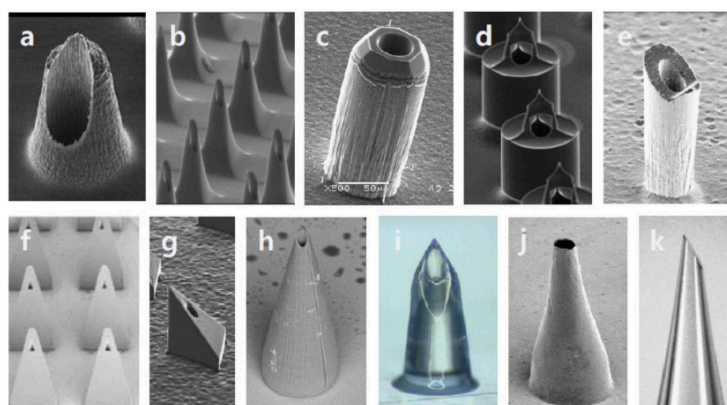


Imagem 3 – Microagulhas ocas fabricadas a partir de silício e de polímeros.
Imagem adaptada de Larrañeta *et al.*, 2016.

4.1.5. MICROAGULHAS FORMADAS POR HIDROGEL

As microagulhas formadas por hidrogel formam um sistema integrado que consiste num conjunto de microagulhas poliméricas projetadas a partir de uma base sólida, anexada a um reservatório em forma de adesivo que contém o fármaco a administrar. Quando aplicado sobre a pele, as microagulhas absorvem fluido intersticial intumescendo formando canais contínuos de hidrogel, que permitem a libertação e difusão das moléculas de fármaco, do reservatório para a pele (Donnelly *et al.*, 2012; Larrañeta *et al.*, 2016; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Estas microagulhas são fabricadas a partir de uma mistura de polímeros aquosos por processos que envolvem micromoldes de silício. Podem ser produzidas em adesivos com

uma elevada variedade de tamanhos e com microagulhas de diferentes geometrias. Devido ao processo ser realizado em temperatura ambiente, estas microagulhas podem ser utilizadas para administrar fármacos termosensíveis, como proteínas e péptidos (Donnelly *et al.*, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Estudos demonstraram a capacidade deste sistema administrar não só pequenas moléculas hidrofílicas, mas também compostos de elevado peso molecular, numa dose que não se limita à quantidade de fármaco que pode ser integrado nas microagulhas em si. A libertação do fármaco pode também ser facilmente controlada através da modulação da densidade da matriz de hidrogel, permitindo personalizar a administração de fármacos com diferentes janelas terapêuticas (Donnelly *et al.*, 2012; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Após a administração, estas microagulhas conseguem ser removidas da pele de forma intacta, sem deixar quaisquer resíduos poliméricos. Esta característica pode representar uma vantagem em relação às microagulhas solúveis pois, apesar dos materiais poliméricos que as constituem apresentarem um perfil de segurança bem estabelecido, estes nunca foram administrados intradermicamente, não havendo informação acerca do seu metabolismo e eliminação (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Esta tecnologia apresenta o potencial de ultrapassar as limitações dos *designs* convencionais das microagulhas e aumentar consideravelmente a gama de fármacos passíveis de serem administrados transdermicamente. Ao contrário das microagulhas ocas, com a aplicação das microagulhas formadas por hidrogel não há obstrução dos canais das microagulhas pelos tecidos da derme, havendo um melhor controlo da libertação do fármaco e, conseqüentemente, da dose administrada. Estas microagulhas permitem também a administração de quantidades superiores de fármaco, em relação às microagulhas revestidas, sem apresentarem os seus problemas de revestimento e controlando melhor a extensão e a velocidade de libertação do fármaco (Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

4.2. SEGURANÇA E ADESÃO DO DOENTE

As microagulhas são sistemas minimamente invasivos concebidos com o objetivo de oferecer um método alternativo, mais seguro, para a administração de fármacos. Assim sendo, é necessário ter em consideração vários fatores relacionados com a sua segurança, que poderão afetar a aceitabilidade e conseqüentemente, a adesão da população (Prausnitz, Avenue e View, 2009).

Em estudos de *focus groups*, as microagulhas foram geralmente recebidas de uma forma positiva pelo público geral e pelos profissionais de saúde, em comparação com as agulhas hipodérmicas. Alguns dos benefícios reconhecidos foram os baixos índices de dor, de danos nos tecidos e de risco de infecção, assim como a possibilidade de auto-administração. As principais preocupações focaram-se no início de ação retardado, custo, risco de infecção, dosagem precisa e reprodutível e no potencial de uso indevido (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Prausnitz, Avenue e View, 2009).

4.2.1. DOR

Apesar da dor não ser exatamente uma questão de segurança, esta afeta consideravelmente a aceitação por parte dos utentes e a perceção de segurança (Prausnitz, Avenue e View, 2009).

Estudos iniciais em humanos demonstraram que a inserção de microagulhas com comprimentos de 50 µm a 200 µm e integradas numa matriz composta por até 4000 microagulhas, são geralmente consideradas indolores (Prausnitz, Avenue e View, 2009). Estudos mais detalhados revelaram que o comprimento das microagulhas se correlaciona fortemente com a dor induzida, sendo que, um aumento do comprimento equivalente a três vezes o tamanho inicial das microagulhas resulta numa dor sete vezes superior em indivíduos vendados. Neste estudo foi também identificado que um número superior de microagulhas numa matriz, resulta num aumento da dor percecionada, mas que variações na largura, espessura e ângulo das microagulhas, pouco afetam este fator, dentro da gama das condições avaliadas (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Prausnitz, Avenue e View, 2009).

Alguma dor provocada pelas microagulhas ocas tanto pode ser devida à inserção da agulha como à infusão do líquido durante a injeção, sendo que um estudo em humanos demonstrou que a inserção de uma microagulha a uma profundidade da pele até 1 mm, não foi geralmente percecionada como dolorosa (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

Finalmente, em todos os estudos efetuados, as microagulhas induziram significativamente menos dor do que as agulhas hipodérmicas de controlo (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

4.2.2. INFEÇÃO

É importante considerar se os poros residuais na pele resultantes das microagulhas poderão levar a infeções. Todos os estudos até à data são consistentes na previsão de que uma infeção na pele após um tratamento com microagulhas é extremamente improvável,

sendo que não foi relatado nenhum caso em mais de 7.000 pessoas que já integraram estes estudos (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Prausnitz, Avenue e View, 2009). É importante referir que todos estes estudos foram realizados em indivíduos saudáveis e que, previamente à aplicação das microagulhas, a pele era tipicamente desinfetada. Assim sendo, é desconhecido o potencial da ocorrência de infecções com o uso generalizado ou em doentes imunologicamente comprometidos (Prausnitz, Avenue e View, 2009).

4.2.3. IRRITAÇÃO DA PELE

As microagulhas podem causar irritação da pele, principalmente na forma de eritema ligeiro e localizado. Esta reação transitória normalmente desaparece dentro de horas ou, em alguns casos, dias. A sua intensidade foi correlacionada com o comprimento da microagulha, sendo que microagulhas de 400 μm originaram um maior eritema e fluxo sanguíneo do que microagulhas de 200 μm . Foi também observado edema no local da injeção, no entanto não se pensa que este seja devido a uma reação inflamatória, mas sim evidência da bolha de fluido injetada na pele, também característica das injeções intradérmicas convencionais (Kim, Park e Prausnitz, 2012).

A administração de vacinas apresenta uma complexidade adicional relacionada com a resposta imune local. Numa vacinação contra o vírus influenza utilizando uma microagulha oca em sujeitos humanos, foi observada uma maior reação inflamatória local em comparação com a injeção hipodérmica. Isto poderá ser devido à administração na superfície da pele, que torna as reações inflamatórias mais visíveis ao contrário das que ocorrem num tecido mais profundo. Com a vacinação foi também observado um aumento da reação inflamatória durante a revacinação em relação à primeira imunização, o que poderá indicar uma reação de hipersensibilidade retardada (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Prausnitz, Avenue e View, 2009).

4.2.4. HEMORRAGIA

A epiderme não é um tecido vascularizado e os capilares sanguíneos mais periféricos encontram-se na derme superior. Por esta razão, uma microagulha que penetre a pele mais de 100 μm poderia atingir os capilares. Apesar disso, na maioria dos estudos realizados em humanos, não foi observada hemorragia após tratamento com microagulhas de 500 μm a 1000 μm de comprimento. No entanto, têm sido relatadas pequenas gotículas de sangue na pele após a inserção de microagulhas de 1,5 mm (Prausnitz, Avenue e View, 2009).

5. ESTRATÉGIAS COMPLEMENTARES PARA PERMEAÇÃO DA PELE

A utilização de microagulhas em conjunto com outras estratégias para aumento da permeação cutânea, como a iontoforese, sonoforese e a eletroporação, tem sido estudada com o objetivo de facilitar o transporte de fármacos através da pele. Estas estratégias, quando combinadas com as microagulhas, demonstraram um efeito sinérgico, resultando numa melhoria significativa da administração de fármacos por via transdérmica ou intradérmica, em comparação com o seu uso individual (Kolli, 2015; Tuan-Mahmood *et al.*, 2013).

Na iontoforese é aplicada uma corrente elétrica de baixa voltagem ($0,5 \text{ mA/cm}^2$) que promove o transporte de fármacos por gradiente de potencial eletroquímico. O aumento da permeação cutânea com a sonoforese é conseguido através da aplicação de energia de ultrassons e na eletroporação é aplicada uma corrente elétrica pulsátil de alta voltagem durante microssegundos ou milissegundos (Alexander *et al.*, 2012; Sadhna, Nagpaal e Chawla, 2015).

A iontoforese pode ser aplicada em pele pré-tratada com microagulhas, tornando possível a administração de macromoléculas através da pele com controlo preciso do fluxo transdérmico. Num estudo foi possível a administração de nanovesículas contendo insulina em ratos diabéticos. Outras moléculas como a heparina de baixo peso molecular e oligonucleóticos antisense foram também administradas combinando estas duas técnicas. A iontoforese apresenta a desvantagem de poder causar irritação na pele (Kolli, 2015; Maaden, Van Der, Jiskoot e Bouwstra, 2012).

6. APLICAÇÕES DAS MICROAGULHAS

Quando as microagulhas foram inicialmente introduzidas para administração de fármacos, o seu objetivo principal era aumentar a permeabilidade da pele, através das microagulhas sólidas, ou desenvolver microagulhas ocas que oferecessem uma vantagem funcional em relação às agulhas hipodérmicas convencionais. Atualmente as microagulhas estão a ser investigadas para um vasto leque de aplicações, desde aumento da permeação cutânea, administração de produtos biofarmacêuticos, cosméticos e vacinas, até à extração de fluidos biológicos (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Kolli, 2015).

6.1. VACINAÇÃO

A administração de vacinas é uma das aplicações mais promissoras das microagulhas. Uma vacina ideal deve ser segura, económica e eficiente após uma única dose, sendo que a forma como esta é administrada pode afetar significativamente estes fatores através do procedimento, dose de antigénio necessária, aceitação por parte do utente e e segurança (Lambert e Laurent, 2008).

Como já foi dito anteriormente, a pele é rica em células do sistema imunitário e a entrega do antigénio diretamente na epiderme ou derme, às LCs ou DDCs tem o potencial de indução de uma resposta imunológica comparativa a outras vias de administração, com uma menor dose antigénica. Para além disso, as microagulhas são um sistema minimamente invasivo que não provoca dor significativa, podendo oferecer uma importante vantagem na aceitação por parte dos pacientes (Hirobe *et al.*, 2013; Prausnitz, Avenue e View, 2009).

As microagulhas oferecem várias vantagens que poderão ser benéficas durante uma pandemia, como uma administração mais simples, incluído a possibilidade de autoadministração, a possibilidade de distribuição mais rápida e uma maior facilidade de armazenamento e de eliminação e menores custos de produção (Hirobe *et al.*, 2013; Prausnitz, Avenue e View, 2009).

6.2. OUTRAS APLICAÇÕES

6.2.1. BIOFARMACÊUTICOS

Os produtos biofarmacêuticos são normalmente moléculas de elevado peso molecular que não são facilmente administrados transdermicamente, sendo convencionalmente administrados a partir de injeções hipodérmicas. A administração destes produtos normalmente requer baixas doses, na ordem dos microgramas, sendo possível o seu encapsulamento ou a sua integração em revestimentos de microagulhas. Dentro destes produtos, a insulina tem recebido uma elevada atenção com resultados de estudos promissores. Outras moléculas como a desmopressina, a heparina de baixo peso molecular, a eritropoítina e a hormona da paratiroide (PTH) têm também sido estudadas. Finalmente, o transporte de DNA e ácido ribonucléico de interferência curto (siRNA) também já foi realizado através de microagulhas (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Kolli, 2015).

6.2.2. PRODUTOS COSMÉTICOS

Vários produtos baseados em microagulhas têm sido usados para aplicações cosméticas em todo o mundo. O Dermaroller[®] (mi.to.pharm GmbH, Alemanha) é um produto na forma de um rolo cilíndrico cuja superfície é coberta com microagulhas sólidas de metal com comprimentos de 0,2 mm a 2,5 mm. É utilizado para melhorar a textura da pele podendo também ser utilizado no tratamento de cicatrizes e em casos de hiperpigmentação da pele. O Scalproller[®] é um produto da Nanogen (EUA) para o tratamento da queda de cabelo. Um adesivo de microagulhas solúveis contendo ácido hialurônico, MicroHyal[®], foi também desenvolvido para o tratamento de rugas e o Cosmetics-SPE[™] (Nanomed Skincare, Inc, USA) foi concebido para o tratamento do acne (Kolli, 2015).

6.2.3. EXTRAÇÃO DE FLUIDOS BIOLÓGICOS

A microagulhas têm sido usadas principalmente para a administração de fármacos na pele, no entanto, vários estudos apontam para a possibilidade da sua utilização como uma ferramenta de diagnóstico, a partir da extração de analitos da pele, como fluido intersticial e sangue. Estes podem ser analisados externamente ou analisados *in situ*, a partir da integração de um sensor à microagulha. Concentrações de glucose podem ser analisadas a partir de fluido intersticial extraído da pele pré-tratada com microagulhas. É também possível a monitorização dos níveis de glucose utilizando sistemas de diagnóstico integrados, que incluem microagulhas, a partir de sangue extraído da pele. Foi também desenvolvida uma microagulha para a colheita seletiva de analitos abaixo de um determinado peso molecular durante a microdiálise. Outro método tornou possível, através da modificação da superfície das microagulhas, a ligação específica destas a biomarcadores de interesse, extraíndo seletivamente os compostos para análise (Kim, Park e Prausnitz, 2012; Kolli, 2015).

7. INTANZA[®]/ IDflu[®]

A Intanza[®] é uma vacina sazonal trivalente inativada para o vírus influenza produzida pela Sanofi Pasteur. Foi a primeira vacina contra o vírus Influenza para administração intradérmica (ID) a ser lançada no mercado, em Fevereiro de 2009. É administrada intradermicamente através de um sistema de microinjeção, Soluvia[®], desenvolvido pela BD (Becton, Dickinson and Company) (Atmar, Patel e Keitel, 2010; Latest *et al.*, 2009). O sistema de microinjeção é constituído por uma agulha de 1,5 mm de comprimento e de calibre 30, fixada a uma base que limita a profundidade de inserção da microagulha, e que foi

concebida especificamente de modo a minimizar as fugas de líquido no local da injeção, assegurando também a inserção correta da microagulha na derme, perpendicularmente à superfície da pele (Holland *et al.*, 2008; Laurent *et al.*, 2007). A microagulha está associada a uma seringa de vidro pré-cheia com a dose da vacina a injetar e apresenta um sistema de proteção da microagulha, que é acionado manualmente após a injeção e cobre a microagulha, evitando ferimentos e contaminações acidentais e impedindo a reutilização do sistema para outros fins (Atmar, Patel e Keitel, 2010; Lambert e Laurent, 2008; Laurent *et al.*, 2007).

Foram aprovadas para comercialização duas dosagens diferentes, uma com 9 µg de antígeno por estirpe, indicada para adultos de 18 a 59 anos e uma de 15 µg de antígeno por estirpe, indicada para adultos a partir dos 60 anos de idade (Atmar, Patel e Keitel, 2010; Latest *et al.*, 2009).

Num estudo realizado por R. Arnou *et al.* foi comparada a imunogenicidade e a segurança da vacina ID de 15 µg, administrada em 3 épocas de gripe consecutivas, com a vacina IM convencional, em adultos com mais de 60 anos. A vacina ID desencadeou uma resposta imune seroprotetora significativamente superior quando comparada com a vacina IM convencional com a mesma dose de antígeno. Esta resposta superior foi ainda mais suportada pelas taxas de seroproteção consistentemente superiores no segundo e terceiro ano de vacinação (Arnou *et al.*, 2009).

A vacina de 9 µg para adultos até 59 anos, por sua vez, demonstrou ser tão imunogénica quanto a vacina IM convencional, com uma dose antigénica inferior, segundo um ensaio clínico de fase III realizado por R. Arnou *et al.* Neste estudo foi também demonstrada a consistência imunogénica nos vários lotes da vacina ID, confirmando a robustez e fiabilidade do processo de produção (Arnou *et al.*, 2014).

O perfil de segurança desta vacina foi também estudado em comparação com a vacina convencional IM para o vírus influenza, sendo que o perfil de reações sistémicas solicitadas e a incidência e tipo de efeitos adversos espontâneos reportados, foram semelhantes nos dois grupos de vacinas e em linha com o perfil de segurança conhecido de vacinas inativadas de influenza. As reações associadas ao local de injeção foram mais frequentes e mais visíveis nas vacinas ID, principalmente eritema, inchaço, endurecimento e prurido ligeiro. Este aumento das reações locais era esperado tendo em conta os diferentes locais de administração das vacinas ID e IM (à superfície da pele versus no músculo profundo), e não foram associadas a um aumento da dor no local da injeção, que ocorreu de

forma semelhante nos dois grupos, com uma tendência para taxas menores no grupo intradérmico (Arnou *et al.*, 2009, 2014). Estas reações transitórias desaparecem em poucos dias e a sua frequência e gravidade não aumentam com administrações sucessivas da vacina (Arnou *et al.*, 2009, 2014; Beran *et al.*, 2009). Para além disso, o comprimento da microagulha garante a sua inserção precisa na derme, independentemente das características físicas do utente (idade, género, etnia, índice de massa corporal), permitindo que o antigénio seja depositado de forma rigorosa e consistente e eliminando o risco de danos ao nível dos nervos e vasos sanguíneos associados às vacinas IMs (Arnou *et al.*, 2009; Lambert e Laurent, 2008; Laurent *et al.*, 2007).

Adicionalmente aos benefícios imunológicos e de segurança, esta vacina apresenta também vantagens no ponto de vista da facilidade de utilização. O sistema de microinjeção Soluvia[®] demonstrou ser simples e intuitivo, não sendo necessário treino específico para uma injeção com sucesso e oferecendo um conforto adicional para os utentes e vacinadores (Laurent *et al.*, 2007).

Em conclusão, o sistema inovador de microinjeção pré-cheio Intanza[®] permitiu ultrapassar as dificuldades técnicas que têm limitado a administração de vacinas por via ID, trazendo inúmeras vantagens que têm o potencial de contribuir para o objetivo da WHO (Organização Mundial da Saúde) de melhorar a taxa de cobertura da vacinação da influenza em idosos e na população mais jovem, reduzindo assim a carga económica e de saúde pública da gripe (Arnou *et al.*, 2014; Lambert e Laurent, 2008).

8. MICROAGULHAS EM DESENVOLVIMENTO

Atualmente, uma série de dispositivos com microagulhas, estão a ser desenvolvidos por várias empresas com o intuito de virem a ser comercializados.

A 3M[®] desenvolveu dois sistemas de microagulhas, o Sistema de microagulhas sólidas (sMTS[®]), que pode ser revestido com o fármaco a administrar, e o sistema de microagulhas ocas (hMTS[®]) para a administração de formulações líquidas. O sMTS[®] permite o revestimento de moléculas relativamente potentes que possam ser depositadas nas pontas das microagulhas, até 300 µg. O hMTS[®] permite a administração de formulações até 2 ml na camada da derme. Este sistema é constituído por um disco polimérico com 12 microagulhas ocas de 1500 µm de comprimento ligadas a um cartucho de vidro com a formulação. A formulação é injetada pela força de uma mola mecânica. Em vários estudos pré-clínicos

efetuados com estes dispositivos os resultados obtidos foram bastante promissores (Dick, 2015).

O Micron-Jet600[®], desenvolvido pela NanoPass é um dispositivo constituído por três microagulhas ocas de silicone com 600 µm de comprimento, no qual pode ser inserida uma seringa permitindo a administração de qualquer formulação líquida numa seringa convencional diretamente na derme da pele. Num estudo realizado em 2010, foi avaliada a capacidade deste dispositivo aumentar a imunogenicidade da vacina sazonal contra a influenza com 20 % (3 µg HA/estirpe) e 60 % (9 µg HA/estirpe) da dose da vacina IM convencional. Foi demonstrado que a dose de 3 µg, administrada através do Micron-Jet600 induziu as taxas de seroproteção mais elevadas e significativamente superiores à vacina administrada IM. Não se observaram diferenças significativas na resposta imunitária entre os dois grupos ID (Levin *et al.*, 2015).

O ZP patch[®] (Zozano Pharma), anteriormente designado de Macroflux[®] é um adesivo transdérmico com um conjunto de microagulhas de titânio revestidas com a formulação de fármaco a administrar. Este sistema dispõe também de um aplicador manual que garante a aplicação correta do adesivo na pele. Este adesivo tem sido alvo de vários estudos, que demonstraram a eficácia e flexibilidade do sistema de administração, e também a sua capacidade de administrar uma grande variedade de compostos, desde pequenas moléculas a proteínas, péptidos e vacinas. Adicionalmente, este produto foi também testado clinicamente em vários ensaios de fase I e fase II demonstrando eficácia e boa tolerância na pele (Zozanopharma, 2016).

O Debioject[™], desenvolvido pela Debiotech S.A. é um sistema que permite a injeção de qualquer formulação líquida, até 500 µl na derme. É composto por dois elementos principais: uma ou um conjunto de microagulhas ocas com um reservatório contendo o fármaco a administrar, e um aplicador que assegura a inserção das microagulhas com a correta profundidade e as mantém em posição durante toda a injeção. Atualmente, está a decorrer um estudo que compara a injeção da vacina da raiva (Vaccin rabique, Sanofi Pasteur) administrada intramuscularmente, intradermicamente, pela técnica de Mantoux e intradermicamente, utilizando o Debioject[™]. Resultados até agora disponibilizados mostraram ser favoráveis para a administração utilizando o sistema de microagulhas. A introdução da agulha foi considerada menos dolorosa com o Debioject[™] e a dor associada à injeção da formulação foi semelhante na via ID, com o Debioject[™], e IM, tendo sido substancialmente mais baixa do que com a técnica de Mantoux (Vescovo *et al.*, 2014).



Imagem 4 – Sistemas de microagulhas no mercado e em desenvolvimento.

I - Intanza[®]/ IDflu[®], II - Debioject[™], III – Micron-Jet600[®], IV - hMTS[®], V - ZP patch[®]

9. CONCLUSÃO

As microagulhas são pequenas estruturas que ao serem introduzidas na pele criam microporos transitórios aumentando a permeabilidade do SC e facilitando a administração de fármacos a partir da via transdérmica e intradérmica. A administração de vacinas a partir destas vias é bastante promissora devido à fácil acessibilidade da pele e à presença de um elevado número de células do sistema imunitário que esta apresenta. Para além disso, as microagulhas permitem ultrapassar muitas das limitações associadas ao uso de agulhas hipodérmicas, na via IM e subcutânea, como a necessidade de administração por profissionais de saúde, a dor e fobia associadas a agulhas e o risco de contaminações acidentais e devido à reutilização indevida das agulhas.

Com o desenvolvimento de tecnologias de microfabrico, o campo das microagulhas tem evoluído drasticamente nos últimos 20 anos. Atualmente, as microagulhas são produzidas com diferentes *designs* e geometrias através de diversos métodos utilizando uma grande variedade de materiais, como silício, metal, hidratos de carbono, vidro, cerâmica e vários polímeros. As microagulhas sólidas, revestidas, ocas, solúveis e formadas por hidrogel podem ser utilizadas para diversas aplicações como para fins cosméticos e para a administração de fármacos biofarmacêuticos e vacinas. As últimas duas microagulhas podem ainda ser utilizadas como ferramentas de diagnóstico, através da extração de fluidos biológicos da pele.

Para além de segura e eficaz, a vacinação a partir de microagulhas oferece várias vantagens que não só facilitam o processo das vacinações sazonais de influenza, devido à maior simplicidade do método de administração e possibilidade de autoadministração, mas que poderão também ser benéficas durante campanhas de vacinação em massa, principalmente em países em desenvolvimento. A necessidade de menores quantidades de antígeno vai diminuir o tempo necessário à sua produção, que durante uma pandemia se torna um fator limitante, e o reduzido tamanho dos sistemas de microagulhas vão permitir uma distribuição mais rápida e um armazenamento facilitado das vacinas.

Atualmente, já foi introduzida no mercado a primeira vacina associada a um sistema de microagulhas, a Intanza[®]. Esta vacina contra o vírus da Influenza utiliza uma microagulha oca e demonstra uma maior eficácia e segurança do que a vacina IM convencional. Muitos outros sistemas de microagulhas estão também em desenvolvimento, como o Debioject[™], o Micron-Jet600[®], o ZP patch[®], o hMTS[®] e o sMTS[®], e demonstram elevada promessa para a administração de vacinas.

10. BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER, Amit *et al.* - Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. **Journal of Controlled Release**. . ISSN 01683659. 164:1 (2012) 26–40. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.09.017.

ARNOU, Robert *et al.* - Intradermal influenza vaccine for older adults: A randomized controlled multicenter phase III study. **Vaccine**. . ISSN 0264410X. 27:52 (2009) 7304–7312. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.10.033.

ARNOU, Robert *et al.* - Immunogenicity, large scale safety and lot consistency of an intradermal influenza vaccine in adults aged 18–60 years: Randomized, controlled, Phase III trial. **Human Vaccines**. . ISSN 1554-8600. 6:4 (2014) 346–354. doi: 10.4161/hv.6.4.10961.

ARORA, Anubhav; PRAUSNITZ, Mark R.; MITRAGOTRI, Samir - Micro-scale devices for transdermal drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. ISSN 03785173. 364:2 (2008) 227–236. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.08.032.

ATMAR, R. L.; PATEL, S. M.; KEITEL, W. A. - Intanza((R)): a new intradermal vaccine for seasonal influenza. **Expert Rev Vaccines**. . ISSN 1744-8395 (Electronic). 9:12 (2010) 1399–1409. doi: 10.1586/erv.10.134.

BERAN, Jiri *et al.* - Intradermal influenza vaccination of healthy adults using a new microinjection system: a 3-year randomised controlled safety and immunogenicity trial. **BMC medicine**. . ISSN 1741-7015. 7:2009) 13. doi: 10.1186/1741-7015-7-13.

COMBADIÈRE, Behazine; LIARD, Christelle - Transcutaneous and intradermal vaccination. **Human Vaccines**. . ISSN 1554-8600. 7:8 (2011) 811–827. doi: 10.4161/hv.7.8.16274.

DAMME, Pierre VAN *et al.* - Safety and efficacy of a novel microneedle device for dose sparing intradermal influenza vaccination in healthy adults. **Vaccine**. . ISSN 0264410X. 27:3 (2009) 454–459. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.10.077.

DICK, Lisa A. - Transdermal delivery & microneedles. **ONdrugDelivery**. 56 (2015).

DING, Zhi *et al.* - **Chapter I**

DONNELLY, Ryan F. *et al.* - Hydrogel-forming microneedle arrays for enhanced transdermal drug delivery. **Advanced Functional Materials**. . ISSN 1616301X. 22:23 (2012) 4879–4890. doi: 10.1002/adfm.201200864.

HIROBE, Sachiko *et al.* - Development and clinical study of a self-dissolving microneedle patch for transcutaneous immunization device. **Pharmaceutical research**. ISSN 1573-904X. 30:10 (2013) 2664–74. doi: 10.1007/s11095-013-1092-6.

HOLLAND, David *et al.* - Intradermal influenza vaccine administered using a new microinjection system produces superior immunogenicity in elderly adults: a randomized controlled trial. **The Journal of infectious diseases**. . ISSN 0022-1899. 198:5 (2008) 650–658. doi: 10.1086/590434.

HONG, Xiaoyun *et al.* - Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine. **Drug Design, Development and Therapy**. . ISSN 11778881. 7:2013) 945–952. doi: 10.2147/DDDT.S44401.

KIM, Yeu Chun; PARK, Jung Hwan; PRAUSNITZ, Mark R. - Microneedles for drug and vaccine delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. . ISSN 0169409X. 64:14 (2012) 1547–1568. doi: 10.1016/j.addr.2012.04.005.

KOLLI, Chandra Sekhar - Microneedles: bench to bedside. **Therapeutic Delivery**. . ISSN 2041-5990. 6:9 (2015) 1081–1088. doi: 10.4155/tde.15.67.

LAMBERT, Paul Henri; LAURENT, Philippe E. - Intradermal vaccine delivery: Will new delivery systems transform vaccine administration? **Vaccine**. . ISSN 0264410X. 26:26 (2008) 3197–3208. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.03.095.

LARRAÑETA, Eneko *et al.* - Microneedles: A New Frontier in Nanomedicine Delivery. **Pharmaceutical Research**. . ISSN 1573904X. 33:5 (2016) 1055–1073. doi: 10.1007/s11095-016-1885-5.

LATEST, T. H. E. *et al.* - Medical & Scientific Fact Sheet Intanza ® *, the First Micro-Needle Vaccine Against Influenza « Effective Flu Protection With a Simple Touch ». 2009) 1–

LAURENT, Philippe E. *et al.* - Evaluation of the clinical performance of a new intradermal vaccine administration technique and associated delivery system. **Vaccine**. . ISSN 0264410X. 25:52 (2007) 8833–8842. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.10.020.

LEVIN, Clement; PERRIN, Helene; COMBADIÈRE, Behazine - Tailored immunity by skin antigen-presenting cells. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**. . ISSN 2164554X. 11:1 (2015) 27–36. doi: 10.4161/hv.34299.

LEVIN, Yotam *et al.* - Intradermal vaccination using the novel microneedle device MicronJet600: Past, present, and future. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**. . ISSN 2164554X. 11:4 (2015) 991–997. doi: 10.1080/21645515.2015.1010871.

MAADEN, Koen VAN DER; JISKOOT, Wim; BOUWSTRA, Joke - Microneedle technologies for (trans)dermal drug and vaccine delivery. **Journal of Controlled Release**. . ISSN 01683659. 161:2 (2012) 645–655. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.01.042.

PRAUSNITZ, Mark R.; AVENUE, Andsbury; VIEW, Mountain - Vaccines for Pandemic Influenza. 333:2009) 1–24. doi: 10.1007/978-3-540-92165-3.

SADHNA, D.; NAGPAAL, D.; CHAWLA, L. - Needle free injection technology: A complete insight. . ISSN 2230-973X. 2015). doi: 10.4103/2230-973X.167662.

TEUNISSEN, M. B. M.; HANIFFA, M.; COLLIN, M. P. - Insight into the immunobiology of human skin and functional specialization of skin dendritic cell subsets to innovate intradermal vaccination design. **Current Topics in Microbiology and Immunology**. . ISSN 0070217X. 351:1 (2012) 25–76. doi: 10.1007/82_2011_169.

TUAN-MAHMOOD, Tuan Mazlelaa *et al.* - Microneedles for intradermal and transdermal drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. . ISSN 09280987. 50:5 (2013) 623–637. doi: 10.1016/j.ejps.2013.05.005.

VESCOVO, Paul *et al.* - YOUR SOLUTION FOR SUCCESSFUL. **ondrugdelivery**. 2014).

ZOZANOPHARMA, Our Technology [Acedido a 12 de agosto de 2016]. Disponível na internet: <http://www.zosanopharma.com/technology/>