



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LAIANE CRISLEY BARBOSA DA SILVA

**NANOPARTÍCULAS DE OURO:
APLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo científico ao UNICEUB como requisito parcial para a conclusão de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Bruno Silva Milagres

BRASÍLIA

2015

APLICAÇÕES NAS NANOPARTÍCULAS DE OURO NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CÂNCER.

LAIANE CRISLEY BARBOSA DA SILVA *

BRUNO SILVA MILAGRES**

Resumo

O câncer é uma doença de recorrência mundial que vem matando cerca de sete milhões de pessoas anualmente. Caracterizada por falhas nos mecanismos de regulação celular, derivadas de fatores internos e/ou externos, podendo ter influência de agentes carcinogênicos. Apesar de ser uma doença antiga, métodos terapêuticos para o tratamento dessa doença ainda não tornaram viáveis o combate do tumor sem agredir as células normais e causam muitos efeitos colaterais. Por este motivo, parte dos pacientes interrompem ou não iniciam o tratamento no tempo correto, levando na maioria das vezes, ao agravamento do tumor. Este trabalho objetiva mostrar, que a nanomedicina juntamente com a nanotecnologia, visa produção de novos tratamentos antitumorais e diagnóstico da doença associados à nanopartículas de ouro, no intuito de minimizar os efeitos colaterais e maximizar a resposta ao tratamento.

Palavras-chave: Nanotecnologia, nanopartículas, nanocápsulas, nanoesferas, ouro, tratamento, diagnóstico e câncer.

Abstract

Cancer is a worldwide disease recurrence that is killing nearly seven million people annually. Characterized by failures in the mechanisms regulating cell derived from internal and / or external factors may have influence of carcinogens. The process of angiogenesis stimulated by tumor cells facilitates carrying it to other tissues may form elsewhere. Despite being an old disease, therapeutic methods for the treatment of this disease has not become viable tumor combat without harming normal cells and cause many side effects. For this reason, some of the patients discontinue or not initiate the treatment at the correct time, leading in most cases, to increase tumor. The nanomedicina with nanotechnology, aims to produce new antitumor treatments and diagnosis of the disease associated with the gold nanoparticles in order to minimize side effects and to maximize response to treatment.

Keywords: Nanotechnology, nanoparticles, nanocapsules, nanospheres, gold, treatment, diagnosis and cancer.

*Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

** Doutor em Biologia Celular e Molecular-UFOP/ Egresso do EPISUS Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública - CGLAB

1. INTRODUÇÃO

Câncer é o nome conferido ao conjunto de doenças caracterizadas por falhas nos mecanismos que regulam o crescimento e a divisão celular. Designa sinonimicamente neoplasias e tumores malignos. O desenvolvimento de um câncer é o reflexo de inúmeras desordens nos mecanismos de regulação celular, resultando no desequilíbrio que comprometa o perfil biológico da célula (MOREIRA, 2013; KUMAR *et al.*, 2010).

Este desequilíbrio pode ocorrer derivado de fatores internos e externos. Os fatores externos estão associados ao meio ambiente, hábitos ou costumes próprios de um meio sócio-cultural. Os fatores internos são geneticamente pré-determinados em maior parte e, estão ligadas à capacidade do organismo de reparar os danos gerados por agressões externas (INCA, 2010; MOREIRA, 2013).

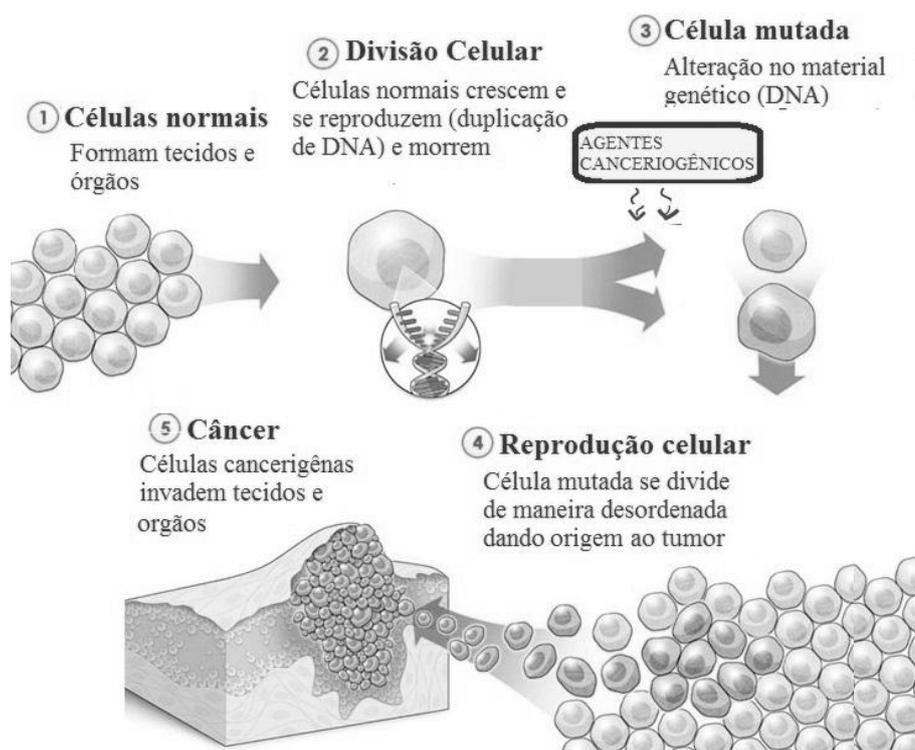
Estatísticas do instituto nacional do câncer (INCA) mostram que 80% a 90% dos cânceres estão associados a fatores ambientais. Dentre eles o cigarro, a exposição excessiva ao sol e alguns vírus, podendo causar câncer de pulmão, câncer de pele e leucemia respectivamente (INCA, 2010). De acordo com Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC) no ano de 2008, 7,6 milhões de pessoas no mundo morrem vítimas dessa doença e são diagnosticados mais de 12,7 milhões de casos de câncer anualmente (INCA, 2008a). Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos novos (incidentes), 17 milhões de mortes com câncer e 75 milhões de casos prevalentes. Provavelmente o maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média renda (INSTITUTO ONCOLOGIA, 2015).

Embora a célula detenha meios de auto-reparação, o desarranjo em qualquer uma das etapas do ciclo celular, pode ter como resultado o surgimento de uma célula com defeito genético (CUNHA *et al.*, 2010). Os mecanismos específicos de regulação, para assegurar que novas gerações celulares tenham o perfil biológico idêntico à geração antecessora, são divididos em quatro classes de genes reguladores normais os proto-oncogenes; os genes supressores de tumor; os genes de reparo do DNA - são os principais alvos do dano genético, e os genes que regulam a morte celular programada (apoptose) (KUMAR *et al.*, 2010).

Embora os danos estruturais sejam de ordem genética, para que ocorra o comprometimento celular, vários agentes denominados carcinógenos, podem contribuir para o surgimento da célula mutada conforme a figura 1. Apesar de apresentarem

características diferentes, possuem uma propriedade em comum, a capacidade de promoção de dano ao genoma celular, dentre eles radiações ionizante e não ionizantes, agentes químicos e vírus como papilomavírus, poliomavírus e Epstein-Barr são os mais comumente apontados como colaboradores no processo carcinogênico (KUMAR *et al.*, 2010; LEWIN, 2001).

Figura 1 – Desenvolvimento do câncer



(Fonte: Adaptado de ACHE, 2015; IHOBA, 2015).

O crescimento do câncer compromete a estabilidade tecidual, onde as células tumorais competem com células normais pelos nutrientes, dessa forma as células malignizadas expressam fatores angiogênicos, promovendo a instalação de uma rede de vasos que nutrirá o tumor e permitirá que este invada outros tecidos (CUNHA *et al.*, 2010; MOREIRA, 2013).

As primeiras referências dessa enfermidade estão na Grécia e no Antigo Egito. Nesta época o tratamento limitava-se à retirada cirúrgica dos tumores, sendo a única solução terapêutica para controlar a doença (VARELA, 2010; MOREIRA, 2013). No início do século XX surgiu a radioterapia e, logo após a segunda guerra mundial surgiu os medicamentos quimioterápicos para o tratamento do câncer (VARELLA, 2010; MOREIRA, 2013). Atualmente a terapia oncológica é composta basicamente pela

remoção cirúrgica, a radioterapia, a quimioterapia citotóxica, a hormonioterapia, imunoterapia e uso de bloqueadores enzimáticos (ANDRADE, 2007; ALMEIDA, 2005).

O tratamento para o câncer pode ocorrer com a combinação entre métodos já citados acima ou com base na utilização de um método apenas, visando à destruição das células cancerosas (ALVARENGA *et al.*, 2014; CUNHA *et al.*, 2010), um exemplo disso, é a realização da radioterapia após a remoção cirúrgica que diminui a recorrência no local do tumor, pois elimina as células tumorais remanescentes e a utilização da radioterapia antes da cirurgia, que tem como objetivo diminuir o tumor facilitando assim sua retirada (MOREIRA, 2013; ANDRADE, 2007).

Entretanto, essas formas terapêuticas convencionais para o tratamento do câncer possuem inconvenientes que incluem baixa biodisponibilidade, baixa solubilidade e baixa absorção intestinal, dificuldades na entrega sustentada e direcionada para o local de ação, fraca eficácia terapêutica, efeitos laterais, minimizando a aceitação do paciente acerca do tratamento (ALVES, 2013).

Este trabalho visa mostrar que com o advento da nanotecnologia, a possibilidade de lesionar células cancerosas sem causar danos às células normais do organismo está se tornando viável através de nanopartículas, como entrega direcionada de medicamentos por vetorização ativa ou passiva dentre outras aplicações.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado por meio de uma revisão bibliográfica no formato narrativa. De acordo com BERNARDO (*et al.* 2004) “a revisão bibliográfica narrativa é utilizada para descrever um assunto específico, sob o ponto de vista teórico ou contextual, no qual, constitui-se da análise da literatura, da interpretação e análise crítica pessoal do pesquisador”. Nesta revisão utilizou-se como meio de consulta a análise da literatura publicada em livros, artigos de revistas impressas e/ou eletrônicas.

O material utilizado foi buscado nas bases de dados Scielo, Lilacs, Pubmed, utilizando as palavras chave *nanotecnologia*, *nanocápsulas*, *nanoesferas*, *ouro*, *tratamento*, *diagnóstico* e *câncer*, pesquisadas juntas ou separadamente nos idiomas português e inglês. O período de busca foi do ano de 2000 a 2015.

3. DESENVOLVIMENTO

A ideia de nanotecnologia que sugeriu ser possível manipular átomos individualmente foi proposta na década de 50, pelo físico americano Richard Feynman. Por definição, a nanotecnologia é uma ciência que trata em termos gerais, da capacidade de manipular átomos e moléculas em escala nanométrica ($1 \text{ nm} = 1.000.000.000 \text{ m}$ ou 10^{-9} m) (MOREIRA, 2013).

Nesta escala, os materiais podem apresentar propriedades químicas, físico-químicas e comportamentais diferentes daquelas apresentadas em escalas maiores, como exemplo, a tolerância à temperatura, alterações na condutividade elétrica e reatividade química, variedade de cores (BERGMANN, 2008). O surgimento da nanotecnologia teve um impacto profundo em diversas áreas da saúde, pois essa ciência está fornecendo ferramentas para a nanomedicina na investigação científica, especialmente no tratamento do câncer e na produção de novos medicamentos antitumorais associados a nanopartículas (BROCHADO, 2013; ALVARENGA *et al.*, 2014).

As nanopartículas (NPs) viabilizam maior eficiência de encapsulação e liberação controlada em comparação aos sistemas de encapsulação convencionais e possuem tamanho pequeno suficiente para serem injetadas diretamente no sistema circulatório, assim como a possibilidade de administração por outras vias como a pulmonar, nasal, transcutânea e oral (MOREIRA, 2013).

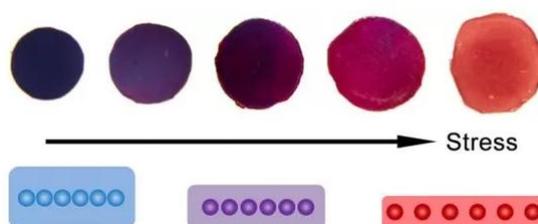
Além disso, nanomateriais podem ser facilmente ajustados na síntese, controlando-se fatores como tamanho e forma, resultando em vantagem sobre agentes fototérmicos convencionais e podendo ser aplicados na terapia gênica (ZUCOLOTTO *et al.*, 2014). Também estão sendo desenvolvidos diagnósticos rápidos que requerem pequenas amostras biológicas por usando nanopartículas como pontos quânticos, permitindo a detecção rápida e sensível de células malignas em estágios iniciais e o controle destas de forma não invasiva (ROSSI-BERGMANN, 2008; FALLEIROS *et al.*, 2011).

Entre NPs de metais nobres, as nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido amplamente estudadas, resultando no desenvolvimento de várias técnicas e métodos para diagnóstico, imagem, entrega de drogas e terapêutica. Ampla utilização de AuNPs é consequência de suas propriedades ópticas únicas e facilidade de manipulação superfície modificada através da sua funcionalização com moléculas orgânicas (ALMEIDA, 2011 ; MOREIRA, 2013; FONTES, 2012).

Nanopartículas de Ouro (AuNPs)

Em 1857, Michael Faraday atribuiu a relação entre as propriedades e o tamanho das partículas de ouro em seu artigo “Experimental relations of gold (and other metals) to light”, onde notou que o tamanho das partículas influencia na absorção de luz, fazendo com que objetos cobertos com nanopartículas de ouro pudessem emitir diferentes cores como amarela, negra, rubi ou arroxeadas de acordo com o tamanho das nanopartículas, conforme a figura 2 (JUNQUEIRA; GUERRA, 2010; BROCHADO, 2013).

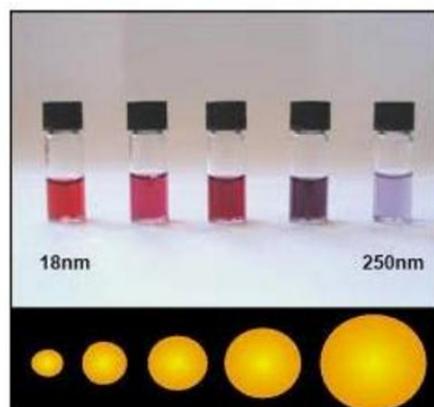
Figura 2 - Alteração na emissão de cor do ouro de acordo com o stress gerado.



(Fonte: GLOBO, 2015).

A mudança de cor pela absorção de luz, ocorre devido ao aumento do confinamento eletrônico, gerado pela redução do ouro massivo à tamanhos nanométricos, onde os movimentos eletrônicos passam a ser quantizados e as propriedades passam a ser determinadas pelos átomos que se encontram na superfície, ou seja, o ouro nanoparticulado apresenta uma intensa coloração vermelha, quando o diâmetro médio está perto de 18nm, com o aumento de tamanho, a coloração da suspensão passa para o roxo e logo, com a redução do stress para o azul, conforme a figura 2 e 3 (OLIVEIRA, 2011; BONIFÁCIO, 2006). Esse efeito também é útil como indicativo de que a interação de compostos à suspensão de nanopartículas está ocorrendo de maneira significativa (OLIVEIRA, 2011; FONTES, 2012).

Figura 3 - Mudança de cor conforme alteração do tamanho de partículas.



(Fonte: MIGUEL, 2012).

As alterações em suas propriedades fundamentais ao ser nanoparticulado torna-o promissor para o uso em diversas áreas do tratamento oncológico (MOREIRA, 2013). Dentre uma das aplicações do ouro no tratamento oncológico, há os complexos de ouro com propriedades antitumorais, como exemplo o iminofosforano organoaurífero (III), $[\text{AuCl}_2\{(\text{C}_6\text{H}_4)\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)2\text{N}(\text{C}_6\text{H}_5)\}]$, que apresenta atividade inibitória no crescimento de células e o uso do radioisótopo Au^{198} , na forma de colóide, para erradicação de tumores sólidos e quantificação de endocitose (JUNQUEIRA; GUERRA, 2010).

Na prática clínica, o tratamento de artrite reumatóide com sais de ouro por via intramuscular (IM) encontra-se bem documentada, assim como à recentemente a aplicação de nanopartículas de ouro no tratamento e no diagnóstico do câncer (JUNQUEIRA; GUERRA, 2010; BROCHADO, 2013).

Nanopartículas AuNPs (Nanocápsulas e nanoesferas)

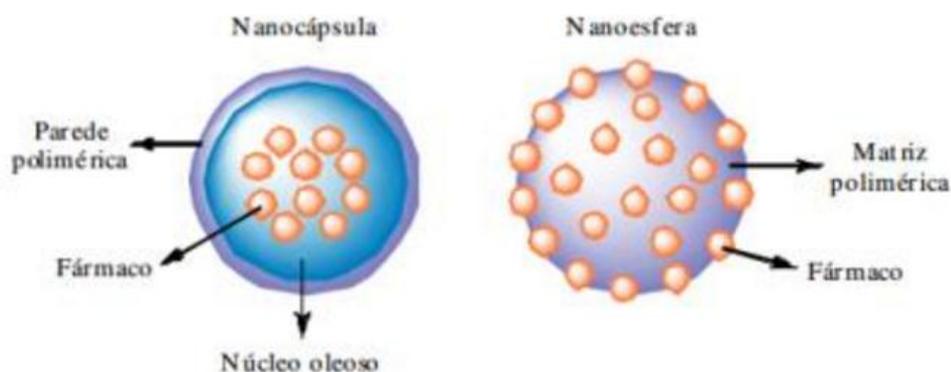
As nanopartículas de ouro (AuNPs), são estruturas poliméricas na forma de reservatório (cápsulas) ou matricial (matriz polimérica) nas quais o fármaco está encapsulado ou adsorvido na malha polimérica. Estas apresentam propriedades ópticas e químicas em sua superfície que promovem baixa toxicidade em sistemas biológicos e grande capacidade de se associar a drogas ou moléculas por adsorção ou por ligação química. (PIMENTEL *et al.*, 2007; ALVARENGA *et al.*, 2014).

As AuNPs podem ter diversas aplicações na área oncológica como entrega direcionada de medicamentos, biosensores, bioimagem, terapia fototérmica de tumores, dentre outras aplicações. Na entrega direcionada de medicamentos costuma-se utilizar nanocápsulas e/ou nanoesferas, que diferem de acordo com a composição e organização estrutural, conforme a figura 4 (ALVARENGA *et al.*, 2014; GIORDANI, 2012).

As nanocápsulas poliméricas são sistemas do tipo reservatório (coloidais vesiculares) onde é possível identificar o invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo, com uma gama de tamanhos de 10 a 100nm, podem ser estruturas esféricas, ramificadas ou em concha, no qual fármaco está inserido em uma cavidade oca ou oleosa, estabilizada por membrana polimérica. Estas são utilizadas para vetorização de fármacos hidrofóbicos, que são incorporados na cavidade interna oleosa (SANTOS *et al.*, 2005; GIORDANI, 2012 ; ALVES, 2013).

Já na nanoesfera não é possível identificar um núcleo diferenciado pois não possui óleo em sua composição, neste caso o fármaco encontra-se homogeneamente disperso ou solubilizado no interior da matriz polimérica (GIORDANI, 2012). Neste sistema, a matriz tem duas funções simultâneas: armazenar o fármaco e controlar a velocidade de liberação. O método de obtenção de ambas nanopartículas é similar, diferenciando-se apenas nos mecanismos de polimerização (VASQUEZ, 2011; AZEVEDO, 2005).

Figura 4 – Desenho comparativo de nanocápsulas e nanoesferas.

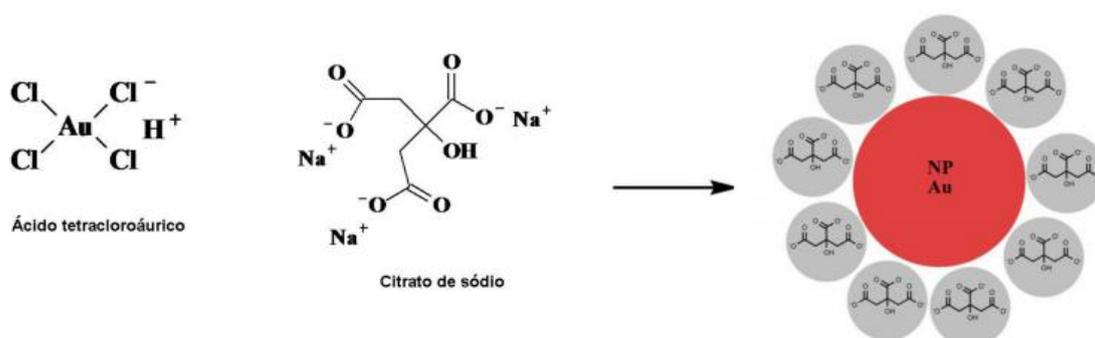


(FONTE: GIORDANI, 2012).

Síntese de nanopartículas

Desde a primeira síntese proposta por Turkevich em 1951, as nanopartículas de ouro (Au-NPs) são sintetizadas por redução química por via úmida, em geral uma solução de um sal de Au (III) por um agente redutor (citrato de sódio, borohidrato de sódio, borohidrato de potássio) conforme a figura 5 (OLIVEIRA, 2011; SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 5 - síntese de AuNPs.

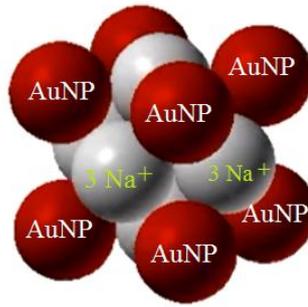


(Fonte: Adaptado de SANTOS, 2012).

O método de preparo mais utilizado das NPs-Au, através da redução dos sais de ouro (Au^{3+}) para Au^0 , resume-se na redução do precursor ácido tetracloroáurico (HAuCl_4), que é a forma ácida do cloreto de Ouro (III), pelo íon citrato através do aquecimento da solução até a ebulição. Esse processo gera a formação de nanopartículas que possuem rede cúbica de face centrada, conforme a figura 6, com tamanho de partículas definido pela concentração (OLIVEIRA, 2011; SANTOS *et al.*, 2012).

Após a redução são utilizados agentes estabilizantes que se ligam química ou fisicamente à superfície da partícula para proteção (prevenindo a agregação) como no controle das propriedades das Au-NPs formadas. A espécie estabilizadora, que se adsorve na superfície das Au-NPs, pode ser o próprio redutor (como o citrato de sódio) ou outra adicionada no passo seguinte (polímeros, dendrímeros, tióis, surfactantes) (FONTES, 2012; OLIVEIRA, 2011).

Figura 6 – Nanopartícula em rede cúbica de face centrada.



(Fonte: Adaptado de ANDERSON, 2008).

Em 1973, Frens mostrou que é possível controlar o tamanho das NPs-Au através da variação da razão estabilizador/Au, ou seja, $[Au^{3+}]:[íon\ citrato]$ em solução. As partículas normalmente diminuem com o aumento da razão estabilizador/Au. As propriedades do material a ser obtido são dependentes da forma e da distância de interação entre as nanopartículas, que é dada em função das características do estabilizante (JI *et al.*, 2007; OLIVEIRA, 2011).

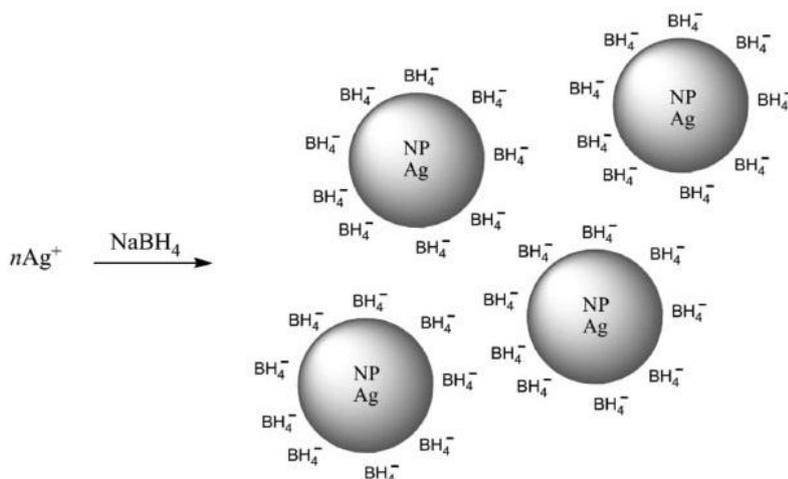
Quando utiliza-se apenas o íon citrato como estabilizante, as nanopartículas apresentam tamanhos variados (polidispersão), resultando no controle de tamanho inadequado. Diferentemente de quando estabilizadas com o ânion citrato, o qual apresenta grupos funcionais carboxílicos que em $pH \cong 7$ se apresenta desprotonado, tornando a superfície do ouro negativamente carregada em água, com íons $-COO^-$ (FONTES, 2012; JI *et al.*, 2007).

Essas moléculas possuem efeito difusional sobre a superfície do ouro, estabilizando-o após recobrir toda a superfície do mesmo. Entretanto as ligações são fracas, permitindo o movimento das moléculas pela superfície das nanopartículas, diante disso, começou a utilizar um agente redutor mais forte como o $NaBH_4$, conforme a figura 7, para promover a formação dos núcleos de crescimento, na presença do agente estabilizante, possibilitando obter nanopartículas com várias faixas de tamanhos de núcleos (monodispersas) (KIM *et al.*, 2004; JI *et al.*, 2007).

As NPs-Au formadas e estabilizadas a partir do agente redutor $NaBH_4$ são então utilizadas como blocos construtores (building blocks) para a automontagem de micro estruturas funcionais numa abordagem *bottom-up* (de baixo pra cima), conforme a figura 9, onde há o controle da síntese de nanopartículas individuais as quais servirão para a obtenção de estruturas maiores com propriedades diferenciadas. Apesar de ser

um método mais demorado, esta técnica requer menos quantidade de material e tem geralmente menores perdas se comparada à produção utilizando o método *Top-Down* (de cima para baixo) (BROCHADO, 2013; FONTES, 2012).

Figura 7 – Nanopartículas de ouro com agente redutor NaBH₄.

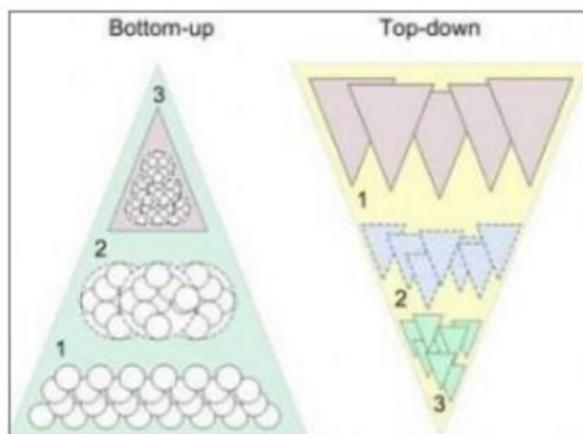


(Fonte: Adaptado de SANTOS *et al.*, 2012).

O método *top down* (de cima para baixo), conforme a figura 8, consiste em reduzir as dimensões de um objeto em escala macroscópica, nas suas partes componentes, sucessivamente até a escala nanométrica, assim, cada componente é refinado até obter a miniaturização com maiores detalhes, conferindo características peculiares aos materiais, como estados quantizados de energia devido ao confinamento eletrônico. Esta técnica requer maiores quantidades de material e se o excedente for descartado e não reaproveitado resultará em desperdícios de material (BROCHADO, 2013; BONIFACIO, 2006; CHEN *et al.*, 2012).

Tanto o *bottom-up* como o *top down* são métodos de automontagem (*self-assembly*) de abordagens básicas na produção de nanossistemas. O *self-assembly* pode ser definido como a formação espontânea de estruturas organizadas, provenientes de componentes discretos que interagem uns com os outros indiretamente (através do seu meio) e/ou diretamente, através das interações eletrostáticas entre as partículas (FONTES, 2012).

Figura 8 – Abordagem *bottom-up* e *top-down*.



(Fonte: BROCHADO, 2013).

Encapsulação de substâncias

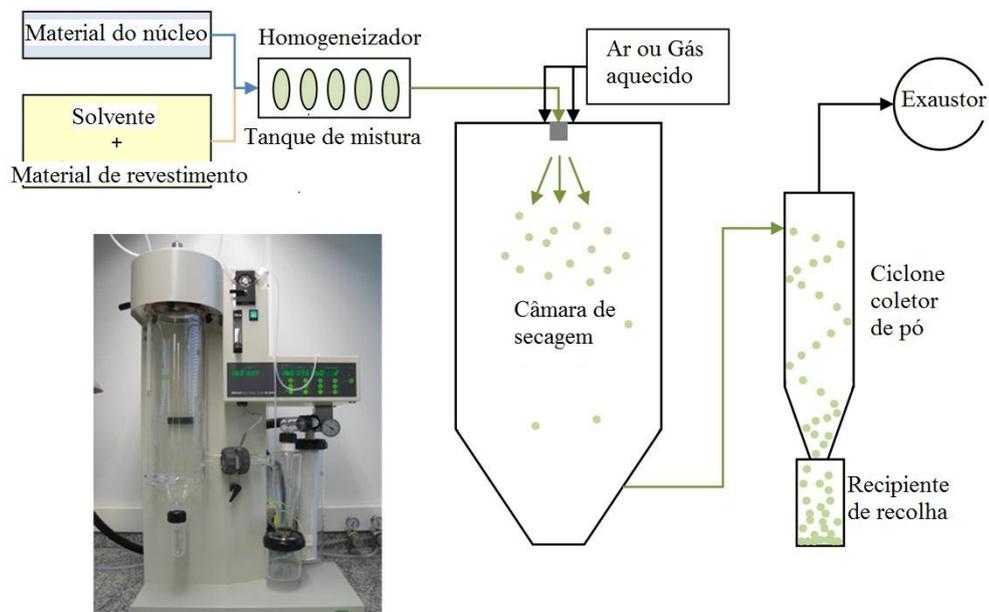
Os métodos mais utilizados na encapsulação de substâncias em nanopartículas poliméricas diferem em mecânicos (físicos) e físico-químicos. O método mecânico é aquele no qual a partícula é obtida, através do ouro metálico como precursor tendo suas dimensões reduzidas por diferentes métodos. O método mais utilizado para fabricação de nanocápsulas é o centrifugação multiorifício, que lança núcleos através da membrana do material de revestimento por meio de centrifugação (DOMINGUES *et al.*, 2008; BONIFACIO, 2006; AZEVEDO, 2005).

Na fabricação de nanoesferas o método mecânico mais utilizado é o Spray drying (secagem por asperação) que converte sistemas dispersos e/ou aquosos em sistemas sólidos nanoparticulados através da nebulização (em uma câmara de evaporação) do fármaco juntamente com o material revestidor solubilizado ou fundido, causando a rápida solidificação das gotículas que dão origem às partículas, ou seja, transforma líquidos em partículas secas através de um processo contínuo, conforme a figura 9. (VAUTHIER; BOUCHEMAL, 2008; DOMINGUES *et al.*, 2008; AZEVEDO, 2005).

Diferente dos métodos mecânicos, os métodos físico-químicos consistem na dissolução de um fármaco juntamente com um polímero, sob agitação constante, em determinado solvente, seguido pela adição de um tensoativo (não-solvente) à mistura (AZEVEDO, 2005; VASZQUEZ, 2011). Os tensoativos ou estabilizantes, que podem ser iônicos (catiônicos ou aniônicos) e os não iônicos, têm a função de reduzir a tensão

interfacial, causando a precipitação do polímero ou um processo de coacervação (separação de fases) proveniente da neutralização das cargas positivas de um dos polímeros pelas cargas negativas do outro (AZEVEDO, 2005; FONSECA, 2012).

Figura 9 – Processo de Spray drying.



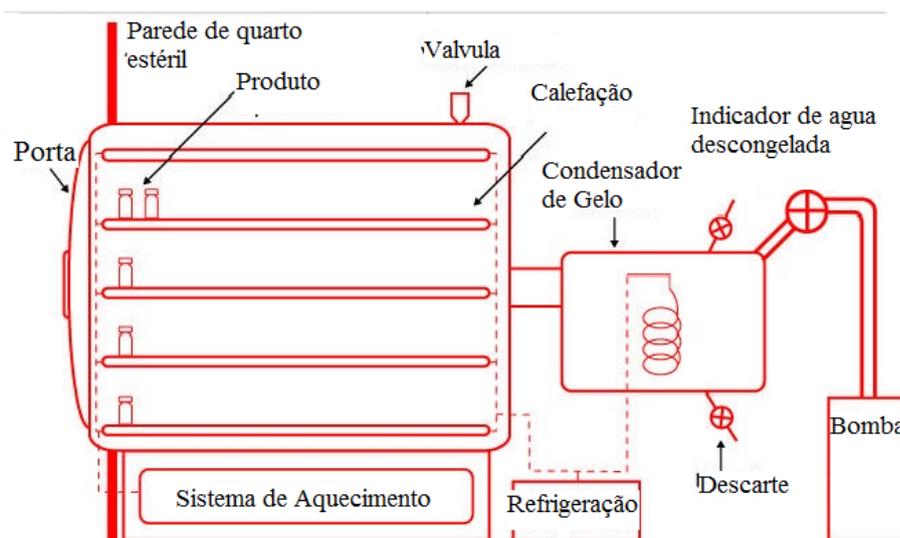
(Fonte: Adaptado de CHÁVARRI *et al.*, 2015).

A coacervação se divide em simples, na qual a separação da fase líquida ocorre pela adição de um eletrólito à solução coloidal, mudança de pH e temperatura ou complexa, que é resultado da mistura de polieletrólitos de cargas opostas (AZEVEDO, 2005; FONSECA, 2012).

A manutenção e armazenamento de nanopartículas obtidas por métodos físico-químicos deve ser feita para minimizar o risco de contaminação microbiológica, degradação polimérica por hidrólise e instabilidade físico-química por agregação ou sedimentação de partículas.

O armazenamento mais aconselhável baseia-se em Freeze drying (liofilização) ou Spray drying (secagem por aspersão) como já visto anteriormente. O Freeze drying, conforme a figura 10, consiste na remoção de água de uma amostra congelada por sublimação e dessorção sob vácuo (VAUTHIER; BOUCHEMAL, 2008; FONSECA, 2012).

Figura 10 - Processo de Freeze drying.



(Fonte: Adaptado de PROCESSBIO, 2015)

A miniaturização de um sistema carreador de drogas até a escala nanométrica a proteção de diferentes substâncias somada a diminuição da instabilidade e da decomposição de fármacos sensíveis, promovendo manutenção de níveis plasmáticos em concentração constante das substâncias, a diminuição da dose terapêutica e do número de administrações e aumento da aceitação da terapia pelo paciente (OKAMOTO; PAVON, 2007; KULKAMP *et al.*, 2009; PIMENTEL *et al.*, 2007).

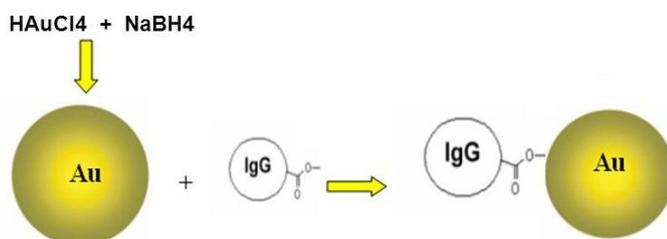
Entretanto, o tamanho das nanocápsulas está relacionado a diversos fatores observados em sua obtenção, como a velocidade de agitação utilizada no processo, a composição da substância encapsulada, a concentração e o tipo de polímero e a quantidade de tensoativo presente na formulação, dentre outros. Devido ao seu tamanho reduzido, as nanopartículas podem ser facilmente administradas por via oral, endovenosa, intradérmica e usadas para direcionar fármacos para um tecido ou órgão particular (MARTINS, 2013; FORMARIZ, 2004).

Funcionalização das AuNPs

Para facilitar o direcionamento para tecidos tumorais a possibilidade de incorporação de vários tipos de moléculas na superfície de uma única nanopartícula apropriadamente modificada ou funcionalizada para receber agentes biológicos, moléculas orgânicas, vitaminas, antibióticos, peptídeos, antígenos, anticorpos ou recobrimento polimérico com a finalidade de alterar suas propriedades ou

programá-las, conforme a figura 11, permitindo a formação de bionanoconjugados (ZUCOLOTTO *et al.*, 2014; FALLEIROS *et al.*, 2011; OLIVEIRA, 2011; GOMES, 2009).

Figura 11 – AuNP programada com IgG.



(Fonte: Adaptado de DURAN, 2006).

Estes, podem encontrar aplicações em biossensores que reconheçam especificamente células ou tecidos de interesse, direcionando o acúmulo de nanomateriais em tecidos tumorais sem sobrecarregar o organismo com doses massivas (GOMES, 2009; OLIVEIRA, 2011; OKAMOTO;PAVON, 2007).

Os estudos de interação substância-superfície (biossensores), mostram que para a preparação de biossensores é essencial imobilizar receptores como proteínas, anticorpos, enzimas ou catalizadores biométicos à superfície das nanopartículas para que estas detectem moléculas alvo específicas sem necessidade de marcação prévia. Desse modo, estudos têm sido trabalhados ao nível da adsorção de moléculas de uma substância ou agente biológico de interesse em superfícies de nanopartículas de ouro isoladas, que devido a sua fácil funcionalização, tendem a adsorver materiais orgânicos que podem alterar as propriedades interfaciais e ter uma influência significativa na estabilidade das nanoestruturas de metal (GOMES, 2009).

Um exemplo da funcionalização das superfícies NPs pode ser mostrada com a utilização de polietilnoglicol (PEG), com vista a evitar a ligação específica da nanopartícula à superfícies de componentes do sangue, ou seja, opsonização (BROCHADO, 2013; PIMENTEL *et al.*, 2007). Deste modo consegue se reduzir a sua rápida absorção e depuração *in vivo* pelas células do sistema fagocítico mononuclear (SFM), impedindo a adsorção de opsoninas (BROCHADO, 2013; PIMENTEL *et al.*, 2007).

Assim como, conseqüente fagocitose das partículas, especialmente no fígado (60-90%), baço (2-20%), medula óssea (0,1-1%) e quantidades variadas nos pulmões e, permitindo um prolongamento do seu tempo de meia-vida, a liberação progressiva e controlada do fármaco, levando a diminuição expressiva da toxicidade da substância ao organismo (BROCHADO, 2013; PIMENTEL *et al.*, 2007; AZEVEDO, 2005).

Além disso, as reações por corpo estranho e os efeitos colaterais podem ser evitados, simultaneamente ao aumento da eficácia terapêutica e a sítio especificidade, ou seja, possibilidade de direcionamento a alvos específicos por vetorização ativa (OKAMOTO; PAVON; 2007; PIMENTEL *et al.*, 2007).

A vetorização ativa caracteriza-se pelo uso de ligantes na superfície das nanopartículas, como os já citados acima, que irão interagir especificamente com as células tumorais, fazendo com que nanossistemas exercem a sua ação terapêutica ao libertar o fármaco que transportam através do seu acoplamento específico a um ligando de superfície, sob determinadas condições físicas (DANHIER, 2010; LIU, 2010).

Outra forma de vetorização é a passiva, que pode ser dividida em fisiológica ou invasiva. A primeira, também conhecido como permeabilidade e retenção aumentada (enhanced permeability and retention - EPR), ocorre devido a fisiologia anormal dos neovasos presentes nos tumores sólidos, que normalmente apresentam fenestrações bem maiores (100 a 780 nm), em relação ao endotélio vascular normal (5 e 10 nm) favorecendo a entrada de nanopartículas com tamanho médio de 200 nm, conforme a figura 12, resultando no maior acúmulo das nanopartículas com fármaco no tumor com pouca ou nenhuma nanopartícula nos tecidos normais (ZUCOLOTTO *et al.*, 2014; MOREIRA, 2013).

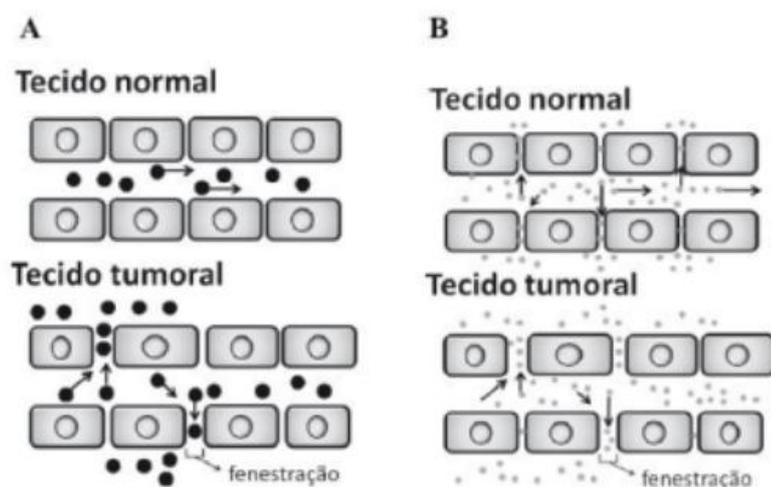
A segunda ocorre na veiculação direta de citostáticos nos tumores por meio de injeções ou procedimentos cirúrgicos, evitando a circulação sistêmica do fármaco. Para alguns tumores, tais como o câncer do pulmão, que são de difícil acesso, a técnica é praticamente impossível de utilizar (NIE *et al.*, 2007). Para que o mecanismo de vetorização passiva funcione, o tamanho e as propriedades de superfície do nanossistema devem ser otimizadas para evitar a ação do SFM em contato com os componentes sanguíneos (BROCHADO, 2013).

Liberação controlada

O sistema de direcionamento do fármaco a sítio-alvo específico do organismo, trata-se, portanto, da melhor forma para investigar o comportamento de

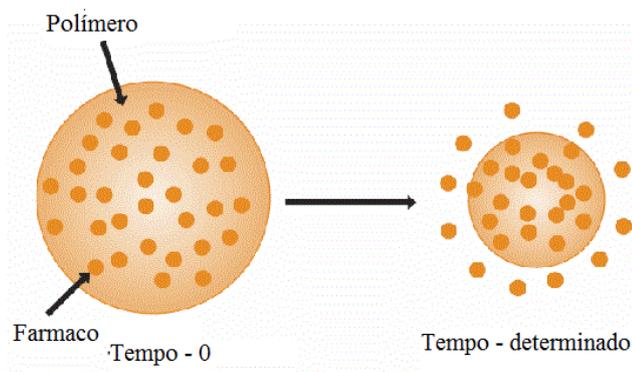
carregadores nanoparticulados em organismos vivos, estritamente ligados à liberação controlada de fármacos (AZEVEDO, 2005).

Figura 12 - Representação esquemática do efeito de permeabilidade em tecido normal e tecido tumoral.



(Fonte: OLIVEIRA, 2011).

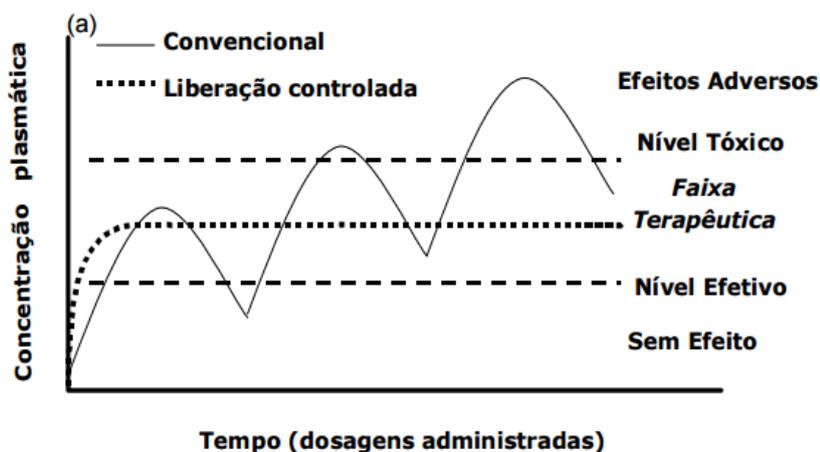
Figura13 - Representação de *Drug delivery systems*.



(Fonte: Adaptado de SIGMA-ALDRICH, 2015).

Os sistemas de liberação controlada (*Drug delivery systems*), conforme a figura 13, oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outras formas de dosagem convencional (spray, injeção, pílulas), pois a concentração da droga na corrente sanguínea não apresentará um aumento ou atingirá um pico máximo e declínio, a concentração do fármaco se manterá entre estes dois níveis por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única dosagem, conforme a figura 14 (AZEVEDO, 2005).

Figura 14 - Representação dos níveis de fármaco no organismo.



(FONTE: AZEVEDO, 2005).

Isso ocorre quando fármaco é ligado à cadeia do polímero por uma ligação covalente e é liberado quando a ruptura das ligações ocorre por meio do mecanismo de hidrólise que controla a liberação, este permanece mais tempo no tumor, tendo sua remoção retardada devido à pobre drenagem linfática (VASQUEZ, 2013; FORMARIZ, 2004). Neste contexto o termo fármaco ou substância engloba todos compostos bioativos administrados com o intuito terapêutico, desde moléculas de baixo peso molecular à proteínas e material genético (VASQUEZ, 2013; MARTINS, 2013).

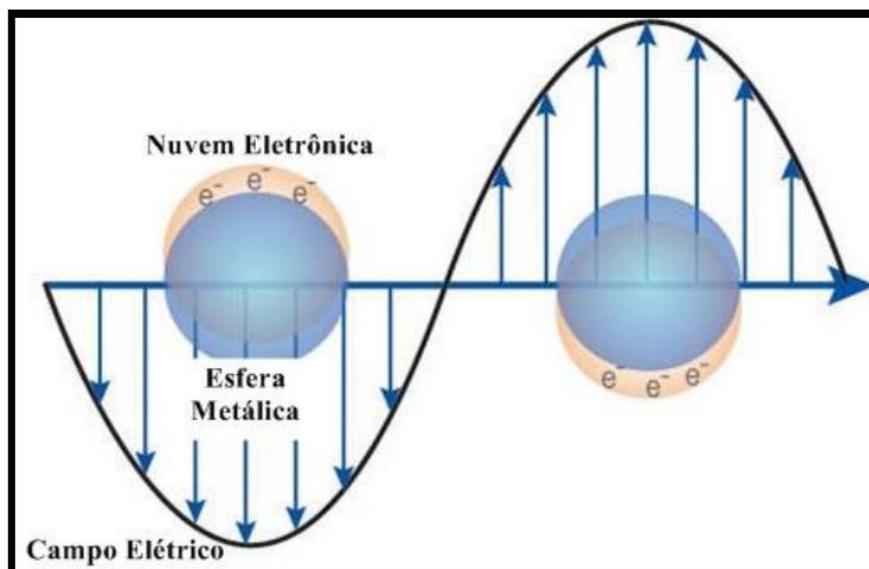
Propriedades eletromagnéticas

Quando incide a radiação eletromagnética sobre as AuNPs ocorre a formação de *plasmon*, que pode ser definido como uma onda resultante de movimentos oscilantes ou excitação coletiva de cargas do meio, conforme a figura 15, ou seja, proveniente às oscilações de elétrons livres do ouro, gerando uma separação dipolar de cargas, fazendo com que as AuNPs emitem calor e luminescência, que são utilizados na hipertermia e no diagnóstico do câncer respectivamente (FONTES, 2012; BONIFACIO, 2006; ALVERENGA *et al.*, 2014).

A interação das nanopartículas com a onda eletromagnética é descrita pela teoria de Mie, onde o comprimento de onda gerado pela banda de *plasmon* depende dos fatores como forma, estrutura, tamanho e a constante do meio, que afetam a densidade

da carga e fornece as seções de choque de extinção (α_{ext}) e absorção (α_{abs}) das nanopartículas ($\alpha_{ext} \equiv \alpha_{abs} + \alpha_{sca}$) (JUNIOR *et al.*, 2014; PEREIRA, 2014).

Figura 15 - Oscilações da nuvem eletrônica de uma AuNP esférica.



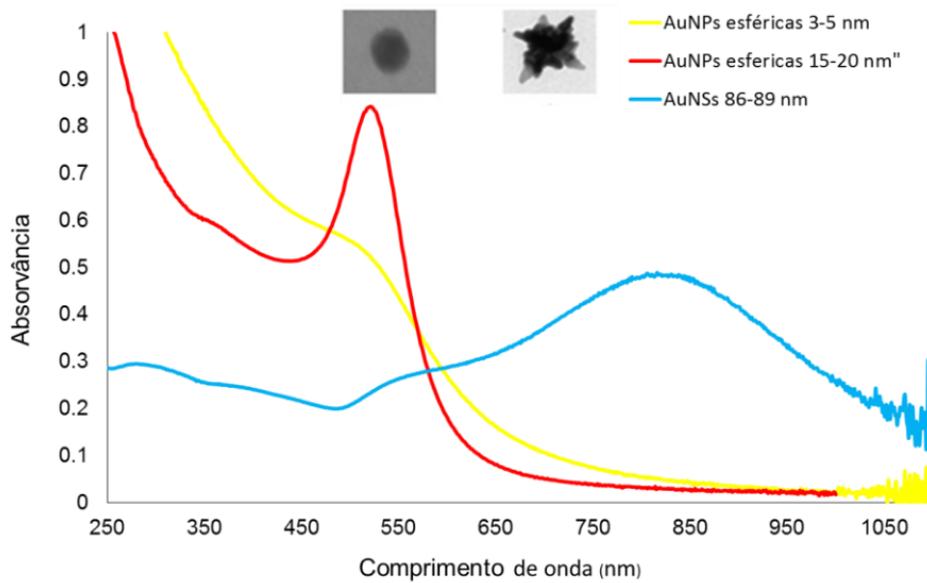
(Fonte: FREITAS, 2011)

Os *plasmons* dão origem a uma absorção intensa da luz incidente, que pode ser detectada e medida usando um espectrofotômetro de UV-Visível, conforme a figura 16, e o choque associado ao aquecimento ocorre devido ao maior confinamento eletrônico, gerado pela redução do material massivo à nanoparticulado, atribuindo ao metal suas propriedades condutoras que corresponde à energia térmica e a condução (PEREIRA, 2014; ALVARENGA *et al.*, 2014; JUNIOR *et al.*, 2014; ZUCOLOTTO *et al.*, 2014; FONTES, 2012).

Hipertermia

A hipertermia é o procedimento terapêutico mais freqüente das nanopartículas de ouro, a nível da terapia do câncer, no qual, as partículas são administradas sistemicamente, atingindo o local do tumor por vetorização ativa ou passiva, após atingirem o tumor as nanopartículas tendenciam naturalmente a agregar-se e crescerem por serem termodinamicamente instáveis (MOREIRA, 2013; FONTES, 2012).

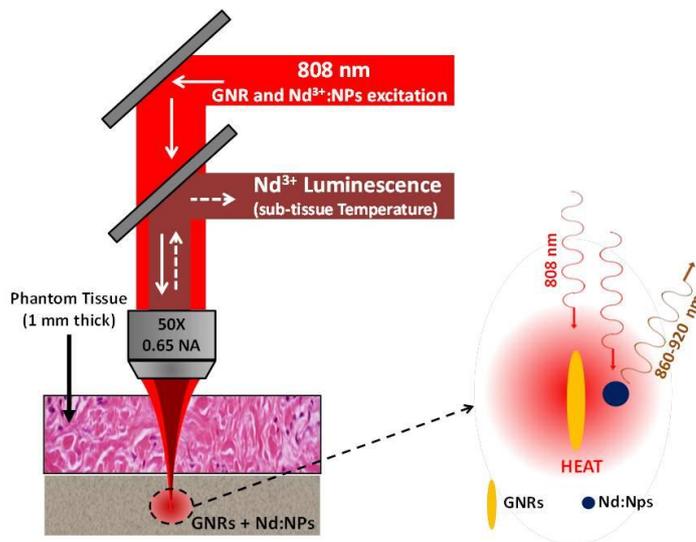
Figura 16- Espectros de luz de soluções de nanopartículas de ouro, com diferentes tamanhos.



(Fonte: PEREIRA, 2014)

A hipertermia utiliza radiações como ondas de radio, laser infravermelho próximo ou outro campo magnético de corrente alternada (AC) com maior comprimento de onda (650 a 900 nm) se comparadas aquelas utilizadas no diagnóstico, conforme a figura 17, para facilitar a penetração das ondas nos tecidos gerando aquecimento local (ALVARENGA *et al.*, 2014; ZUCOLOTTO *et al.*, 2014).

Figura 17 - Ondas eletromagnéticas



(Fonte: ROCHA, 2013).

A elevação da temperatura gerado pelos AuNPs causa uma ablação das células e conseqüente destruição das membranas celulares tumorais e degradação das nanopartículas (ALVARENGA *et al.*, 2014; ZUCOLOTTO *et al.*, 2014; BROCHADO, 2013). A eficácia da técnica de hipertermia baseia-se no fato de que temperaturas acima de 41°C (geralmente, de 41°C a 46°C) lisam e destroem as células cancerosas, uma vez que estas são menos resistentes a aumentos de temperatura do que as células sadias circunvizinhas (TARTAJ *et al.*, 2003).

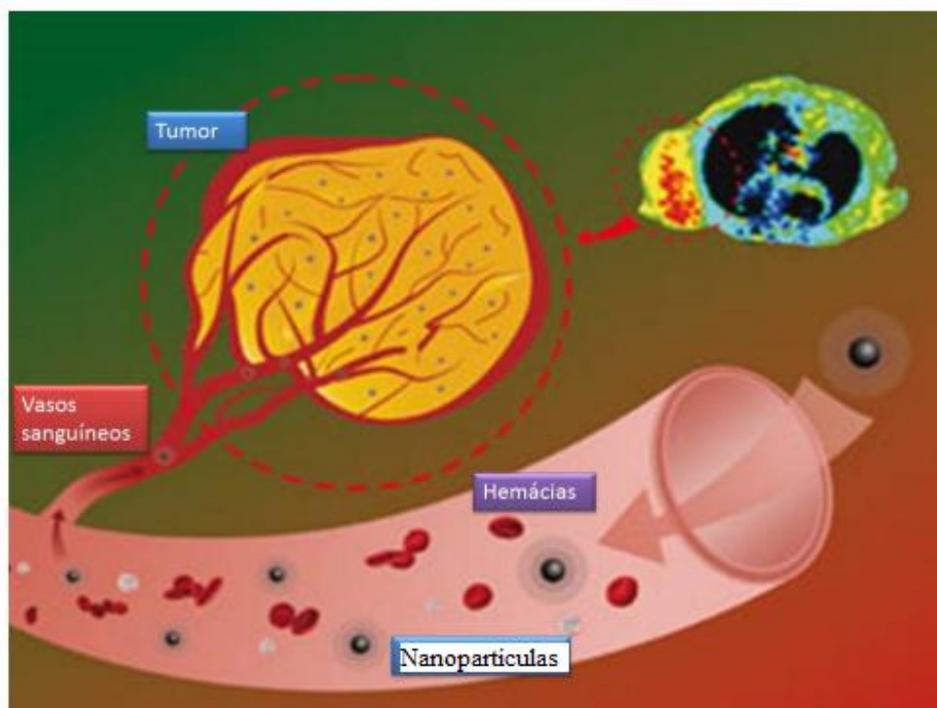
Diagnóstico

No diagnóstico do câncer, as AuNPs devido à sua elevada massa atômica, podem absorver mais radiação do que as células dos tecidos. Estas, apresentam energias em bandas detectadas dentro do espectro UV-Visível, devido à elevada estabilidade e eficiente absorção da luz tornando-os ideais para melhorar o contraste de tecidos específicos durante diagnóstico por imagem (ZUCOLOTTO *et al.*, 2014; NANOWERK, 2014).

Nanopartículas de ouro com diâmetro entre 4 e 50 nm possuem comprimentos de onda entre 510 e 530 nm, quando seus plasmons superficiais (gerados por oscilações coletiva dos elétrons livres) estão acoplados ao campo magnético, demonstra que o processo angiogênico pode ser detectado pelas imagens de ressonância magnética e que as nanopartículas multimodais fornecem a percepção do mecanismo exato de acumulação do tumor, conforme a figura 18 (ZUCOLOTTO *et al.*, 2014; FONTES, 2012; OKAMOTO; PAVON, 2007).

Dessa forma, o emprego dessas nanopartículas é um excelente método de análise para tumores internos, uma vez que são capazes de localizá-los de forma mais eficiente e detalhada em comparação com os demais métodos (JUNQUEIRA; GUERRA, 2010). Por exemplo, se uma nanopartícula for suficientemente seletiva na marcação de uma célula cancerígena e esta for diagnosticada por imagem ou outra técnica analítica altamente sensível, aumentará as chances do paciente ter a cura completa da doença sem atingir os outros níveis da doença, como a metástase (ZUCOLOTTO *et al.*, 2014).

Figura 18 - Diagnóstico por imagem com nanopartículas.



(Fonte: Adaptado de INSTITUTONANOCELL, 2015).

Biodistribuição e Toxicidade

O tamanho, revestimento e o meio de administração das AuNPs, são fatores determinantes para a biodistribuição. A inalação de AuNPs para tratamento de tumores respiratórios é muito eficaz por não ser invasivo, entretanto, estudos publicados nos anos 90 sugeriram que à medida que o diâmetro das partículas se aproxima da escala nanométrica, partículas com diâmetro menor que 100 nm, leva ao aumento da fração depositada na região alveolar, enquanto que as partículas à escala micro ficam retidas na zona extratorácica (BRANDÃO, 2012; DELGADO, 2013).

Quando as AuNPs são administradas por inalação, estas são movidas pelos cílios da zona da traquéia e envolvidas em muco, passando para o trato gastrointestinal onde verifica-se excreção pelas fezes. Dependendo do tamanho das AuNPs, estas podem ser translocadas para a corrente sanguínea ou para o sistema linfático, após atingirem o interstício pulmonar (BRANDÃO, 2012; DELGADO, 2013).

Na administração por via oral, as nanopartículas chegam até o intestino onde interagirão com as células do epitélio intestinal, sendo assim absorvidas em vez de eliminadas diretamente por via fecal. Logo, as AuNPs podem atravessar a barreira gastrointestinal e entrar na corrente sanguínea e, assim como na administração

intravenosa, podem ser direcionadas à órgãos como o fígado e o baço, especialmente se tiverem tamanho superior a 10 nm (BRANDÃO, 2012).

As AuNPs não sofrem metabolização enzimática, mas podem ser degradada pela elevação de temperatura causada por laser infravermelho próximo. Ainda não se sabe qual o nível de toxidade ao organismo gerado pela degradação desse material, juntamente com a toxidade gerada pela biodegradação de seu revestimento (ALVARENGA *et al.*, 2014; BRANDÃO, 2012; ZUCOLOTTO *et al.*, 2014).

Quando diz respeito à excreção de nanopartículas de ouro, administradas por via oral ou intravenosa, estas podem ser eliminadas pelas vias urinária e a hepatobiliar associada à excreção fecal, assim como pelas glândulas mamárias e sudoríparas, através do leite e suor respectivamente (BRANDÃO, 2012).

Embriotoxicidade

Estudos mostram que as nanopartículas (AuNPs) e medicamentos carregados por AuNPs no sangue materno podem penetrar na placenta e atingir o embrião ou feto em desenvolvimento, onde o conteúdo pode se difundir no estroma viloso, na rede capilar do feto e entrar no lúmen capilar. Entretanto, não conseguem detectar efeitos nocivos resultantes da toxicidade materna e disfunção placentária. Até onde sabemos não há estudos de toxicidade para o desenvolvimento de AuNPs em primatas e em outros mamíferos além de roedores (DELGADO, 2013).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nanomedicina está utilizando ferramentas da nanotecnologia como nanopartículas de ouro e funcionalizando-as à nanocarreadores, biossensores, pontos de calor e luminescência. De acordo com a revisão bibliográfica proposta, a liberação controlada de nanocarreadores e pontos de calor de nanopartículas estão se mostrando eficientes no tratamento do tumor, assim como, a programação de biossensores e luminescência de nanopartículas se mostraram eficientes quanto a especificidade local e ao diagnóstico do tumor.

Entretanto, não sabe-se ainda qual são os efeitos das AuNPs no corpo humano, ou seja, qual o nível de toxidade destes quando degradados por laser, quais os efeitos

do acúmulo de nanopartículas no baço, fígado, assim como em outros órgãos e principalmente se estas podem causar danos ao feto.

Diante disto, estudos precisam ser desenvolvidos para medir o impacto, agregação, degradação e toxicidade das nanopartículas de ouro no organismo, para que estas possam ser utilizadas na área oncológica, visando minimizar os efeitos colaterais, maximizar a aceitação do paciente a certa do tratamento e tornar o tratamento e diagnóstico oncológico mais eficiente.

5. REFERÊNCIAS

ACHE. **Câncer de A a Z**. 2015. Disponível em: <<http://www.ache.com.br/Corp/oncologia-canceraz.aspx>>. Acesso: 30 out 2015.

ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química nova**, Minas Gerais, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

ALVARENGA, E. C. et al. Potenciais alvos terapêuticos contra o câncer. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 1, São Paulo, 2014.

ALVES, D. M. T. **Nanocápsulas Obtidas por Automontagem Eletrostática como Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos**. Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte integrante dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Porto, 2013.

ANDERSON, P. M. **Célula unitária**. Mar. 2008. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=FygrpuHoLH4>>. Acesso: 30 out 2015.

ANDRADE, M. Administração de quimioterápicos: uma proposta de protocolo de enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem – REBEn**, Brasília, v. 60, n. 3, p. 331-335, maio/jun. 2007.

AZEVEDO, M. M. M. **Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, conseqüências e perspectivas**. Tese de Doutorado. São Paulo, 2005.

BERNARDO, W. M.; NOBRE, M. R. C; JANETE, F. B. A prática clínica baseada em evidências. Parte II: buscando as evidências em fontes de informação. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 1-9, 2004.

BIOLOGIAHUMANA: As interações entre biologia, cultura e saúde humana. **Exercício e Câncer – Parte1**. Março, 2011. Disponível em: <<http://www.biologiahumana.com/2011/03/exercicio-e-cancer-parte-i-sinopse.html>>. Acesso: 30 out 2015.

BONIFACIO, L. S. **Processos de agregação e fusão de nanopartículas de ouro: Uma abordagem química.** Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em no instituto de química. São Paulo. 2013

BRANDÃO, A. S. T. **Estudos de biodistribuição e toxicidade de nanopartículas de ouro no rato – influência do tamanho e revestimento.** Out. 2012. Dissertação de Mestrado em Toxicologia Analítica, Clínica e Forense submetida à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto, Portugal. 2012

BROCHADO, P. M. D. S. C. **Nanotecnologia e a sua aplicação à terapêutica oncológica.** 2013. Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa, Portugal, 2013.

CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; VILLARÁN, M. C. Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria. **INTECH Open Science and open minds.** 2015. Disponível em: < <http://www.intechopen.com/books/probiotics/encapsulation-technology-to-protect-probiotic-bacteria>>. Acesso: 30 out 2015.

CHEN, X.; GAO, S.; YANG, Y.; ZHANG, S. Multi-level assembly model for top-down design of mechanical products. **Computer-Aided Design**, v. 44 (10), p. 1033-1048, Oct. 2012

COSTA, P. R. **Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro como ferramenta terapêutica e diagnóstica.** Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em ciências e tecnologia das radiações, minerais e matérias como requisito parcial à obtenção de grau de mestre. Belo Horizonte, 2012.

CUNHA, M. A. A.; OLIVEIRA, M. S.; LIMA, D. N. P. As bases genéticas de formação do câncer: revisão de literatura. **Safety, Health and Environment World Congress**, p. 25 - 28, São Paulo, Jul. 2010.

DANHIER, F.; FERON, O.; PRÉAT, V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v.33, n. 4, p 135-146, 2010.

DELGADO, I. F. Desafios atuais da pesquisa em toxicologia: Avaliação da toxicidade de nanomateriais manufaturados para o desenvolvimento. **Revista Visão em debate: Sociedade, ciência e tecnologia**, v. 1, n. 4, p.11-24, 2013,

DOMINGUES, G. S. et al. Micropartículas nanorrevestidas contendo um fármaco modelo hidrofóbico: preparação em etapa única e caracterização biofarmacêutica. **Química nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 1966-1972, 2008.

DURAN, N. **Nanopartículas metálicas.** 2006. Disponível em: < <http://slideplayer.com.br/slide/362305/>>. Acesso: 30 out 2015.

FALLEIROS, J. P. B.; BRANDI, A. L.; FONSECA, A. R. A. Aplicações da nanotecnologia no diagnóstico e tratamento de câncer. **Nucleus**, v. 8, n.1, p. 151-169, abr. 2011.

FETT-CONTE, A. C.; SALLES, A. B. C. F. A importância do gene p53 na carcinogênese humana. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 2, p. 85-89, São Paulo, 2002.

FONTES, A. M. **“Biotemplates” para automontagem de nanopartículas de ouro: buscando inspiração na natureza para sintetizar estruturas complexas**. Dez. 2012. Dissertação apresentada à Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Química, para a obtenção do título de Mestre em Química. Salvador, 2012.

FORMARIZ, T. P. et al. Biotecnologia de sistemas coloidais aplicável na otimização do efeito terapêutico de fármacos usados no tratamento do câncer. **Infarma**, v. 16, n. 1-2, p. 44-57, Jan./Fev. 2004.

GIORDANI, C. F. A. **Nanocápsulas e nanoesferas de disseleneto de difenila: síntese e distribuição biológica**. Mar. 2012. Dissertação apresentada ao curso de mestrado do programa de pós graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Bioquímica Tóxica, da Universidade de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2012.

GLOBO. **G1: Nanopartículas de ouro criam sensor de impacto**. Abr./Maio. 2015. Disponível em: < <http://epocanegocios.globo.com/Caminhos-para-o-futuro/Desenvolvimento/noticia/2015/04/nanoparticulas-de-ouro-criam-sensor-de-impacto.html>>. Acesso em: 30 out 2015.

IHOBA, Instituto de Hematologia e Oncologia da Bahia. **O câncer**. 2015. Disponível em: < <http://www.ihoba.com.br/orientacoes-ao-cliente/o-cancer/>>. Acesso: 30 out 2015.

INCA, INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Declaração Mundial contra o Câncer**. Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/internacional/declaracao_mundial_contra_cancer>. Acesso: 02 nov 2015.

INCA, Instituto Nacional de Câncer. **Programa Nacional de Controle do Câncer de Mama**. 2014. Disponível em <www.inca.gov.br>. Acesso: 01 nov 2015

INSTITUTOONCOLOGIA. **Câncer: Estimativas no Mundo**. 2015. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estimativas-no-mundo/1706/1/>>. Acesso em: 02 nov 2015.

JI, X.; SONG, X.; LI, J.; BAI, Y.; YANG, W.; PENG, X. Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: The third role of citrate. *Journal of the American Chemical Society*, v. 129 (45), p. 13939-13948, Oct. 2007.

JUNIOR, M. R. S.; BAKUZIS, A. F. Simulações de efeito foto-térmico em nanopartículas de ouro. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA, 19., Ago. 2014, Goiânia : ABFM, 2014. Artigo científico.

JUNQUEIRA, J. S. S.; GUERRA, W.; SILVA, P. P. Elemento Químico: Ouro. **Química nova na escola**, v. 34, n. 1, p. 45-46, fev. 2012.

KIM, Y. G.; OH, S. K.; CROOKS, R. M. Preparation and characterization of 1-2 nm dendrimerencapsulated gold nanoparticles having very narrow size distributions. *Chemistry of Materials*, v. 16(1), p. 167-172, Texas, 2004.

KULKAMP, I.C.; PAESE, K.; POHLMANN, A.R. Estabilização do ácido lipóido via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. *Química nova*, v. 32, n. 8, p. 2078-2084, Santa Catarina, 2009.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças**. 8ª ed. Rio de Janeiro, ELISEVIER: 2010.

LEWIN, B. Genes VII. Porto Alegre, ARTMED: 2001, p. 819-828; 849-866.

LIU, Y.; NIU, T. S.; ZHANG, L.; YANG, J. S. Review on nano-drugs. *Natural Science*. v. 2, p. 41-48, Jan. 2010.

MARTINS, K. F. **Obtenção e caracterização de microesferas no copolímero PLDLA contendo paclitaxel**. Fev. 2013. Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências dos Materiais. São Paulo, 2013.

MIGUEL, C. S. C. **Síntese e Caracterização de Nanoartículas FeOx/Au/Ag em multicamada Núcleo-concha**. Set. 2012. Dissertação de Mestrado da Universidade da Madeira para obtenção do grau de mestre em Bioquímica Aplicada, Funchal, Portugal, 2012.

MOREIRA, J. R. L. **A nanotecnologia na liberação controlada de fármacos no tratamento do câncer de mama**. Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico na faculdade de Ceilândia. Brasília, 2013.

NANOCELLNEWS, Jornal eletrônico do Instituto Nanocell. **Biomarcadores de aminoácidos revelam um sinal precoce para câncer**, v. 2, n. 2, Out. 2014. Disponível em: < <http://www.institutonanocell.org.br/biomarcadores-de-aminoacidos-revelam-um-sinal-precoce-para-cancer/>>. Acesso em: 30 out 2015.

NIE, S. et al. Nanotechnology applications in cancer. *Annual Review Biomedical Engineering*, v. 9, p. 257-288, 2007.

OKAMOTO, O. K.; PAVON, L.F. Aplicações de recursos nanobiotecnológicos em câncer. *Revendo ciências básicas*, São Paulo, v. 5, n. 1, p.74-77. 2007.

OLIVEIRA, N. M. P. **Biossensor para detecção do antigénio específico da próstata**. 2011. Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular e Celular. Santiago, 2011.

PEREIRA, D. F. A. **Síntese e funcionalização de nanopartículas de ouro para a formação de bionanoconjugados para desenvolvimento de biossensores**. Dissertação

apresentada para a obtenção do grau de Mestre em no instituto de química. São Paulo. 2014.

PIMENTEL, L. F. et al. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas - RBCF**, v. 43, n. 4, Out./dez., 2007.

PROCESOSBIO. **Liofilización**. 2015. Disponível em: <<http://procesosbio.wikispaces.com/Liofilizaci%C3%B3n>>. Acesso: 30 out 2015.

ROCHA, U. et al. Feitos um para o outro. **Comunidade Brasileira de pesquisa de materiais**. 2015. Disponível em: <<http://sbpmat.org.br/artigo-cientifico-em-destaque-feitos-um-para-o-outro/?print=1>>. Acesso em: 30 out 2015.

RODRIGUES, A. S. S. A biologia molecular no prognóstico do carcinoma da tireóide. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 6, p. 470-482, Nov. / Dez. 2003.

ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e cultura**, v. 60, n. 2, São Paulo, 2008.

R7, Cria saúde. **Estatísticas do Câncer**. 2015. Disponível em: <<http://www.criasaude.com.br/N4480/doencas/estatisticas-cancer.html>>. Acesso: 31 out 2015.

SANTOS, N.P. et al. Usnic acid-loaded nanocapsules: an evaluation of cytotoxicity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 15, p. 355-361, 2005.

SIGMA-ALDRICH. **Biomaterials Tutorial**. 2015. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/biomaterials/tutorial.html>>. Acesso: 30 out 2015.

SILVA, A. R.; GARCIA, S. B.; CHACHUD, F.; ZUCOLOTO, S. Impacto prognóstico da expressão imuno-histoquímica do BRCA1 nos carcinomas mamários esporádicos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 197-203, Jun. 2005.

TARTAJ, P. et al. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, p. 182-197, 2003

VASQUEZ, E. M. M. **Obtenção de micro/nanopartículas poliméricas para o encapsulamento do fármaco bromidrato de galantamina**. Ago. 2011. Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. São Paulo, 2011.

VAUTHIER, C.; BOUCHEMAL, K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 5, p. 1025-1058, 2008.

ZUCOLOTTO, V.; MARANGONI, V.S.; CANCINO, J. Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. **Química nova**, São Paulo, v. 37, n. 3, p.521-526, fev. 2014.

WARD, L.S. Entendendo o processo molecular da tumorigênese. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 351-360, Ago. 2002.