



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Curso de Graduação em Farmácia



PRISCILLA CRISPINIANO DOS SANTOS

NANOPARTÍCULAS: TOXICIDADE BIOLÓGICA

JOÃO PESSOA - PB

2014

PRISCILLA CRISPINIANO DOS SANTOS

NANOPARTÍCULAS: TOXICIDADE BIOLÓGICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Graduação em
Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal da Paraíba, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. **Davi Antas e Silva**

JOÃO PESSOA – PB

2014

S237n Santos, Priscilla Crispiniano.

Nanopartículas: toxicidade biológica / Priscilla Crispiniano dos Santos. -- João Pessoa: [s.n.], 2014.

55f.: il. --

Orientador: Davi Antas e Silva.

Monografia (graduação) -- UFPB/CCS.

1. Nanopartículas. 2. Nanofarmacologia. 3. Nanotoxicologia. 4. Toxicidade biológica. 5. Nanobiotecnologia. 6. Regulação.

BS/CCS/UFPB

CDU: 620.3+54-722(043.2)

PRISCILLA CRISPNIANO DOS SANTOS

NANOPARTÍCULAS: TOXICIDADE BIOLÓGICA

Aprovada em ____ de _____ de 2014

Banca examinadora

Prof. Dr. Davi Antas e Silva
(Orientador)

Prof. Pablo Queiroz Lopes
(Examinador)

Profª Drª Micheline Azevedo Lima
(Examinadora)

Dedico este trabalho ao meu marido e aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Deus, obrigada pelo eterno e misericordioso amor e estímulo em todos os momentos da minha vida;

Aos meus pais, pelo apoio, ensinamentos e zelo por minha vida. Por terem me mostrado o caminho a seguir. A minha mãe, pela persistência, dedicação materna e grande incentivo e ao meu pai (in memoriam), pela sua ternura, bondade, compreensão, alegria e força;

Ao meu marido, pela bondade, esforço e dedicação. Por permanecer ao meu lado, me ajudando, alegrando meus dias e contribuindo para essa realização;

Ao meu orientador, Prof. Davi Antas e Silva, pela confiança depositada em mim, pela atenção, paciência e ensinamentos transmitidos;

À Prof^a. Micheline Azevedo Lima e ao Prof. Pablo Queiróz Lopes, por terem aceitado participar da banca examinadora do meu Trabalho de Conclusão de Curso, contribuindo com seus conhecimentos;

À minha irmã, pelo incentivo, por tentar ajudar e pelos momentos de diversão;

À Evanize, pelo apoio e vontade em ajudar;

À Thaísa, amiga e companheira de curso, por sempre permanecer ao meu lado na graduação, pela preocupação, disposição em ajudar e por compartilhar momentos de alegria;

Aos meus amigos da graduação, Talitta, Yuri e Paulo, pela boa convivência;

À Priscilla Maciel, pela amizade, por toda ajuda durante a iniciação científica;

Ao orientador, Prof. Robson Veras, pela oportunidade de ingressar na iniciação científica, pelos ensinamentos e orientações;

Ao Prof. Isac Almeida, pela oportunidade em participar do seu grupo de pesquisa de farmacologia cardiovascular e à equipe do laboratório;

À UFPB, aos colegas de curso e aos grandes professores que me capacitaram.

RESUMO

Nas últimas décadas observa-se um interesse sem precedentes na área da nanotecnologia, sendo um dos campos tecnológicos mais atrativos e em amplo crescimento, repercutindo no surgimento de produtos inovadores em áreas estratégicas. No entanto, para tanto crescimento, são poucos os estudos toxicológicos para que haja regulação eficaz e para que se assegure a saúde da população e do meio ambiente. Este estudo teve como objetivo expor um panorama a partir de pesquisas relacionadas à nanotoxicidade biológica por inalação, por via dérmica, via sistema circulatório, efeitos de citotoxicidade e dados regulatórios, correlacionando com a farmacologia. Os estudos na literatura demonstram uma grande capacidade de alcance das nanopartículas nos sistemas biológicos, geralmente são observadas respostas de ativação do sistema imunológico e deposição em órgãos com suas respectivas patologias causada pela presença das nanopartículas. Em contrapartida ainda é lento o surgimento de leis para a composição de medidas regulatórias das nanopartículas. Este trabalho sugere que os resultados existentes na literatura são capazes de compor medidas regulatórias de segurança biológica em aplicações de produtos diversos, principalmente no âmbito da nanofarmacologia, porém nota-se desinteresse na aplicação de medidas regulatórias.

Palavras- chaves: Nanopartículas, Nanofarmacologia, Nanotoxicologia, Toxicidade biológica, Nanobiotecnologia, Regulação.

ABSTRACT

In recent decades there has been an unprecedented interest in the area of nanotechnology, one of the most attractive and high-growth technology fields, resulting in the emergence of innovative products in strategic areas. However, due to such growth, there are still a few toxicological studies so that an effective regulation could ensure that people's health and the environment are safe. This study aimed to expose a panorama from a research related to biological nanotoxicity by inhalation, dermal, via the circulatory system, effects of cytotoxic and regulatory data, correlating with pharmacology. Studies in the literature show a wide capacity range of nanoparticles in biological systems, usually responses immune system activation and deposition are observed in organs with their respective pathologies caused by the presence of nanoparticles. In contrast is still slow the emergence of laws for the composition of regulatory measurements of nanoparticles. This work suggests that existing results in the literature are able to compose regulatory biosecurity measures in various product applications, especially within the nanofarmacology, however there is noted disinterest in the application of regulatory measurements.

Key words: Nanoparticles, Nanofarmacology, toxicology, biological toxicity, Nanobiotechnology, Regulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Microscópio de força atômica (AFM);

Figura 2: Sequência de imagens demonstrando diferentes grandezas da pele da mão ao DNA;

Figura 3: Exemplos de nanopartículas: Lipossoma (A), dendrímero (B);

Figura 4: Diferentes formas farmacêuticas com nanopartículas poliméricas;

Figura 5: Mecanismos de toxicidade dos fármacos;

Figura 6: Corpo humano e as vias de exposição à nanopartículas, órgãos afetados, e doenças associadas a partir da epidemiologia, in vivo e in vitro;

Figura 7: Comparação de tamanho de macrófago de rato para tamanho nanopartículas (em escala). Macrófagos humanos são até duas vezes maiores do que os macrófagos de ratos;

Figura 8 - Microfotografia de células de adenocarcinoma humano (A549) expostas a um nanotubo de carbono de parede múltipla, onde são visíveis duas células binucleadas (devido à inibição da citocinese induzida experimentalmente) exibindo um micronúcleo e alguns aglomerados de NMs. O micronúcleo contém fragmentos de cromossomas ou mesmo cromossomas inteiros e refletem a ação nociva do agente em estudo sobre os cromossomas.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

FDA	United States Food and Drug Administration
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
EMEA	Europe, the Middle East and África
ICH	International Conference on Harmonisation
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
NPs	Nanopartículas
NMs	Nanomateriais
NCI	National Cancer Institute
WHO	World Health Organization
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio

OBS: as abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo geral	17
2.2. Objetivo específico	17
3. METODOLOGIA	18
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
4. 1. CONSIDERAÇÕES SOBRE NANOTECNOLOGIA	21
4.1.1. Nanopartículas.....	22
4.1.2. Utilização de nanopartículas na farmacologia	24
4.1.3. Toxicidade farmacológica	27
4.2. REGULAÇÃO E NANOTOXICIDADE.....	30
4.3. NANOTOXICIDADE BIOLÓGICA E SUA CORRELAÇÃO COM A NANOFARMACOLOGIA	31
4.3.1. Toxicidade pulmonar após inalação	34
4.3.2. Toxicidade digestiva após ingestão.....	37
4.3.3. Toxicidade dérmica por nanocosméticos	38
4.3.4. Possíveis efeitos tóxicos nos sistema sanguíneo.....	39
4.3.5. Genotoxicidade e citotoxicidade de nanopartículas	40
4.4. RISCOS NANOTECNOLÓGICOS	43
5. CONCLUSÃO	45
6. REFERÊNCIAS	47

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Devido ao crescente avanço quanto às aplicações da nanotecnologia em diversos setores estratégicos, surge uma grande preocupação relacionada ao dano biológico. Estudos toxicológicos ainda não são suficientes para a criação de uma regulação segura e eficaz, podendo repercutir em grandes impactos ambientais, ao passo que pesquisas demonstram resultados de toxicidade desses novos produtos.

Desde a pré-história o homem tenta modificar o ambiente em que vive para aproveitar a natureza da melhor maneira. Após muitos progressos criou várias ciências e descobriu diferentes formas de utilização de substâncias que se aplicam em diversas áreas, tais como, saúde e tecnologia. Dentre esses muitos avanços, surge um novo conhecimento no final do século XX, entre as décadas de 1970 e 1980, quando grupos de cientistas exploraram a nanociência para o surgimento da nanotecnologia (SANTOS; 2008). A nanociência é multidisciplinar, sendo necessário o envolvimento de várias outras ciências, tais como, física, química, biologia, engenharia e matemática.

Em 1974, o cientista Nório Taniguchi utilizou o prefixo “nano”, palavra derivada do latim, “nanus”, que denomina coisas demasiadamente pequenas. Por esta razão, recorreu a essa epistemologia para melhor representar a nanociência, que tem como produto e ferramenta a nanotecnologia. Na nanotecnologia as partículas são manipuladas com magnitude extremamente pequenas, na escala de nanômetros (nm), que é equivalente a bilionésima parte de um metro (CHAVES; 2007). No entanto, os benefícios se apresentam acompanhados também de desvantagens, pois as nanopartículas podem interferir negativamente sobre o homem e o meio ambiente pela facilidade de contato com estruturas biológicas muito pequenas.

A nanobiotecnologia é definida como o estudo, processamento, fabricação e desenho de dispositivos orgânicos com nanomateriais para atuação biológica ou biomateriais, nos quais pelo menos um componente funcional possui tamanho nanométrico. As áreas importantes da nanobiotecnologia incluem Nanomedicina (biologia molecular e genética), Física-médica (diagnóstico), Nanofármacos (fármacos encapsulados) e Nanocosmética (encapsulação de ativo). (SANTOS, 2009). Por estar intimamente ligada à interação biológica, a nanobiotecnologia vem sendo palco de diversos estudos toxicológicos para uma melhor aplicabilidade, com diminuição de impactos negativos decorrentes das da nanotecnologia sobre os organismos.

No campo da saúde, a área da ciência farmacêutica recorre a vários artifícios para obter diversos tipos e formas de preparações dos veículos estratégicos para que medicamentos alcancem uma melhor disponibilidade dos princípios ativos em seu local de ação. Para melhoria dessas respostas, os artifícios farmacológicos vêm se transformando com os avanços nos estudos da nanotecnologia, que estão contribuindo para melhorias na medicina e na área das ciências farmacêuticas, surgindo um novo campo de atuação, a nanofarmacologia.

A eficácia de uma droga depende de seu mecanismo de ação, do veículo de entrega, da via de administração, concentração correta, distribuição e eliminação (ASHAI, 2012; RAUCH, 2013). Os medicamentos nanotecnológicos possuem a capacidade de carrear princípios ativos em seus locais alvos com mais especificidade, contornando problemas associados aos medicamentos disponíveis comercialmente, tais como, toxicidade, estabilidade, dosagem, eficácia, segurança e adesão do paciente ao tratamento (SAHOO, 2003). Entretanto a nanofarmacologia necessita de mais estudos a respeito dos possíveis riscos relacionados à toxicidade, por se tratarem de substâncias muito pequenas e alcançarem lugares que antes eram impossíveis de serem alcançados pelos produtos convencionais.

Devido ao fato de que a utilização de nanomateriais seja uma estratégia promissora, a produção desses produtos está aumentando rapidamente (ROCCO, 2001), o que acarretará em um aparecimento de nanomateriais no ar, água, solos e organismos (MUELLER E NOWACK, 2008). Essa questão ambiental relacionada à aplicação da nanotecnologia faz com que se faça necessário uma atenção maior voltada para a indústria que é grande responsável por uma gama de impactos ambientais devido ao manuseio inadequado de seus materiais e descarte inapropriado de resíduos, assegurando a garantia do desenvolvimento e cumprimento de ferramentas de sustentabilidade e minimizando os potenciais impactos que as nanopartículas são capazes de causar, pelo fato de serem minúsculas e carregarem substâncias químicas com maior efetividade, podendo gerar altos índices toxicológicos.

A aplicabilidade da nanobiotecnologia em diversas áreas requer uma investigação mais aprofundada, visto que altera o ambiente biológico, possuem maior acessibilidade em barreiras fisiológicas, e as propriedades físico-químicas desses novos reagentes são mais complexas, tornando-se mais desafiadoras do que os produtos convencionais (FLORENCE, 2012; MUTHU, 2010).

Em decorrência desses riscos a nanobiotecnologia e a aplicação da nanociência na farmacologia, pode resultar em algum potencial dano a saúde humana, pelo fato de que as características químicas nanométricas desses materiais aumentam a superfície de contato com

a composição biológica, sendo necessário um conhecimento multidisciplinar e um planejamento rigoroso, evitando efeitos adversos.

O objetivo desse trabalho é demonstrar, a partir de um estudo aprofundado, potenciais efeitos de toxicidade relacionados à nanobiotecnologia e à utilização de nanopartículas na farmacológica, bem como os efeitos tóxicos.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Expor um panorama com pesquisas relacionadas à nanotecnologia e toxicidade biológica, correlacionando com a farmacologia.

2.2. Objetivo específico

- Descrever algumas considerações sobre nanotecnologia;
- Expor os principais usos farmacológicos de nanopartículas;
- Fazer um levantamento sobre pesquisas relacionadas à nanotoxicidade biológica;
- Estudar os riscos da nanotoxicidade biológica, correlacionando com os possíveis efeitos de toxicidade farmacológica.

Metodologia

3. METODOLOGIA

O presente estudo foi construído através de uma revisão bibliográfica, realizada entre o período de 2001 a 2014, a partir de algumas bases de dados como: PubMed, Medline, Sibi (USP), Portal Periódicos Capes, Bireme, ISI, SCIRUS, IBICT, Web of Science e Dissertation Abstracts. Na pesquisa, foram consultados artigos originais de pesquisa e de revisão, bem como livros, revistas e internet, sobre o tema nanotoxicidade, e palavras-chave: nanofarmacologia, nanotecnologia, nanopartículas, nanotoxicologia, toxicidade biológica. Os artigos obtidos foram avaliados segundo a sua relevância e que apresentam tópicos diretamente relacionados com o assunto. Os dados foram descritos na forma de tabelas, gráficos, figuras.

Revisão bibliográfica

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Considerações sobre nanotecnologia

Para muitos a nanotecnologia teve seu marco inicial em 29 de dezembro de 1959 com o físico Richard Feynman, durante o encontro anual da Sociedade Americana de Física. Ele afirmou que em breve os cientistas poderiam manipular átomos, construir estruturas nanométricas e aplicá-las onde quisessem desde que as leis naturais fossem mantidas. Esta afirmação define a nanotecnologia, que é a capacidade de manipular partículas em escala nanométrica, e planejar sua ação de acordo com o que se deseja, possibilitando a construção de matérias inexistentes na natureza (FEYNMAN, 1959).

No entanto, após a afirmação de Feynman o início das aplicações nanométricas ocorreu na década de 80 com os microscópios de varredura por tunelamento, em 1981, Gerd Binnig e Heinrich Rohrer, sendo possível a primeira visualização dos átomos individuais.

Em 1989 Donald M. Eigler da IBM na Califórnia, nos Estados Unidos, escreve a palavra IBM com 35 átomos de xenônio mostrando que estruturas poderiam ser construídas átomo por átomo ou moléculas por moléculas.

Ainda no ano de 1986, Gerd Binnig inventou uma ponta do microscópio capaz de enxergar qualquer coisa. Junto à ponta, foi acoplado um pequeno pedaço de diamante que contorna os átomos exercendo uma pressão pequena, o suficiente para não destruí-la. Este ficou conhecido como o microscópio de força atômica (AFM) (CADIOLI; SALLA, 2006).

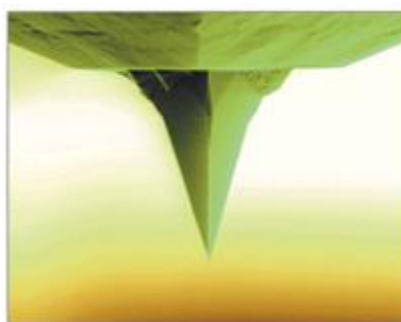


Figura 1: Microscópio de Força Atômica (AFM).

FONTE: CAPOZZOLI, U. **A ciência do pequeno em busca da maioria.** Revista **Duetto, Scientific American Brasil**, ed. n° 1, junho de 2002. Disponível em: http://www2.uol.com.br/sciam/reportagens/a_ciencia_do_pequeno_em_busca_da_maioridade_imprimir.html. Acesso em maio de 2014.

Em 1991 Sumio e Iijama da NEC, em Tsukuba no Japão sintetizaram nanotubos de carbono. (CADIOLI; SALLA, 2006). Segundo DURÁN, MATTOSO E DE MORAIS 2006, p.17, os nanotubos revolucionaram a nanotecnologia, pois exibiram resistência mecânica muito alta e capacidade de aplicações singulares.

Desde a afirmação visionária de Richard Feynman em 1959 a respeito da nanotecnologia, e a primeira aplicação nos anos 80, é notória a ascensão de descobertas e aplicações dessa nova tecnologia. A utilização da nanociência em diversas áreas alterou profundamente o cenário atual do mundo, devido às suas vantagens sobre os produtos convencionais.

A importância da nanotecnologia é multidisciplinar, pois é possível aplicá-la em diversos setores obtendo eficácia significativa sobre os produtos, como eletrônicos, permitindo a compactação dos computadores a microcomputadores e chips; energia, um exemplo são pesquisas a respeito da condutividade do grafeno, que é uma estrutura laminar, composta por átomos de carbono que se agrupam formando hexágonos, possui uma condutividade elétrica perfeita, permitindo que os elétrons deslizem sobre eles, o que pode ser aplicado em telas touch screen e até aplicações na indústria farmacêutica. Outras aplicações são sabão em pó, lentes. Essa ascensão requer cuidados quanto os limites biológicos e ambientais.

4.1.1. Nanopartículas

O nanômetro corresponde à bilionésima parte do metro ou a milionésima parte do milímetro (1×10^{-9} m). A palavra nanotecnologia vem do grego, onde o prefixo nano significa “anão”. (MARTINELLO, AZZVEDO, 2009).

As nanopartículas são termodinamicamente instáveis e têm a tendência natural de se agregarem e crescerem. Desta forma, o grande desafio do químico de materiais consiste exatamente em preparar nanomateriais estáveis, que permaneçam nesta escala de tamanho sem sofrer decomposição e sem agregação e crescimento, e monodispersos, tanto com relação ao tamanho quanto com relação à forma de suas partículas, que possam ser manipulados, dispersos, depositados sobre substratos, sem perder suas características (ZARBIN, 2007)

As nanopartículas são estruturas nanométricas que estão compreendidas na escala 1-100 nm (nanômetros). Elas podem se agregar e quando ultrapassam 100 nm, são consideradas nanomateriais, que também possuem efeitos, porém não são consideradas nanopartículas, por possuírem uma dimensão maior que 100nm (SANTOS, 2009)

A física e a química devem estar obrigatoriamente presentes nesta ciência, pois deve ser caracterizado o grau de agregação, pureza, contaminação com outro material, provando a confiabilidade do nanomaterial.

Segundo Arcuri, 2008, As nanopartículas mudam de comportamento no nível nano devido aos “efeitos quânticos”. É uma constatação de que em escala nanométrica as propriedades dos materiais e elementos químicos se alteram drasticamente. Apenas com a redução de tamanho e sem alteração de substância, verificou-se que os materiais apresentam novas propriedades e características como resistência, maleabilidade, elasticidade, condutividade e poder de combustão. Na medida em que a matéria é reduzida à escala nanométrica as suas propriedades começam a ser dominadas por efeitos quânticos. A Mecânica Quântica é a parte da física (mais particularmente, da física moderna) que estuda o movimento das partículas muito pequenas. O conceito de partícula "muito pequena", mesmo que de limites muito imprecisos, relaciona-se com as dimensões nas quais se começa a notar efeitos como a impossibilidade de conhecer com infinita acuidade e ao mesmo tempo a posição e a velocidade de uma partícula entre outras. Esses efeitos chamam-se “efeitos quânticos”.

A figura 2 demonstra comparações das grandezas macro, micro e nano sendo possível visualizar a pele ampliada em 1 centímetro até 1 nanômetro do átomo de DNA.

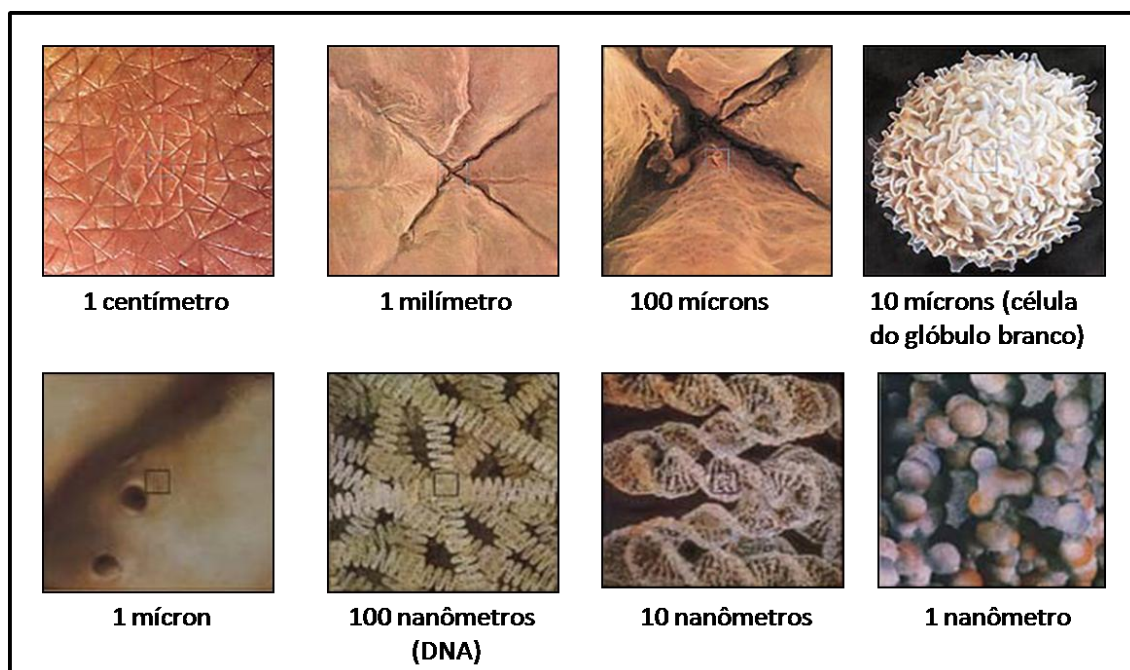


Figura 2: Sequência de imagens demonstrando diferentes grandezas da pele da mão ao DNA. Cada imagem é 10 vezes menor que a imagem anterior.

Fonte: MORRISON, P.; OFFICE.C.; EAMES R., **Powers of Ten, Scientific American Press, 1982**. Also Pyramid Films, Santa Monica, CA 1978.

A classificação das nanopartículas quanto à natureza pode ocorrer de duas formas:

As nanopartículas engenheiradas ou manufaturadas, elaboradas pela engenharia, elaboradas pelo homem com um propósito; Representam a principal fonte de nanopartículas.

As incidentais ou antropogênicas, de origem da atividade humana, antropogênicas, não intencional, são mais heterogêneas, pois não foram feitas com finalidade específica, ao contrário da classificação anterior. Exemplos: combustão de carvão, exaustão de veículos, etc.

As naturais, são encontradas na natureza, provém de poeiras de minerais, rochas vulcânicas, fumaça, etc.

As nanopartículas planejadas, que são elaboradas pela engenharia, são classificadas em dois diferentes tipos, inorgânicas ou orgânicas. Na literatura encontra-se com mais facilidade, trabalhos envolvendo nanopartículas inorgânicas, já as orgânicas são mais difíceis.

As nanopartículas metálicas e óxidos são os principais representantes do grupo das nanoestruturas inorgânicas. Os exemplos mais comuns de nanopartículas orgânicas são os componentes celulares e os vírus.

Na produção de produtos nanotecnológicos, são usadas técnicas para manipular a matéria, na escala de átomos e moléculas. Existem dois métodos de síntese e fabricação de nanomateriais:

Top-down (Métodos de cima para baixo): parte de uma estrutura grande para se fazer uma estrutura pequena. (litografias ópticas). As estruturas nanométricas são produzidas através da moagem de matérias macroscópicas.

Botton-up (Métodos de baixo para cima): formação de nanoestruturas a partir de átomos e moléculas individuais, fazendo uma estrutura maior (auto- organização). As estruturas são formadas de átomos ou moléculas capazes de se autorreajustar, sendo disponível somente com avanço e aperfeiçoamentos tecnológicos, pois exigem controle rigoroso na produção dos materiais utilizados, onde deve ser bem fino. (MARCONI, 2009).

4.1.2. Utilização de nanopartículas na farmacologia

A aplicação da nanotecnologia para o desenvolvimento de medicamentos mais seguros e eficazes alterou o panorama das indústrias farmacêuticas e de biotecnologia. Os sistemas de entrega de fármacos, bem como o acelerado crescimento em inovação e sucessos emergentes

relacionados à utilização de nanopartículas, têm aumentado o interesse pela área da Nanomedicina. (KAMALY, 2012).

Na farmacologia, as nanopartículas possuem o objetivo de transportar substâncias para o organismo, tecidos e células, melhorando a eficácia terapêutica e diminuindo o efeito tóxico das substâncias carreadas. Os sistemas de liberação nanoestruturados apresentam inúmeras vantagens para a administração de fármacos, incluindo a capacidade de proteger as moléculas ativas contra degradação em meio fisiológico, liberar controladamente a substância ativa no sítio de ação, além de permitir a administração de fármacos hidrofóbicos em sistemas dispersos aquosos. As propriedades biofarmacêuticas das substâncias são significativamente melhoradas com o uso de carreadores nanoestruturados, levando a importantes alterações nos processos farmacocinéticos de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação de fármacos, permitindo ainda a redução da dose e dos efeitos adversos dos mesmos (CARLUCCI & BREGNI, 2009).

Diversos sistemas para liberação controlada de drogas têm sido engendrados e descritos, com suas vantagens e desvantagens comparadas, podendo ser classificados em quatro grupos principais: carregadores virais, compostos catiônicos orgânicos, proteínas recombinantes e nanopartículas inorgânicas. (CORR, 2008; HILD 2008; CUNHA, 2010).

Os custos e o tempo para o desenvolvimento de um novo medicamento podem ser significativamente reduzidos, visto que tal estratégia visa o aproveitamento terapêutico de moléculas cuja estrutura, propriedades físico-químicas e/ou farmacológicas foram previamente estabelecidas. Alguns exemplos de sistemas de liberação a partir de nanoestruturas são as: nanopartículas poliméricas, nanopartículas sólidas lipídicas, lipossomas, nanoemulsões, micelas e dendrímeros. (DEVALAPALLY, CHAKILAM, AMIJI, 2007). A figura 3 são exemplos de dendrímeros e lipossomas e nanoestruturadas. Sendo possível observar o carregamento de fármacos em estruturas que foram previamente planejadas para atingir o local específico e proteger o princípio ativo, evitando sua degradação e assegurando a ação farmacológica.

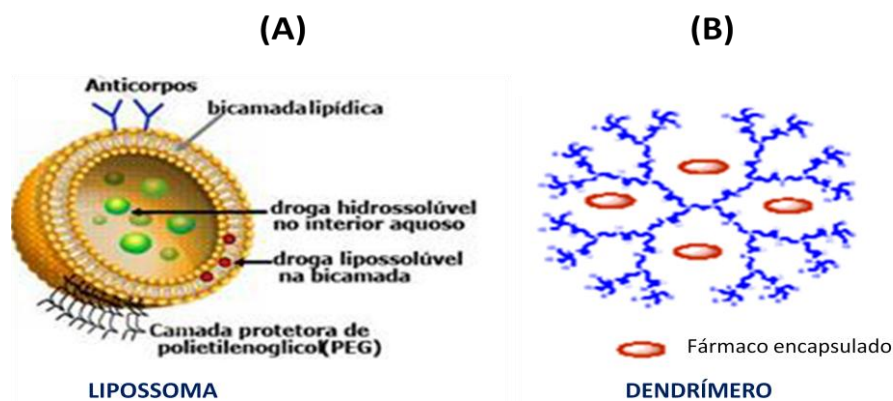


Figura 3: Exemplos de nanopartículas: Lipossoma (A) e dendrímtero (B).

Fonte: SAHOO, S. K.; LABHASETWAR, V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discovery Today*, v. 8 (24), p. 1112-1120, 2003.

As chamadas nanopartículas poliméricas são sistemas carregadores de fármacos e demais moléculas que apresentam diâmetro abaixo de 1 μm (1.000 nm) que incluem as nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NE). Esses dois sistemas diferem entre si segundo a composição, pela presença ou ausência de óleo em suas composições, e organização estrutural (MELO, 2010; OLIVEIRA, 2009; SANTOS, FIALHO, 2007; DURÁN ET AL., 2006; SCHAFFAZICK ET AL., 2003).

As nanopartículas poliméricas podem ser usadas em fármacos dissolvidos, recobertos, dispersos ou encapsulados, sendo classificado em duas categorias: nanoesferas e nanocápsulas. Elas são diferenciadas pela sua organização estrutural e composição.

A **nanoesfera** é formada por uma matriz polimérica, onde os fármacos se encontram dispersos ou adsorvidos.

As **nanocápsulas** são estruturas responsáveis pela veiculação de fármacos. Nelas a localização desses princípios ativos se encontra na parte interna da cavidade oleosa ou aquosa, envolta por uma membrana polimérica, ou são adsorvidos nessa membrana. (SANTOS, FIALHO, 2010).

A Figura 3 demonstra a nanopartícula polimérica e a diferença morfológica entre a nanoesfera (sistema matricial) e nanocápsula (sistema reservatório). Os métodos de obtenção para essas formas farmacêuticas são semelhantes, com diferenças no processo de polimerização.

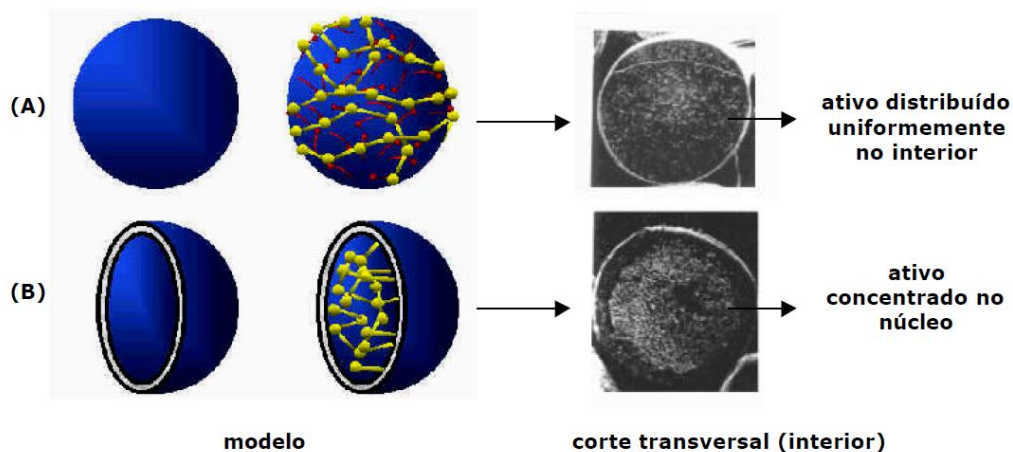


Figura 4: Diferentes formas farmacêuticas com nanopartículas poliméricas: (A) nanoesfera (sistema matricial) e ao lado uma foto real com corte transversal demonstrando o ativo distribuído uniformemente no interior e (B) cápsula (sistema reservatório), foto demonstrando o ativo concentrado no núcleo.

Fonte: LAMBERT, G. **Oligonucleotide and Nanoparticles**. Disponível em <<http://perso.clubinternet.fr/ajetudes/nano/index.html>> Acesso em dezembro de 2003.

Nanoemulsões são sistemas heterogêneos com a dispersão de gotículas uniformemente, contendo dois líquidos imiscíveis dispersos um em outro na forma de glóbulos de tamanho reduzido comparados com as emulsões, obtendo emulsão (óleo/água-O/A ou água/óleo-A/O).

Os tipos de emulsões são divididos pelo tamanho das partículas existentes. A macroemulsão, tem partículas do tamanho de 100 a 1µm, a nanoemulsão, que tem partículas que variam de 100 a 200 nm, a microemulsão, aonde suas partículas vão de 10 a 100 nm e a solução micelar, que tem partículas que variam de 1 a 10nm. (TATROS 2004; CAPEK, 2004).

A inovação da utilização de nanopartículas auxilia no planejamento de fármacos. Os exemplos citados de nanopartículas utilizadas representam o início de uma fase crucial, onde é possível obter sistemas de entrega de fármacos nunca vistos antes. Todavia, essa aplicação deve caminhar acompanhada de estudos nanotoxicológicos.

4.1.3. Toxicidade farmacológica

“Todas as substâncias são venenos, não existe nenhuma que não seja. A dose correta diferencia um remédio de um veneno”. (Paracelso 1443-1541). A interação entre substância e organismo é um ponto crucial para o planejamento dos fármacos, pois podem ser agentes tóxicos, gerando respostas indesejadas, que altera ou destrói funções vitais e levam à morte.

Os fármacos são prescritos com o intuito de prevenir ou tratar doenças. No entanto, esses fármacos podem apresentar toxicidade para certos pacientes. As chances de um fármaco causar mais prejuízo do que benefícios a um paciente dependem de diversos fatores, incluindo idade, gravidez, predisposição genética, ação não seletiva ou uso ou administração inapropriada do fármaco, dose do fármaco administrado ou outros fármacos utilizados pelo paciente. (GOLAN, 2009).

A FDA (United States Food and Drug Administration) estabeleceu um sistema de classificação dos fármacos baseado em dados obtidos em humanos e também em animais, que engloba fármacos da classe A: seguros, até a classe X: de teratogenicidade comprovada. (LEFEBRE, RUBIN, 2009).

No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), elaborou o “Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos” em 2010. É uma orientação para a condução de estudos não clínicos de segurança durante o desenvolvimento de medicamentos. No entanto, caso o pesquisador/instituição consiga comprovar a segurança desses fármacos por outros estudos científica e tecnicamente mais viáveis, os dados apresentados poderão ser avaliados pela ANVISA.

A elaboração do guia foi baseada em documentos de agências reconhecidas pela vigilância sanitária de medicamentos (FDA, EMEA), e de instituições de interesse na área (ICH, OECD, NCI, WHO), visando uma maior harmonização com a regulamentação internacional. Além disso, o guia também tem a intenção de racionalizar estudos não clínicos, evitando duplicidades e utilização desnecessária de animais sem que isso possa comprometer a obtenção e a confiabilidade de informações referentes à segurança da droga a ser testada.

Os estudos não clínicos de segurança propostos nesse documento incluem: estudos de toxicidade de dose única (Aguda), toxicidade de doses repetidas, toxicidade reprodutiva, genotoxicidade, tolerância local e carcinogenicidade além de estudos de interesse na avaliação da segurança farmacológica e toxicocinética (Administração, Distribuição, Metabolismo e Excreção – ADME). (ANVISA, 2010).

Na figura 5 é possível visualizar os mecanismos de toxicidade dos fármacos ou seus metabólitos. Os fármacos podem ser destoxificados e excretados, mas também são capazes de interagir com componentes do organismo e resultar em efeitos adversos leves ou graves, podendo levar a morte.

Os mecanismos de toxicidade são considerados para o planejamento de fármacos e realização de estudos toxicológicos regulatórios de medicamentos, devido a essa capacidade que os fármacos possuem de interferir nas atividades fisiológicas através de ligações ou reações que alteram o funcionamento do organismo e ocasionar efeitos tóxicos.

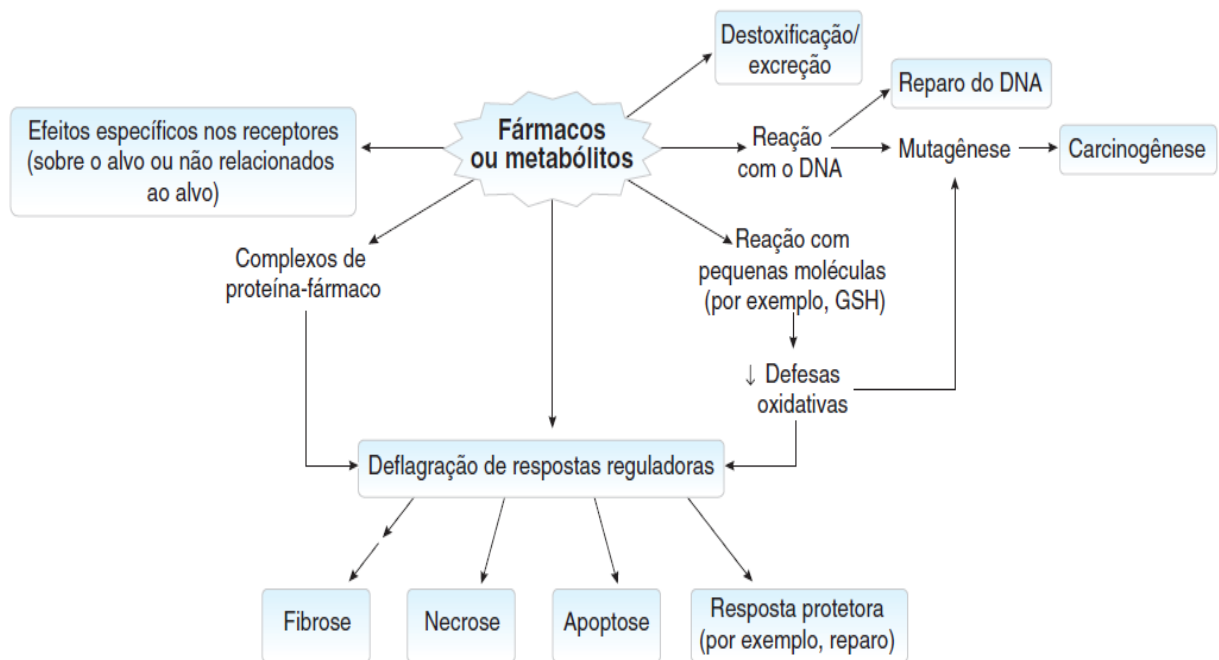


Figura 5: Mecanismos de toxicidade dos fármacos. Um fármaco ou seus metabólitos ou ambos interagem com receptores específicos, mediando efeitos adversos sobre o alvo ou não relacionados ao alvo. Os metabólitos podem ser destoxificados e excretados, ou podem reagir com uma variedade de macromoléculas, incluindo DNA, antioxidantes pequenos, como a glutathiona (GSH), ou proteínas celulares ou plasmáticas. A formação de complexos de DNA sem reparo ou de reparo inadequado é freqüentemente mutagênica e pode levar ao câncer. O comprometimento das defesas oxidativas pode resultar em inflamação e morte celular (apoptose ou necrose). A formação de complexos fármaco-proteína pode deflagrar respostas imunes, que podem causar lesão de células e tecidos. Independentemente do mecanismo de lesão, pode ocorrer uma graduação de respostas agudas, desde protetoras até a apoptose e necrose. A inflamação crônica e o reparo também podem levar à fibrose tecidual.

FONTE: GOLAN M.D., EHRIN, J. ARMSTRONG, M.D, ARMEN, H. TASHJIAN, DAVID, E. **Princípios de Farmacologia**, Editora: GUANABARA KOOGAN, pág. 58-68, 2ª Ed. 2009

4.2. REGULAÇÃO E NANOTOXICIDADE

Apesar das melhorias demonstradas pelos nanomateriais nos sistemas de entrega de fármacos, existe uma grande preocupação quanto aos riscos de efeitos nocivos ao meio ambiente e à saúde, em decorrência da exposição aguda ou crônica dessas nanoestruturas através de produtos cada vez mais presentes no mercado. Junto a essa nova realidade da nanociência, surge o campo da Nanotoxicologia (WHARHEIT, 2008), possibilitando a realização de estudos que avaliam os efeitos das nanopartículas em culturas de células (*in vitro*) e em modelos animais (*in vivo*). Esses estudos nanotoxicológicos são necessários para que se desenvolva uma regulação segura.

A metodologia desses testes baseia-se em expor nanopartículas nesses modelos e avaliar parâmetros para obter características de toxicidade. A partir desses estudos, é possível caracterizar parâmetros que irão compor a regulação. Através de estudos em organismos vivos são analisadas diversas características sobre os efeitos maléficos ainda desconhecidos. É essencial considerar essas características e registrar os dados obtidos nos estudos, tais como, tamanho, constituintes, forma, ligantes de superfície, área de contato com o meio, comportamento em solução do meio de interesse, rota de exposição do organismo (inalação, ingestão, pele, via intravenosa), entre outros. Uma classificação completa significa resultados seguros e com ampla utilidade (BERTÉ, 2013).

Há também aspectos muito sutis nas propriedades de nanopartículas. Os efeitos quânticos observados são responsáveis por causar efeitos complexos, são potenciais respostas não intencionadas, uma vez que a partícula nanométrica apresenta alterações quanto às características físicas e químicas, também há alteração da resposta biológica. Daí a importância de inserir várias ciências, nesse caso, a física moderna onde se inserem estudos de efeitos quânticos. Além de respostas biológicas não intencionadas, que são respostas individuais, relacionadas a reações pertinentes à resposta genética de cada organismo na natureza.

Tais estudos nanotoxicológicos, definem potenciais riscos quanto à utilização de nanopartículas elaboradas, auxiliam na composição de ações preventivas proporcionando segurança, limitando a indicação de uso, impedindo possíveis riscos de interação com organismos e indicando o seu destino após manipulação ou descarte. Para isso, se faz necessário tomar medidas cautelosas de regulação desde ao planejamento até a indústria e consumo.

A nanotoxicologia na sociedade proporciona segurança para pesquisa e aplicação de produtos para indústria, seleciona nanomateriais que aperfeiçoem produtos, que beneficie e minimize os riscos, elabora requisições de dados e gera informações para que o governo tome decisões aceitáveis, disponibilizando essas informações também para o público. A realização desses preceitos proporciona melhor aceitabilidade às nanotecnologias.

No entanto, os riscos aumentam na proporção que as tecnologias avançam. Observa-se o não cumprimento do princípio da precaução, que é adotado para as situações de incerteza científica, quando há riscos de uma atividade ou produto (BERGER FILHO, 2010). Óxidos catalisadores, por exemplo, são utilizados sem controle adequado, e novos produtos não são revisados em nenhum país. É necessário que as idéias de proteção a partir da nanotoxicologia sejam desenvolvidas precavendo a saúde de organismos e sistemas ecológicos.

4.3. NANOTOXICIDADE BIOLÓGICA E SUA CORRELAÇÃO COM A NANOFARMACOLOGIA

A nanotoxicologia é uma ferramenta essencial que deve ser explorada conforme o andamento de estudos e aplicações inovadoras de partículas nanométricas, proporcionando a composição de medidas para a proteção biológica a fim de impedir danos drásticos à saúde, principalmente relacionados com a nanofarmacologia, evitando a toxicidade.

O planejamento de fármacos baseado nesses materiais deve ser minucioso, explorando profundamente conhecimentos de diversas áreas, tais como, biologia, física, química e engenharia. A importância da interdisciplinaridade se dá devido ao tamanho nanométrico dessas partículas, pois há um aumento da interação superfície/volume, o que aumenta a superfície de contato, aumentando a reatividade química na superfície da nanopartícula (ARCURI, 2008). Isso implica em cuidados desafiadores para a proteção biológica através de ferramentas físico-químicas, que está intimamente ligada às características da nanopartícula, além da necessidade de recorrer a outras ciências necessárias, principalmente às ciências biológicas, pela capacidade de exposição em sistemas ecológicos, consequente interação com organismos, podendo resultar em nanopartículas vencendo barreiras biológicas causando grande reatividade química em sua superfície.

A aplicação em numerosos produtos, juntamente com o crescente aumento de publicações que expressam novas descobertas inovadoras na área da nanotecnologia, desperta a atenção para eventuais riscos e definição de uma política de regulação adequada, que

amenize danos decorrentes da utilização dessas nanopartículas engenheiradas ou manufaturadas. O gráfico 1, expressa um levantamento de pesquisas no campo da nanomedicina, obtido através da base de dados Web of Scienc, onde é possível observar um aumento crescente de publicações com a palavra “Nanomedicine”. Esses dados Reforçam a necessidade de desenvolvimento em pesquisas de toxicidade de nanopartículas, pelo fato de que novas e numerosas descobertas geram incertezas quanto aos riscos de exposição.

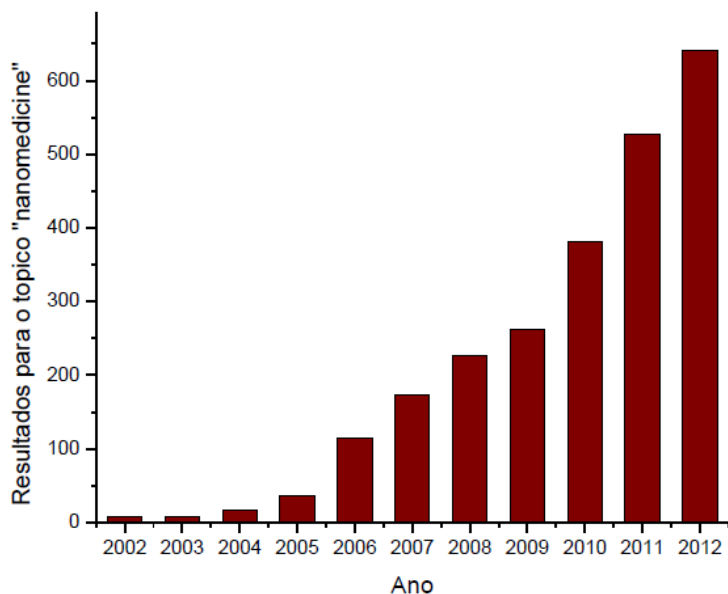


Gráfico 1: Publicações com a palavra “Nanomedicine” de 2002-2012.

Fonte: BERTÉ, R. **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata conjugada com peptídeos antimicrobianos**, dissertação de mestrado, São Carlos, 2013.

O sistema biológico possui mecanismos químicos de defesa e barreiras biológicas mecânicas responsáveis pelo impedimento de corpos estranhos. As nanopartículas, devido ao seu pequeno tamanho, são capazes de atravessar barreiras imunológicas da pele, pulmões ou trato gastrointestinal, podendo evoluir para problemas sistêmicos decorrente da translocação dessas partículas para a corrente sanguínea e consequente presença em órgãos, sistema linfático, tecidos e células, dependendo de seu tamanho. Frente a essa problemática, presume-se que o uso inadequado das nanopartículas pode levar ao desenvolvimento de diversas patologias como inflamações, estresse oxidativo ou até levar ao câncer.

A figura 6 demonstra um resumo dos possíveis efeitos adversos à saúde, demonstrando as rotas das nanopartículas no organismo humano, seus órgãos afetados e as doenças associadas, sendo importante ressaltar que nem todas as nanopartículas produzem esses efeitos, pois a toxicidade depende de diversos fatores como, tamanho, composição e outras

características químicas ou físicas que possuem potencial para respostas danosas que podem variar de acordo com cada tipo de organismo. Essa figura foi construída a partir de dados *in vivo* e *in vitro* por ingestão e contato.

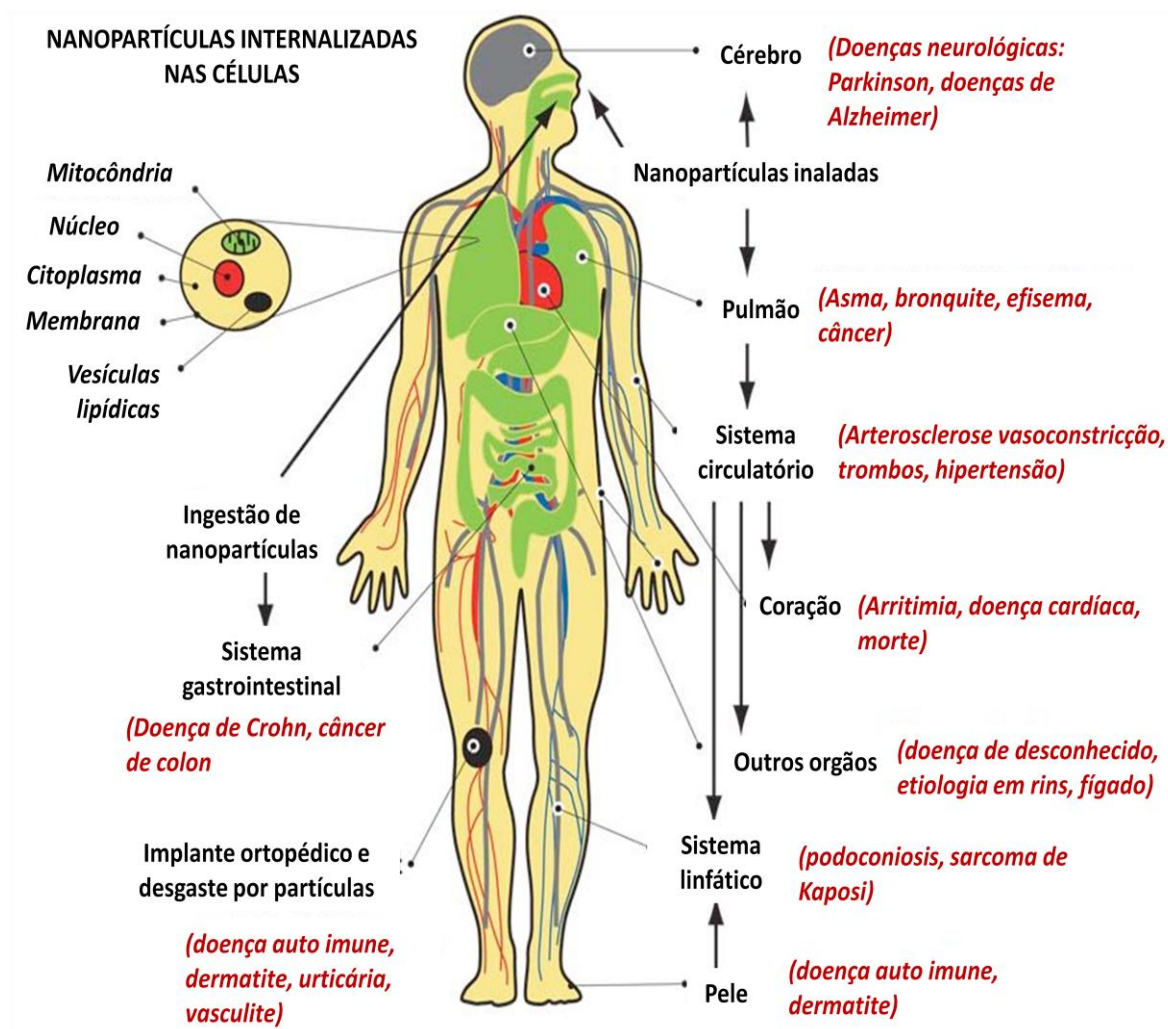


Figura 6: Corpo humano e as vias de exposição à nanopartículas, órgãos afetados, e doenças associadas a partir de estudos *in vivo* e *in vitro*.

Fonte: BUZEA, C., BLANDINO, I. I. P., ROBBIE. K., **Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity**. Biointerphases, vol. 2, 4, 2007.

Ainda que no desenvolvimento de pesquisas sejam adotados parâmetros seguros nos testes de nanotoxicidade, que expressem resultados confiáveis e com ampla utilidade, não é possível prever eventuais efeitos biológicos em uma dada aplicação de nanoestrutura, pois de acordo com conceitos básicos de toxicidade, cada organismo reage de maneira diferente. Essa reação na maioria das vezes depende do componente genético do indivíduo. A observação da

resposta biológica a nanopartículas fornece ferramentas bioquímicas necessárias para conhecer e evitar exposição a substâncias tóxicas.

Também é difícil prever a biodistribuição desses materiais, visto que são testados em cultura de células, não sendo possível observar efeitos sistêmicos biológicos, ou são realizados testes em organismos vivos similares ao organismo humano e não no próprio organismo humano.

4.3.1. Toxicidade pulmonar após inalação

A preocupação em torno da inalação de nanopartículas se dá principalmente ao fato de que quanto menor a partícula, com mais facilidade ela vencerá barreiras naturais do aparelho respiratório, se depositando e acumulando nos alvéolos, prejudicando a capacidade respiratória, pois os alvéolos são responsáveis pela troca gasosa de O₂ do ar e CO₂ proveniente da corrente sanguínea corrente sanguínea.

Uma vez depositadas no epitélio pulmonar, ao contrário das partículas de tamanho maior, as nanopartículas podem se translocar para locais extrapulmonares atingindo outros órgãos por diferentes rotas e mecanismos. Um possível mecanismo seria a transcitose através do epitélio do trato respiratório acessando a corrente sanguínea diretamente ou transportada por linfócitos, resultando na distribuição das nanopartículas por todo o corpo. (OBERDÖRSTER, 2005; CHEN, 2005).

As doenças que têm sido associadas com as nanopartículas inaladas são asma, bronquite, enfisema, câncer de pulmão e outras doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Doenças de Alzheimer. Alguns estudos mostram que a inalação de partículas de TiO₂ na ordem de 20 nm podem causar uma grave inflamação pulmonar (SUZUKI, 2007).

Além da passagem pela via respiratória, via mais evidente, estudos confirmam a absorção de nanopartículas inaladas da mucosa olfativa pelos nervos olfativos no bulbo olfativo (BUZEA, 2007). O que se pode concluir é uma resposta de defesa por inalação de nanopartículas, pelo fato de serem altamente penetráveis. Entretanto efeitos tóxicos não intencionais ainda são difíceis de serem obtidos, pois o sistema fisiológico é complexo para se definir a farmacocinética ou aspectos farmacodinâmicos tóxicos.

Cada vez mais as nanopartículas de óxidos metálicos são aplicadas em diversos produtos, demonstrando vantagens e efeitos interessantes na utilização, a exemplo de pesquisas com nanopartículas de óxido de cério (CNP_s), com propriedades regenerativas

únicas devido ao seu baixo potencial de redução e a existência de Ce (3⁺) / Ce (4⁺) em suas superfícies. Ce (3⁺) desempenha atividade redox nas CNPs. Esse estado de valência mista elimina espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, auxiliando contra patologias associadas ao estresse oxidativo e inflamação crônica. São bem tolerados em estudos *in vitro* e *in vivo* de modelos biológicos, o que torna CNPs bem adequado para aplicações em nanobiologia e medicina regenerativa (DAS, 2013). Esses resultados benéficos são relevantes, pois podem ser uma saída para reverter efeitos de estresse oxidativo ou inflamações causadas pela toxicidade, pelo uso inadequado de nanopartículas. As aplicações de NPs devem respeitar limites tóxicos preestabelecidos, gerados em pesquisas que demonstram efeitos maléficos em determinadas concentrações ou tamanhos, apresentados por nanopartículas de óxidos metálicos.

Resultados nanotoxicológicos realizados com a NPs de óxido metálico alertam quanto à exposição delas ao ambiente. Uma exposição aguda de NPs de óxido de cério (NP CeO₂) na cabeça e nariz de ratos demonstraram uma diminuição significativa na viabilidade celular, aumento dos níveis de lactato desidrogenase, proteína total e fosfatase alcalina no fluido de lavagem broncoalveolar (LBA), leucócitos e neutrófilos elevados em 24 h de exposição, concentrações de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β, TNFα e IL-6) significativamente maiores no LBA e no sangue em todo o período. Macrófagos alveolares e neutrófilos sobrecarregados com nanopartículas de CeO₂ fagocitadas juntamente com nanopartículas de CeO₂ livres não fagocitadas, que foram depositados sobre as superfícies epiteliais dos brônquios, bronquíolos e região alveolar do pulmão em 24 h de pós exposição. A exposição de 14 dias demonstrou, por um longo período de tempo microgranulomas pulmonares multifocais e biopersistência de NP CeO₂, sugerindo que a exposição aguda de nanopartículas de CeO₂ pela via respiratória, inalação, pode induzir citotoxicidade via estresse oxidativo e pode levar a uma resposta inflamatória crônica (SIRINIVAS, 2011).

Esses resultados contribuem para adoção de medidas que evitem grandes exposições de NPs no meio ambiente, ou cuidados quanto à manipulação. O achado de neutrófilos e macrófagos alveolares sobrecarregados de nanopartículas significa potencial risco de distribuição sistêmica desses materiais, além da redução da capacidade pulmonar.

Outro estudo com nanopartículas de óxidos de cério, a partir de combustível diesel advindos do escape com catalisador, confirma a toxicidade pulmonar em ratos Sprague Dawley por uma única instilação intratraqueal, com doses de 0,15, 0,5, 1, 3,5 ou 7 mg / kg de peso corporal, que reduziu significativamente a produção de óxido nítrico (NO) após um dia

de exposição, aumentando a produção de IL-12, e apoptose, através da ativação de caspases 9 e 3, (MA, 2011).

Apesar de achados que evidenciem utilizações inovadoras em diversos produtos com as nanopartículas de CeO₂, a nanotoxicologia norteia e define a melhor aplicação, desse produto, uma vez que os óxidos de cério, são cada vez mais utilizados em revestimentos para filtros infravermelho, catalisadores, corantes para plásticos e outras aplicações. No entanto suas propriedades catalíticas aplicadas em revestimento devem ser diminuídas pela sua capacidade de toxicidade.

Para avaliar a exposição por inalação de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO NP), ratos (C57BL / 6) foram expostos a doses de 3,5 mg/m e 3, 4 h/dia, (sub-aguda); 13 semanas (sub-crônicos) e necropsiados imediatamente (0 semanas) ou três semanas (3 semanas). Após a exposição, observou-se inflamação pulmonar mínima, citotoxicidade ou alterações histopatológicas no pulmão. Uma elevada concentração de Zn no pulmão e LBA indica dissolução de ZnO NPs no sistema respiratório após inalação. A exposição durante 13 semanas com uma dose cumulativa de 10,9 mg/kg produziu um aumento da celularidade do pulmão, mas outros marcadores de toxicidade não diferiram dos animais expostos de forma simulada, levando à conclusão de que ZnO PN tem baixa toxicidade sub-crônica por inalação (ADAMCAKOVA-DODD, 2014). Apesar de nanopartículas de ZnO serem utilizadas em muitos produtos comerciais e o potencial para exposição humana está aumentando, alguns estudos *in vivo* têm abordado os possíveis efeitos tóxicos após a inalação.

Um estudo de inalação, realizado por Morimoto, *et al*, 2011, utilizando uma alta concentração de nanotubos de carbono com múltiplas paredes e nanotubos de carbono de parede simples, induziram inflamação ou formação granulomatosa no pulmão, e a instilação intratraqueal induziu inflamação persistente no pulmão.

Entre as propriedades físico-químicas dos nanotubos de carbono, o aumento da área de superfície de contato está associado com a atividade inflamatória, devido ao aumento na taxa de neutrófilos medidos no fluido de lavagem broncoalveolar. Impurezas de metais tais como o ferro e níquel aumentaram a toxicidade pulmonar de nanotubos de carbono. Os nanotubos de carbono com múltiplas paredes, amorfos, induziram granulomas multifocais no pulmão enquanto que os mais puros não. O estado de agregação também afeta resposta pulmonar, a exposição de nanotubos de carbono bem dispersas conduziu ao espessamento da parede alveolar e poucas lesões granulomatosas no pulmão, enquanto nanotubos de carbono aglomerados produzidos inflamação granulomatosa.

Os valores da concentração de exposição aceitável em alguns países foram baseados em dados de inalação subaguda e subcrônica de estudos de instilação endotraqueal de fulereno e nanotubos de carbono que são bem caracterizados. No Japão, a concentração aceitável de exposição ao fulereno é de $0,39 \text{ mg/m}^3$. Na Europa, a concentração proposta é $44.4 \mu\text{g/m}^3$ para a toxicidade aguda e $0.27 \mu\text{g/m}^3$ para a toxicidade crônica. As concentrações proposta de exposição aceitáveis de nanotubos de carbono são $0,03$, $0,05$, e 0.007 mg/m^3 no Japão, Europa e Estados Unidos, respectivamente (MORIMOTO, 2011).

As nanopartículas têm a capacidade de ultrapassar barreiras biológicas devido ao seu tamanho nanométrico. Os estudos existentes na literatura demonstram resultados semelhantes que NPs de óxidos metálicos possuem de se depositarem ou transpor barreiras alveolares, e causar grande ativação do sistema imunológico, fibroses, ou outras respostas sistêmicas ainda desconhecidas, a partir de exposições agudas a essas nanopartículas sendo possível observar efeitos crônicos, que preocupa quanto a exposições agudas ou crônicas. Os resultados desses e outros estudos biológicos geram dados com achados bioquímicos servindo como ferramenta de avaliação e diagnóstico frente a uma exposição aguda.

Os estudos de nanotoxicidade relacionados com a inalação apontam para adoção de fatores limitantes na elaboração, produção e até o descarte correto de nanopartículas, evitando principalmente, a emissão desse tipo de material na atmosfera. No entanto, sempre há desafios e dificuldades quanto à execução de parâmetros, ainda mais quando se trata de partículas difíceis de avaliar e quantificar quando expostas ao ar.

4.3.2. Toxicidade digestiva após ingestão

A ingestão involuntária de nanopartículas pode ocorrer principalmente pelo consumo de água proveniente de aparelhos para purificação de água que usam nanomateriais filtrantes ou desinfetantes, de pesticidas com NPs, além de outros exemplos como a ingestão de alimentos que tiveram contato prolongado com utensílios que contenham prata. Apesar desta possibilidade, estudos consideram que a ingestão deve ser pequena em termos de massa (EPA, 2008)

A ingestão prolongada de nanopartículas de prata foi comprovadamente relacionada com a manifestação de argíria, que é uma rara doença diagnosticada em casos de abuso de ingestão de sais de prata, causando o escurecimento irreversível da pele (CHEN, 2008)

Um Teste de Toxicidade Oral Aguda avaliou toxicidade de nanopartículas de prata incorporadas em matriz polimérica (carboximetilcelulose) na utilização em embalagens alimentícias. Na concentração e tamanho estudados, demonstrou degeneração celular no fígado de ratos machos, na menor concentração estudada (1µg/mL), sugerindo o uso dessas nanopartículas somente na função de embalagem, sem ingestão como embalagem comestível (SIQUEIRA,2013).

Maciel *et al*, 2010, investigou a ação de nano (NP)- 66nm e micropartículas (MP)-260nm de TiO₂ sobre a resposta inflamatória no intestino delgado de camundongos. Houve uma resposta pró-inflamatória, predominantemente do tipo Th1, no intestino delgado dos camundongos, especialmente no íleo. Esses dados representam uma evidência in vivo do potencial inflamatório de partículas de TiO₂ sobre o trato gastrointestinal. O dióxido de titânio (TiO₂) é um corante encontrado na forma de partículas em diversos produtos industrializados, ainda existem poucos estudos investigando seus efeitos sobre o trato gastrointestinal.

4.3.3. Toxicidade dérmica por nanocosméticos

O número de publicações científicas e patentes na área de nanocosmética vem aumentando significativamente nesses últimos anos, junto com a introdução no mercado farmacêutico e cosmético de produtos nanotecnológicos. (MARTINELLO, AZEVEDO, 2009). Cuidados com nanocosméticos merecem atenção devido à presença crescente desses produtos no mercado e um maior contato com o sistema biológico. Ainda são desconhecidos possíveis efeitos tóxicos, além de danos que são passíveis de ocorrer decorrente da possibilidade de mau uso, capacidade de cruzar membranas da pele e causar danos, além da produção do lixo com nanocosméticos. Um descarte inadequado é outro fator potencial que pode afetar os sistemas ecológicos.

A absorção da nanopartículas pode penetrar no pulmão causando infecção. Podem trazer riscos à saúde, por estarem disseminadas no solo, na água e na atmosfera (MASSADA, 2009). Os nanocosméticos vêm se inserindo no mercado de diversas formas, entre elas, fotoprotetores, maquiagem, creme antienvelhecimento e hidratante. O manuseio desses produtos também oferece riscos.

Os possíveis riscos estão na ingestão de partículas. Quando menores que 300 nm podem atingir o sistema linfático e entrar na corrente sanguínea. Na aplicação dérmica,

partículas podem permear a pele e atingir a corrente sanguínea se espalhando pelo corpo e podendo atingir até o cérebro (SANTOS, 2009).

As nanopartículas são aplicadas em protetores solares que refletem e dispersam radiação ultravioleta de forma mais eficiente. Estudo com nanopartículas de TiO₂ e ZnO por exemplo, são usadas atualmente para proteção contra a exposição aos raios UV. Essa aplicação requer cuidados quanto aos efeitos tóxicos na utilização desses tipos de nanopartículas, uma vez que em um estudo desenvolvido Zhang e colaboradores em 2011, essas nanopartículas apresentaram efeitos tóxicos como, disfunção mitocondrial celular, alterações morfológicas e apoptose, no intervalo de concentração entre 0,25-1,50 mg/mL com nanopartículas de 20nm, em células pulmonares fetais humanas.

Outra aplicação em nanoproductos são os metais, na nanomedicina e em produtos de consumo diário como roupas, alimentos, produtos de limpeza e em cosméticos. Os estudos de toxicidade para a nanopartícula níquel (Ni NP) demonstram o efeito de Ni PN no sistema pulmonar, embora permaneçam escassos. O estudo avaliou o efeito tóxico em células epiteliais A549 de pulmão humano, tratados com NPs Ni nas concentrações de 0,1, 2, 5, 10 e 25 µg/ml para 24 e 48 h. Resultados mostraram redução da função mitocondrial e também induziu o estresse oxidativo, na dose e tempo-dependente. Além disso, a atividade da enzima caspase-3, marcador de apoptose era significativamente mais elevada em células tratadas com o tempo e Ni NPs dosagem. Os resultados apresentaram uma toxicidade significativa de Ni PN em células epiteliais A549 de pulmão humano, que é susceptível de ser mediada por estresse oxidativo. Este estudo justifica avaliação mais cuidadosa de Ni PN antes de suas aplicações industriais (AHAMEDY, 2011). Essa nanopartícula é cada vez mais utilizada em indústrias modernas, tais como catalisadores, sensores e aplicações eletrônicas como refrigeradores. Devido a essas aplicações industriais a emissão dessas NPs no ambiente é passível de ocorrer, tornando a inalação à principal fonte de exposição às Ni NPS. Quanto à aplicação em cosméticos, o risco principal ocorre pelo contato com vias dérmicas. Um levantamento de biomarcadores é importante para medidas de prevenção à saúde.

4.3.4. Possíveis efeitos tóxicos nos sistema sanguíneo.

As nanopartículas que entram no sistema circulatório estão relacionadas à ocorrência da arteriosclerose, e coágulos sanguíneos, arritmia, doenças cardíacas e morte, em última análise cardíaca. Translocação para outros órgãos tais como o fígado, baço, e até deposição no

sistema nervoso, o que pode resultar em doenças relacionadas a esses órgãos. A exposição a algumas nanopartículas está associada à ocorrência de doenças auto-imunes, tais como: o lúpus eritematoso sistêmico, escleroderma, e artrite reumatóide (BUZEA, 2007).

Para simular o acesso de nanopartículas respiráveis à corrente sanguínea, partículas provenientes da queima de diesel foram administradas por via intravenosa em ratos por Nemmar e colaboradores em 2008. Os pesquisadores observaram uma reação inflamatória sistêmica caracterizada pelo aumento de monócitos e granulócitos e o decréscimo de glóbulos vermelhos e da concentração de hemoglobina.

4.3.5. Genotoxicidade e citotoxicidade de nanopartículas

Quando as nanopartículas alcançam as células, podem ultrapassar a membrana celular por diversos processos, como a endocitose, que consiste na invaginação da parede celular sobre a partícula até englobá-la totalmente (AUFFAN, 2006; YEHA, 2007), ou por outro processo proposto mais recentemente, que consiste na entrada destas partículas através de organelas denominadas de caveolas, as quais são uma série de lipídeos especializados na função de transportar partículas, sendo um dos mecanismos utilizados por vírus, de dimensões nanométricas, para adentrarem nas células.

A forma e tamanho manométrico de uma nanopartícula permitem a sua entrada em estruturas celulares. Tamanhos de 1 micron até 100 nm estão dispostas na figura abaixo. Contrastando com um macrófago de rato é possível perceber a facilidade que uma nanopartícula possui em transitar essas estruturas. Em macrófagos humanos essa comparação é ainda mais preocupante, pois são maiores que macrófagos de ratos duas vezes mais.

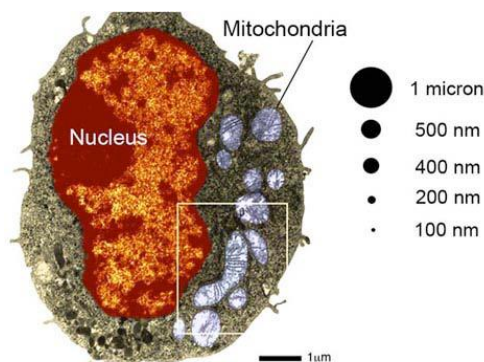


Figura 7: Comparação de tamanho de macrófago de rato para tamanho nanopartículas (em escala). Macrófagos humanos são até duas vezes maiores do que os macrófagos de ratos. Imagem TEM reproduzida com a permissão da Environmental Health Perspectives (LI, 2003). Fonte: BUZEA, C., Blandino, I. I. P., Robbie. K., **Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity**. Biointerphases vol. 2, 2007.

Um estudo recente, realizado por Zhang e colaboradores em 2011, investigou e comparou os efeitos tóxicos *in vitro* de quatro tipos de nanopartículas de óxido metálico (ZnO, TiO₂, SiO₂ e Al₂O₃), em fibroblastos pulmonares fetais humanos (HFL1), expondo nanopartículas de tamanhos similares de aproximadamente 20 nm. Os efeitos tóxicos das células de HFL1 demonstram que os quatro tipos de nanopartículas de óxido de metal conduzem à disfunção mitocondrial celular, alterações morfológicas e apoptose, no intervalo de concentração entre 0,25-1,50 mg / mL e os efeitos tóxicos são, significativamente, exibidos com ZnO dependente da dose. É o nanomaterial mais tóxico seguido por nanopartículas de TiO₂, SiO₂, Al₂O₃. De acordo com os resultados, foi demonstrada uma citotoxicidade diferencial associada à exposição aos óxidos, ZnO, TiO₂, SiO₂, e nanopartículas de Al₂O₃, e isto sugere uma atenção extrema na utilização segura desses nanomateriais.

Nanopartículas de CeO₂ também induziram inflamação e citotoxicidade através de instilação intratraqueal, sendo capazes de se deslocarem para o sangue e chegar às células (MA, 2011). Esse estudo demonstra que NPs de CeO₂ induzem inflamação pulmonar e lesão nos pulmões que pode conduzir a fibrose.

Características de nanopartículas de prata, tais como forma e tamanho são importantes, não só por aumentar a atividade antimicrobiana, mas também por reduzir o tecido e as toxicidades de células eucarióticas. Os possíveis riscos para a saúde humana representados pelas nanopartículas de prata é o aumento da penetração no ambiente, com posterior disseminação da resistência microbiana, são cada vez mais preocupantes, dado o aumento de produtos contendo prata no mercado. Portanto, mais estudos são necessários para caracterizar plenamente a toxicidade e os mecanismos envolvidos com a atividade antimicrobiana dessas partículas. Finalmente, esta é uma importante área de pesquisa que merece toda a nossa atenção devido ao seu potencial de aplicação na luta contra microorganismos resistentes a múltiplas drogas (BERTÉ, 2013)

Em estudos realizados com células, expondo nanopartículas de prata em macrófagos, em três concentrações (30, 300 e 3000 ng.mL⁻¹), duas concentrações de pesticidas organoclorados (30 e 300 ng.mL⁻¹) e a associação destes dois poluentes nas seis combinações possíveis por 24 h, demonstrou que a maior concentração de nanopartículas de prata foi altamente citotóxica e resultou em alterações morfológicas, aumento dos níveis de óxido nítrico (NO), e redução das espécies reativas oxigênio e do índice fagocítico. No entanto, a associação de maiores concentrações de nanopartículas com os pesticidas apresentou efeitos

mais pronunciados ou diferentes dos observados após exposição às nanopartículas isoladas. Esses efeitos da associação ficaram claros para os níveis de óxido nítrico e atividade fagocítica (maiores na associação), bem como espécies reativas de oxigênio (menor na associação). Assim, este trabalho demonstra que a associação dos dois xenobióticos conduz a efeitos que não são observados ou previsíveis pela exposição isolada (PESSOTTO, 2013).

A figura 8 demonstra a deposição de nanotubos de carbono de adenocarcinoma humano (A549). Os nanotubos de carbono estão sendo largamente aplicados nas mais diversas áreas.

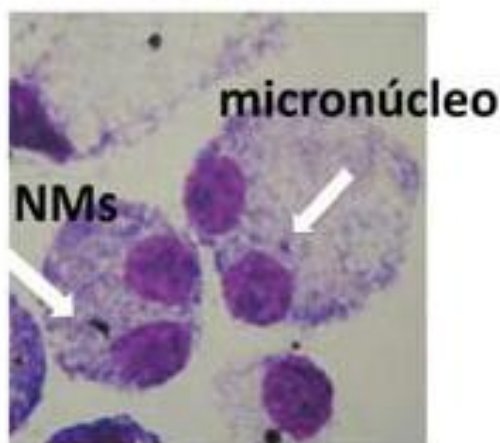


Figura 8: Microfotografia de células de adenocarcinoma humano (A549) expostas a um nanotubo de carbono de parede múltipla, onde são visíveis duas células binucleadas (devido à inibição da citocinese induzida experimentalmente) exibindo um micronúcleo e alguns aglomerados de NMs. O micronúcleo contém fragmentos de cromossomas ou mesmo cromossomas inteiros e refletem a ação nociva do agente em estudo sobre os cromossomas.

Fonte: LOURO, E., TAVARES, A., LEITE E., SILVA, M.J., **Nanotecnologias e saúde pública**. tecno hospital, Dossiê, 2013.

Em um estudo realizado para investigar a citotoxicidade e genotoxicidade de nanopartículas revestidas com íons prata (Ag^+) em linhagem de células alveolares humana, A549. Foi detectados danos no DNA induzidos por ROS e um aumento de adutos de DNA volumosos após a exposição Ag NP. O nível de adutos de DNA volumosos foi fortemente correlacionado com os níveis de ROS e pode ser inibida por antioxidantes, sugerindo Ag NPS como um mediador de Genotoxicidade induzida por ROS (FOLDBJERG, 2010).

Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) são de grande interesse na nanomedicina, devido à sua capacidade para agir, simultaneamente, como um agente de contraste em imagem por ressonância magnética e como um sistema de entrega de fármacos específicos, possuindo boa biocompatibilidade (OLIVEIRA, 2013). Resultados realizados em estudos no ano de 2013 por Oliveira *et al*, fornecem evidências de que doses

elevadas de nanopartículas de óxido de ferro, revestidas com dextran-aminado, podem produzir neurotoxicidade transitória, coincidente com níveis cerebrais elevados de ferro, bem como alterações comportamentais.

4.4. RISCOS NANOTECNOLÓGICOS

Há uma classificação baseada em parâmetros de testes toxicológicos, a toxicidade das nanopartículas depende de vários fatores, como: tamanho, agregação, a composição, a cristalinidade, a funcionalização da superfície, etc. (BUZEA, 2007). Esses parâmetros foram adotados para compor documentos de regulação, elaborados por órgãos de defesa da saúde.

Estima-se que até 2015 serão movimentados mundialmente cerca de US\$ 1 trilhão, e que todo o setor de semicondutores e metade do setor farmacêutico estará dependente destes novos materiais. Desta forma, torna-se importante a obtenção do máximo de dados com características de estabilidade, antes de se aplicar nos produtos, além de se descobrir informações de toxicocinética que ainda são pouco elucidadas e de toxicodinâmica para se conhecer os efeitos.

Segundo Meireles da ANVISA, a meta é tentar fazer regulação com o que existe, pois não há lei tramitada em congresso nacional que permita a consolidação de medidas regulatórias.

Métodos de caracterização dos pesticidas são realizados nos EUA, antes de entrar no mercado. A abordagem européia exige que a indústria prepare avaliações de riscos e de regulamentos para obter mais dados básicos para substâncias químicas, sendo uma abordagem a ser considerada agora. A maior parte dos nanomateriais não é produzida em grandes toneladas, sendo necessário aprender a lidar com a produção dessas nanopartículas. É necessária abordagem integrada, processo regulatório formal do governo para gerar mais informações (WHITE, 2010). Já estão ocorrendo mudanças socioambientais com impactos, portanto deve haver investimento em nanotoxicologia. Providenciar biomarcadores (humanos e do meio ambiente) que não está em paralelo com o desenvolvimento de produtos que até já estão no mercado (SILBERGED, 2010). A falta de investimento em nanotoxicologia pode repercutir negativamente futuramente. A falta de legislação também caminha lentamente. Há evidências de que lavar tecidos com nanoprata libera prata na água e contamina o meio ambiente, o que sugere a necessidade de legislar. Outra questão é uma deficiência na capacidade analítica, falta de estudos de simulação, além de que as NPs são difíceis de

detectar no ambiente (MONSERRAT, 2010). Não se pode controlar e avaliar sobre a exposição de nanomateriais, não havendo informação de onde há exposição mais alta em certos tipos população a nanomateriais. Um foco provável de avaliação é a população mais rica, que utiliza com mais freqüência produtos com esses materiais, isso pode ser uma fonte de especulação (WHITE, 2010).

Há urgência em gerar mais informações toxicológicas de qualidade e com rapidez, pois a aplicação desenfreada e sem muitas medidas regulatórias é preocupante. Há marco regulatório nos países, mas a construção inadequada faz com que não se alcance a aplicação, como muitas leis existentes que existem no papel e não são aplicadas (SILBERGED, 2010).

Segundo a USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), mais de 60.000 mortes por ano são atribuídas à inalação de nanopartículas atmosféricas, sendo reportado que a contaminação através da respiração pode atingir outros órgãos como coração e cérebro.

Conclusão

5. CONCLUSÃO

Os estudos nanotoxicológicos ainda não são suficientes para dar suporte ao crescimento em pesquisas inovadoras e à crescente aplicação no campo da nanotecnologia. O desenvolvimento de pesquisas fornece dados *in vivo* e *in vitro*, no entanto respostas sistêmicas em organismos humanos são difíceis de serem obtidas.

Não há quantidades consideráveis de dados de biomarcadores humanos, além da dificuldade de quantificar essas partículas na natureza. Os resultados existentes demonstram respostas sistêmicas por contato, utilizando animais, ou em cultura de células, sendo possível observar respostas gerais, envolvendo todos os sistemas biológicos, desde toxicidade na pele até citotoxicidade ou genotoxicidade. O que é mais preocupante é a dificuldade de compor leis a partir de dados já existentes.

É possível prever impactos biológicos negativos futuramente, visto que é notória a aplicação desenfreada de nanotecnologia gerando lucros para a indústria pela boa aceitação e vantagens desses produtos, em contrapartida, nota-se um desinteresse governamental pela área de pesquisas nanotoxicológicas, que não gera lucros.

Referências

6. REFERÊNCIAS

ADAMCAKOVA-DODD, A., LARISSA V STEBOUNOVA², JONG SUNG KIM¹, SABINE U VORRINK¹, ANDREW P AULT, PATRICK T O'SHAUGHNESSY¹, VICKI H GRASSIAN² AND PETER S THORNE* **Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models** *Particle and Fibre Toxicology*, 2014.

AHAMED, A., **Toxic response of nickel nanoparticles in human lung epithelial A549 cells.** Elsevier, *Toxicology in Vitro*, 2011.

AUFFAN, M.; DECOME, L.; ROSE, J.; ORSIERE, T.; MEO, M.; BRIOIS, V.; CHANEAC, C.; OLIVI, L.; BERGE-LEFRANC, J.; BOTTA, A.; WIESNER, M.; BOTTERO, J.; **In vitro interactions between DMSA-coated maghemite nanoparticles and human fibroblasts: A physicochemical and cyto-genotoxic study.** *Environ Sci Technol.* 2006.

ATROS, T. F., IZQUIERDO, P; ESQUENA, J.; SOLANS, C. **Formation and stability of nano-emulsions.** *Advances in colloid and interface science*, v.108-109, p.303-318, 2004.

BERGER FILHO, A. G. Nanotecnologia e o princípio da precaução na sociedade de risco. In: *Âmbito Jurídico*, Rio Grande, XIII, n. 72, jan 2010.

BERTÉ, R. **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata conjugada com peptídeos antimicrobianos**, dissertação de mestrado, São Carlos, 2013.

BUZEA, C., BLANDINO, I. I. P., ROBBIE. K., **Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity.** *Biointerphases* vol. 2, 2007.

CADIOLI L. P.; SALLA L.D., **Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia.** *SARE*, Vol 1, Nº 1 (2006).

CAPEK, I. **Degradation of Kinetically-stable o/w emulsions.** *Advances in Colloid Interfacial Science*, Amsterdam, v.107, p. 125-55, 2004.

CAPOZZOLI, U. **A ciência do pequeno em busca da maioria.** *Revista Duetto, Scientific American Brasil*, ed. n° 1, junho de 2002. Disponível em: http://www2.uol.com.br/sciam/reportagens/a_ciencia_do_pequeno_em_busca_da_maioridade_imprimir.html. Acesso em maio de 2014.

CARLUCCI, A. M.; BREGNI, C. **Productos Nanotecnológicos de Aplicación en Farmacoterapia.** *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 03, p.470-477, 2009.

CHEN, X.; SCHLUESENER, H. J.; **Nanosilver: a nanoparticle in medical application.** *Toxicol. Lett.* 2008.

CORR, S. A.; RAKOVICH, Y. P.; GUN'KO, Y. K.; **Multifunctional Magnetic-fluorescent Nanocomposites for Biomedical Applications.** *Nanoscale. Research. Letters.* , 3, 87-104, 2008.

CHEN, C.; XING, G.; WANG, J.; ZHAO, Y.; LI, B.; TANG, J.; JIA, G.; WANG, T.; SUN, J.; XING, LI.; YUAN, H.; GAO, Y.; MENG, H.; CHEN, Z.; ZHAO, F.; CHAI, Z.; FANG, X.; **Multihydroxylated [Gd@C82(OH)22]n nanoparticles: antineoplastic activity of high efficiency and low toxicity.** *Nano Lett.* 2005.

DEVALAPALLY, H.; CHAKILAM, A.; AMIJI, M. M. **Role of nanotechnology in pharmaceutical product development.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 96, p. 2547–2565, 2007.

DURÁN, N.; MATTOSO, Luiz H. C.; DE MORAIS, PAULO C. **Nanotecnologia introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação.** São Paulo: Artelier, pág 17-19, 2006.

EPA **Draft Nanomaterial Research Strategy (NRS)** Office of Research and Development, http://epa.gov/ncer/nano/publications/nano_strategy_012408.pdf, acessado em Maio 2014.

FEYNMAN, R. **There's plenty of room at the bottom.** In: **Annual Meeting of the American Physical Society, 20 dez 1959. California Institute of Technology (Caltech).** Eng Sci. California: Caltech, fev 1960. Disponível em: <http://petfarmaciaufpr.files.wordpress.com/2009/08/monografiafabiana.pdf>. Acesso em 26 jul. 2014.

FOLDBJERG R., DANG D. A., AUTRUP H. **Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549** Arch Toxicol, 743–750, 2010.

FLORENCE AT, **“Targeting” nanoparticles: the constraints of physical laws and physical barriers.** J Control Release, 164:115-124, 2012.

GOLAN M.D., EHRIN, J. ARMSTRONG, M.D, ARMEN, H. TASHJIAN, DAVID, E. **Princípios de Farmacologia**, Editora: GUANABARA KOOGAN, pág. 58-68, 2ª Ed. 2009.

HILD, W. A.; BREUNIG, M.; GOEPFERICH, A.; **Quantum dots – Nano-sized probes for the exploration of cellular and intracellular targeting** European Journal Pharmaceutics Biopharmaceutics. Volume 68, Issue 2, February 2008, Pág. 153–168, 2008.

JONG YOUNG CHOI; SU HEE LEE; HYON BIN NA, KWANGJIN AN; TAEGHWAN HYEON ; TAE SEOK SEO **In vitro cytotoxicity screening of water-dispersible metal oxide nanoparticles in human cell lines** Springer-Verlag 2009.

KAMALY, N., XIAO, Z., VALENCIA, P. M., RADOVIC-MORENO, A. F. & FAROKHZAD, O. C. **Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation.** Chem. Soc.Rev. 41, 2971–3010 (2012).

LAMBERT,G. **Oligonucleotide and Nanoparticles** Page.Disponível em <<http://perso.clubinternet.fr/ajetudes/nano/index.html>> Acesso em dezembro de 2003.

LOURO, E., TAVARES, A.,LEITE E., SILVA, M.J., **Nanotecnologias e saúde pública.** tecno hospital, Dossiê, 2013.

LI N, SIOUTAS C, CHO A, SCHMITZ D, MISRA C, SEMPFF J, WANG M, OBERLEY T, FROINES J, NEL A **Ultrafine Particulate Pollutants Induce Oxidative Stress and Mitochondrial Damage Environ. Health Persp.** 111 455-460, 2003.

MA.J.Y., ZHAO H., MERCER R. R, BARGER M., RAO M., MEIGHAN T., SCHWEGLER-BERRY D, CASTRANOVA, V., MA J.K. **Cerium oxide nanoparticle-induced pulmonary inflammation and alveolar macrophage functional change in rats**, *Nanotoxicology*, pág. 312–325 September 2011.

MACIEL, M.C., **Ação de micro e nanopartículas de dióxido de titânio sobre a resposta inflamatória no intestino delgado de camundongos**, Dissertação de Mestrado, São Paulo, 2010.

MARCONI, RIBOLDI B. **Nanotecnologia fundamentos e aplicações**. Disponível em: <<http://www.rc.unesp.br/showdefisica/ensino/Nanotecnologia.pdf>>Acessado em 10/10/2012 às 22:00 horas.

MARTINELLO,T. AZEVEDO, V. C. **Nanotecnologia em Cosmético. Instituto Racine, publicado em Indústria Farmacêutica**. Disponível em:<<http://www.racine.com.br/portal-racine/farmacias-e-drogarias/manipulacaomagistral/nanotecnologia-em-cosmeticos> Novembro 2009>. Acessado em: 13/05/2014 as 17:14.

MASSADA, J., **UBA adverte para os malefícios da nanotecnologia**. Disponível 10 em:<http://www.cienciahoje.pt/index.php?oid=36120&op=all>. Acessado em: 12/10/2012

MELO, N. F. S., GRILLO, R., ROSA, A. H., FRACETO, L. F., FILHO, N. L. D., PAULA, E., ARAÚJO, D. R. **Desenvolvimento e Caracterização de Nanocápsulas de Poli (L-Lactídeo) Contendo Benzocaína**. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 1, p. 65-69, 2010.

MONSERRAT, J.M. **Desafios na abordagem dos riscos nanotoxicológicos**, 7º Seminário Internacional de Nanotecnologia, Sociedade e Meio Ambiente. 11 nov, 2010.

MORRISON, P.; OFFICE, C.; EAMES R., **Powers of Ten**, Scientific American Press, 1982. Also Pyramid Films, Santa Mônica, CA 1978.

MUELLER, N. C., NOWACK, B., 2008. **Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment**. Environmental Science and Technology 42 (12), 4447–4453.

MUTHU MS, FENG SS: **Nanopharmacology of liposomes developed for cancer therapy**. *Nanomedicine*, 5:1017-1019, 2010.

NEMMAR, A.; INUWA, I. M.; **Diesel exhaust particles in blood trigger systemic and pulmonary morphological alterations**. Toxicology.Letters. 176, 20, 2008.

OBERDÖRSTER, G.; OBERDÖRSTER, E.; OBERDÖRSTER, J.; **Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles**. Environ. Health Perspect. 44, 1112, 2005.

OLIVEIRA, S. S. A. M. **Preparação e caracterização in vitro de micropartículas de heparina fracionada potencialmente aplicáveis ao tratamento da trombose 74 venosa profunda**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, p. 82, 2009.

REYNOLDS, G. H. **Forward to the future: nanotechnology and regulatory policy**. Pacific research Institute., November 2002.

ROCCO, M.C. **International strategy for nanotechnology research and development**. Journal of Nanoparticle Research 3 (5–6), 353–360.2001.

SAHOO, S. K.; LABHASETWAR, V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging. Drug Discovery Today, v. 8 (24), p. 1112-1120, 2003.

SANTOS, Elisabete P., **Nanotecnologia: Fundamentos, Aplicações e Oportunidades**. Faculdade de Farmácia – UFRJ – Departamento de Medicamentos, Laboratório Galênico – LADEG – 2009.

SANTOS, R. M. M., FIALHO, S. L. **Nanopartículas. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Ano 10, Número 37, Janeiro/Fevereiro, 2007.

SCHAFFAZICK, S. R., GUTERRES, S. S., FREITAS, L. L. POHLMANN, A. R. **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos**. Quim. Nova, v. 26, 5, p. 726-737, 2003.

SILBERGED, E.. **Desafios na abordagem dos riscos nanotoxicológicos**, 7º Seminário Internacional de Nanotecnologia, Sociedade e Meio Ambiente. 11 nov, 2010.

SUZUKI, H.; TOYOOKA, T.; IBUKI, Y.; **Simple and easy method to evaluate uptake potential of nanoparticles in mammalian cells using a flow cytometric light scatter analysis**. Environ. Sci. Technol. 2007, 41, 3018.

WHARHEIT,D.B., **How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization?** Toxicological Science, v. 101, n. 2, p. 183 – 185, 2008.

WHITE,R.; WAISSMANN,W. **Desafios na abordagem dos riscos nanotoxicológicos**, 7º Seminário Internacional de Nanotecnologia, Sociedade e Meio Ambiente. 11 nov, 2010

WHITE,R. **Desafios na abordagem dos riscos nanotoxicológicos**, 7º Seminário Internacional de Nanotecnologia, Sociedade e Meio Ambiente. 11 nov, 2010.

YEHIA, H. N.; DRAPER, R. K.; MIKORYAK, C.; WALKER, E. K.; BAJA, P.; MUSSELMAN, I. H.; DAIGREPONT, M. C.; DIECKMANN, G. R.; PANTANO, P.; J. **Single-walled carbon nanotube interactions with HeLa cells**. Nanobiotechnol. 2007.

ZARBIN A.J. G. **Química de (nano) materiais**. Quim. Nova, Vol. 30, No. 6, 1469-1479, 2007.

ZHANG X. Q.; YIN L.H.; TANG M.; PU Y.P.; **ZnO, TiO₂, SiO₂, and Al₂O₃ Nanoparticles-induced Toxic Effects on Human Fetal Lung Fibroblasts**, Biomedical and Environmental Sciences, Volume 24, 06, 2011.