



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

David Camargo Noronha

**Avaliação *in vitro* da toxicidade dos nanomateriais com enfoque nos modelos
de *organs-on-a-chip*: uma revisão da literatura.**

Florianópolis

2023

David Camargo Noronha

Avaliação *in vitro* da toxicidade dos nanomateriais com enfoque nos modelos de *organs-on-a-chip*: uma revisão da literatura.

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Profª Elenara Maria Teixeira Lemos Senna, Dra.

Florianópolis

2023

Noronha, David Camargo

Avaliação in vitro da toxicidade dos nanomateriais com enfoque nos modelos de organs-on-a-chip: uma revisão da literatura. / David Camargo Noronha ; orientadora, Elenara Maria Teixeira Lemos Senna, 2023.

53 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Avaliação in vitro da toxicidade dos nanomateriais. 3. Toxicologia dos nanomateriais. I. Senna, Elenara Maria Teixeira Lemos. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

David Camargo Noronha

Avaliação *in vitro* da toxicidade dos nanomateriais com enfoque nos modelos de *Organs-on-a-chip*: uma revisão da literatura.

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de “Farmacêutico” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 04 de dezembro de 2023.

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Prof^a Elenara Maria Teixeira Lemos Senna, Dra.
Orientadora

Prof^o Luis Felipe Costa Silva, Dr.
Instituição: UFSC

Prof^a. Karin Silva Caumo, Dra.
Instituição: UFSC

Florianópolis, 2023.

Dedico esse trabalho a todos que estiveram comigo durante a graduação, amigos e familiares. Mas especialmente minha mãe, que por uma ação do destino nos deixou em 2019 mas com certeza está sempre ao meu lado.

RESUMO

A nanociência envolve o estudo das propriedades da matéria em escala nanométrica, enquanto a nanotecnologia se concentra em aplicar esses conceitos em aplicações práticas. A nanotecnologia tem desempenhado um papel fundamental na medicina, permitindo avanços no tratamento de doenças como câncer e problemas cardiovasculares, incluindo diagnóstico molecular, descoberta de biomarcadores e desenvolvimento de novos medicamentos. Os materiais em nanoescala, chamados nanomateriais, possuem alta área superficial e reatividade, o que os torna valiosos na nanomedicina. Eles podem ser usados para diagnóstico, terapia controlada e medicina regenerativa. No entanto, a toxicidade dos nanomateriais é uma preocupação, especialmente quando se trata de exposição a essas partículas. A nanotoxicologia é uma disciplina emergente que visa entender e avaliar os efeitos adversos dos nanomateriais. Diante de aspectos éticos que levam a necessidade de redução do uso de animais, métodos *in vitro* têm sido preferencialmente usados para avaliação da toxicidade. Os métodos *in vitro* convencionais abrangem o uso de linhagens celulares, por serem homogêneas, apresentarem boa estabilidade e conduzirem a resultados reprodutíveis. No entanto, tais modelos não reproduzem um tecido ou órgão que possua uma estrutura tridimensional definida e não incluem as complexas comunicações cruzadas entre as células. Neste sentido, sistemas biomiméticos microengenheirados *organ-on-a-chip* têm surgido como métodos alternativos para avaliação dos efeitos biológicos dos nanomateriais. Assim, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento bibliográfico sobre a utilização dos modelos *organ-on-a-chip* na avaliação da toxicidade dos nanomateriais com enfoque naqueles utilizados no tratamento e diagnóstico de doenças. A pesquisa foi conduzida usando as bases de dados informatizadas como *United States National Library of Medicine* (PubMed), *Elsevier's Scopus* (SCOPUS), Google Acadêmico e *Scientific Electronic Library Online* (Scielo). Para refinamento da busca foram empregadas as seguintes palavras chaves: “*nanomaterials*”, “*microphysiological systems*”, “*nanotoxicology*”, “*organs-on-chip*”, “*in vitro toxicity*”, intercalados com o operador booleano “AND”. Os resultados evidenciaram a potencial aplicação dos modelos *organs-on-a-chip* na avaliação da nanotoxicidade. No entanto, estudos ainda são escassos, o que representa uma grande temática a ser explorada no futuro.

Palavras-chave: nanomateriais; sistemas microfisiológicos; nanotoxicologia; *organs-on-a-chip*; toxicidade *in vitro*.

ABSTRACT

Nanoscience involves the study of matter properties on a nanoscale, while nanotechnology focuses on applying these concepts in practical applications. Nanotechnology has played a crucial role in medicine, enabling advancements in the treatment of diseases such as cancer and cardiovascular problems, including molecular diagnostics, biomarker discovery, and the development of new drugs. Nanoscale materials, called nanomaterials, have high surface area and reactivity, making them valuable in nanomedicine. They can be used for diagnosis, controlled therapy, and regenerative medicine. However, the toxicity of nanomaterials is a concern, especially regarding exposure to these particles. Nanotoxicology is an emerging discipline aimed at understanding and assessing the adverse effects of nanomaterials. Faced with ethical considerations leading to the need for reduced animal use, *in vitro* methods have been preferably used for toxicity assessment. Conventional *in vitro* methods encompass the use of cell lines due to their homogeneity, good stability, and reproducible results. However, such models do not replicate a tissue or organ with a defined three-dimensional structure and do not include the complex cross-communications between cells. In this context, microengineered biomimetic systems known as organ-on-a-chip have emerged as alternative methods for evaluating the biological effects of nanomaterials. Thus, this study aimed to conduct a literature review on the use of organ-on-a-chip models in assessing the toxicity of nanomaterials, focusing on those used in the treatment and diagnosis of diseases. The research was conducted using computerized databases such as the United States National Library of Medicine (PubMed), Elsevier's Scopus (SCOPUS), Google Scholar, and the Scientific Electronic Library Online (Scielo). To refine the search, the following keywords were used: "nanomaterials," "microphysiological systems," "nanotoxicology," "organs-on-chip," "*in vitro* toxicity," interspersed with the boolean operator "AND." The results highlighted the potential application of organ-on-a-chip models in nanotoxicity assessment. However, studies are still scarce, representing a significant area to be explored in the future.

Keywords: nanomaterials; microphysiological systems; nanotoxicology; organs-on-a-chip; *in vitro* toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Diferentes tipos de nanomateriais, de acordo com sua dimensionalidade	23
Figura 2 — Tipos de nanopartículas orgânicas	25
Figura 3 — Diferentes tipos de nanopartículas à base de carbono	25
Figura 4 — Abordagens “ <i>top down</i> ” e “ <i>bottom up</i> ” para obtenção de nanopartícula	27
Figura 5 — Desenvolvimento de plataformas biomiméticas <i>skin-on-a-chip</i>	35
Figura 6 — Dispositivo <i>heart-on-a-chip</i>	36
Figura 7 — Representação esquemática do dispositivo microfluídico	38
Figura 8 — Modelo <i>lung-on-a-chip</i> para testes de nanotoxicidade	39
Figura 9 — Plataforma tradicional de nanotoxicologia	41
Figura 10 — Dispositivo <i>placental barrier-on-a-chip</i>	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 — Classificação das nanoestruturas com base na dimensionalidade	21
Quadro 2 — Efeitos tóxicos por via de administração	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

0D	Dimensão zero
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
Fe	Ferro
Fe ₃ O ₄	Óxido de Ferro (II, III)
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
FDA	Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (Food and Drug Administration)
ECHA	Agência Europeia de Substância Químicas
REACH	Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Substâncias Químicas
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
KoC	<i>Kidney-on-a-chip</i>
LoC	<i>Lung-on-a-chip</i>
ZnO	Óxido de zinco
TiO ₂	Dióxido de titânio
ZnONP	Nanopartícula de óxido de zinco
TiO ₂ NP	Nanopartícula de dióxido de titânio
AuNP	Nanopartícula de ouro
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Zn ²⁺	Íon zinco
NPs	Nanopartículas
ANVISA	Agência Nacional Vigilância Sanitária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVO.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.1.1 Objetivos específicos.....	17
3 METODOLOGIA.....	18
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
4.1 CLASSIFICAÇÃO DOS NANOMATERIAIS.....	19
4.1.1 Classificação quanto a sua origem.....	20
4.1.2 Classificação quanto a sua dimensionalidade.....	20
4.1.3 Classificação quanto a sua composição.....	23
4.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS.....	26
4.3 REGULAMENTAÇÃO DOS NANOMATERIAIS.....	27
4.4 NANOTOXICIDADE.....	30
4.4.1 Mecanismo de toxicidade.....	32
4.5 MODELOS DE ORGANS-ON-A-CHIPS.....	33
4.5.1 Skin-on-chip.....	34
4.5.2 Heart-on-chip.....	35
4.5.3 Kidney-on-a-chip.....	36
4.5.4 Liver-on-a-chip.....	37
4.5.5 Lung-on-a-chip.....	38
4.6 UTILIZAÇÃO DE MODELOS ORGAN-ON-A-CHIP NA AVALIAÇÃO DA NANOTOXICIDADE DOS NANOMATERIAIS.....	39
5 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas, novos conceitos tecnológicos têm tomado conta das discussões de pesquisadores no mundo todo. Entre eles, o advento da nanociência e da nanotecnologia tem proporcionado importantes avanços em todas as áreas, como mostrado pelo aumento considerável do número de artigos científicos, patentes e produtos envolvendo os nanomateriais (USKOKOVÍČ, 2013). Assim, a nanociência e a nanotecnologia são áreas de pesquisa em contínua expansão e envolve o uso de estruturas, dispositivos e sistemas cujas propriedades são inerentes ao tamanho nanométrico (BAYDA *et al.*, 2019).

O prefixo “nano” surgiu do grego “*nánnos*” e significa anão, ou algo muito pequeno, sendo o nanômetro correspondente à bilionésima parte do metro (10^{-9} m) (ARORA, RAJWADE, PAKNIKAR, 2012). Assim, a nanociência é o estudo das propriedades da matéria na escala nanométrica, enquanto a nanotecnologia é a tecnologia que utiliza este conceito em aplicações práticas (BAYDA *et al.*, 2019, MULVANEY, 2015). A nanociência é, portanto, uma convergência da física, ciência dos materiais e biologia, que lida com a manipulação de materiais em escalas atômicas e moleculares, a nanotecnologia, por sua vez, é a capacidade de observar, medir, manipular, montar, controlar e fabricar a matéria em escala nanométrica (BAYDA *et al.*, 2019).

A nanotecnologia envolve a manipulação e aplicação de partículas ou sistemas construídos em que os materiais possuem escala nanométrica, ou ainda que apresentam propriedades que estão relacionadas ao seu tamanho (BOVERHOF *et al.*, 2015). Esta tecnologia cumpre funções em importantes áreas de atividade, como na medicina, indústria de alimentos, agricultura, tratamento de água, detecção e controle de poluentes no meio ambiente, fornecendo desta forma, uma ampla área de pesquisa interdisciplinar de inovação, desenvolvimento e atividade industrial. É um campo da ciência onde fenômenos únicos permitem novas aplicações, para projetar e desenvolver produtos com base na síntese de estruturas nanométricas (AKÇAN *et al.*, 2020).

Os materiais utilizados para a aplicação prática da nanotecnologia são denominados nanomateriais. Para fins regulatórios, a Comissão Europeia considera como nanomateriais aqueles de origem natural, incidental ou fabricados, compreendendo partículas em um estado não ligado ou em forma de agregados,

mas que tenham uma ou mais dimensões na faixa de 1 a 100 nm para 50% da população de partículas, em número. Em situações em que há possíveis danos à saúde ou ao meio ambiente, o limite de 50% da distribuição de tamanhos de partículas pode ser substituído para 1 a 50%. Estruturas com uma ou mais dimensões externas menor que 1 nm, como fulerenos, grafenos e nanotubos de carbono também são considerados nanomateriais (SOARES *et al.*, 2018).

Ao contrário da Comissão Europeia, a agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (Food and Drug Administration/FDA) considera como nanomateriais, para fins sanitários e regulatórios, aqueles que se enquadram em um dos seguintes preceitos: (1) o material ou produto acabado apresenta uma das dimensões externas, ou estruturas internas ou superficiais na faixa de 1 a 100 nm; (2) o material ou produto acabado é construído de modo a exibir propriedades, incluindo propriedades físico-químicas ou efeitos biológicos, que são atribuíveis às suas dimensões, mesmo que estejam fora da faixa de nanoescala, podendo alcançar até 1 micrômetro (1000 nm). Estas considerações são aplicadas a todos produtos regulamentados pelo FDA, incluindo alimentos e medicamentos (FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 2022). Semelhante ao FDA, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceu como nanomaterial, o material em que 50% ou mais do número de partículas apresente distribuição de tamanho dentro do intervalo de 1 a 100 nm em uma ou mais de suas dimensões externas, ou que apresentem dimensões que extrapolam este limite até o marco de 1000 nm, e que exibem propriedades ou fenômenos dependentes do seu tamanho (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2022).

Devido ao seu tamanho reduzido, os nanomateriais possuem uma elevada área superficial específica em relação ao seu volume. Conseqüentemente, a energia superficial da partícula é aumentada, o que os tornam bastante reativos (SOARES *et al.*, 2018). À medida que o tamanho diminui em nanoescala, as propriedades físicas das partículas podem ser alteradas, e características como resistência, condutividade, durabilidade, leveza, reatividade e longevidade são adquiridas (EL-KADY *et al.*, 2023). Existem diferentes tipos de nanomateriais, baseando-se em sua morfologia e propriedades físico-químicas, incluindo as nanopartículas a base de carbono, poliméricas, metálicas, cerâmicas, semicondutoras e lipídicas. Tais materiais podem ser orgânicos, inorgânicos, metálicos ou híbridos (KHAN; SAEED; KHAN, 2019).

A nanotecnologia possui uma extensa aplicação na área médica, a qual é denominada de nanomedicina. Neste caso, a nanotecnologia cumpre um papel de extrema importância, pois tem levado aos tão esperados avanços na luta contra doenças que geram incertezas sobre o futuro da humanidade, como o câncer e os problemas cardiovasculares. Sua aplicação tem sido muito benéfica para a medicina moderna, visto que tem possibilitado o desenvolvimento de novos medicamentos e produtos para o diagnóstico molecular de doenças, além de implantes e materiais para regeneração de tecidos (BASAVARAJ, 2012, HALEEM *et al.*, 2023, ZDROJEWICZ *et al.*, 2015). Igualmente, uma nova área que combina o diagnóstico e terapêutica, denominada nanoteranóstico, tem surgido como uma abordagem promissora na qual inclui no mesmo sistema um agente de diagnóstico ou de imagem e o agente terapêutico (SOARES *et al.*, 2018). Finalmente, a nanotecnologia oferece novas possibilidades para o desenvolvimento da medicina personalizada, um novo conceito que visa individualizar e/ou personalizar o tratamento com base nas características individuais do paciente, melhorando a eficácia do tratamento e reduzindo possíveis efeitos tóxicos (ALGHANDI *et al.*, 2022).

O uso de nanomateriais na medicina abrange uma variedade de sistemas, incluindo nanopartículas, nanofibras, superfícies nanomodeladas, matrizes nanoporosas e revestimentos em nanoescala. Destes, o uso de formulações e sistemas de liberação de fármacos nanométricos tem emergindo como um dos mais promissores empregos da nanotecnologia na medicina (SUN; GUPTA, 2019). A associação de fármacos a carreadores nanoestruturados oferece inúmeras vantagens como aumento da solubilidade aparente e da biodisponibilidade, liberação controlada e sítio específica, proteção do agente terapêutico frente à degradação em meio biológico e redução dos efeitos tóxicos (SOARES *et al.*, 2018, SUN; GUPTA, 2019)

Diante dos avanços da nanotecnologia nas diferentes áreas, a toxicidade que os nanomateriais podem gerar ao nosso organismo e ao meio ambiente se tornou um importante tema de pesquisa. A elevada área superficial dos nanomateriais torna-os altamente reativos, podendo levar a interações danosas com os sistemas biológicos. Sendo assim, o aumento da exposição aos nanomateriais por meio da inalação, ingestão ou contato com a pele podem resultar em efeitos adversos, especialmente nos sistemas nervoso central, circulatório, gastrointestinal e

respiratório (KHANNA *et al.*, 2015). Desta maneira, qualquer uso *in vivo* dos nanomateriais envolve o completo entendimento da cinética e toxicologia das partículas, o estabelecimento de procedimentos que atestam a segurança na produção e no seu uso, em conjunto com a descrição de informações sobre o seu potencial para toxicidade (ARORA; RAJWADE; PAKNIKAR, 2012).

Neste contexto, a nanotoxicologia surgiu como uma nova ramificação da toxicologia para preencher as lacunas no conhecimento e direcionar os estudos especificamente para os potenciais efeitos adversos causados pelos nanomateriais (ARORA; RAJWADE; PAKNIKAR, 2012). Os principais aspectos considerados na avaliação da toxicidade dos nanomateriais incluem a identificação dos alvos terapêuticos, do potencial para citotoxicidade, indução de estresse oxidativo e de resposta pró-inflamatória, e dos efeitos genotóxicos (DOMB *et al.*, 2021). Apesar de ainda não estar claro o verdadeiro mecanismo de ação de toxicidade, alguns estudos relatam que os nanomateriais podem gerar espécies reativas de oxigênio, direta ou indiretamente, o que leva ao estresse oxidativo nas células. Acredita-se que existam grupos funcionais pró-oxidantes em suas superfícies reativas ou nas interações da célula com o nanomaterial (TAKA *et al.*, 2021).

Os métodos convencionais predominantes para tal avaliação são os métodos *in vitro*, os quais compreendem uma variedade de modelos, desde linhagens celulares imortalizadas, até culturas de células primárias ou de tecidos (HILLEGASS *et al.*, 2010). Muitos estudos têm dado preferência ao uso de linhagens celulares, por serem homogêneas, apresentarem boa estabilidade e conduzirem a resultados reprodutíveis. No entanto, por serem usadas geralmente células cancerígenas ou artificialmente imortalizadas, tais modelos não respondem exatamente como as células saudáveis, podendo trazer resultados questionáveis. Além também que eles não reproduzem um tecido ou órgão que possua uma estrutura tridimensional definida e não incluem as complexas comunicações cruzadas entre as células (FOREST, 2022).

Estudos *in vivo* também têm sido conduzidos na avaliação dos efeitos tóxicos dos nanomateriais, mas além de aspectos éticos que levam à necessidade da redução de estudos em animais, tais modelos têm sido questionados quanto à capacidade de representar adequadamente a fisiologia humana e fazer previsões confiáveis das respostas aos nanomateriais em humanos (KANG; PARK; HUH, 2021).

Na última década, avanços na utilização de modelos alternativos aos estudos *in vivo* levaram ao desenvolvimento de uma abordagem que explora a precisão e controlabilidade fornecida por tecnologias de microengenharia para construir novos tipos de modelos *in vitro* mais complexos conhecidos como *organ-on-a-chip* (KANG; PARK; HUH, 2021). *Organs-on-a-chips* são sistemas biomiméticos microengenheirados que representam unidades funcionais-chaves de órgãos humanos. Consistem em dispositivos microfluídicos constituídos de microcanais poliméricos tridimensionais transparentes contendo células vivas e replicam três aspectos importantes dos órgãos: a microarquitetura tridimensional definida pela distribuição espacial dos vários tipos de tecidos; interfaces tecido-tecido funcionais; e microambientes mecânicos e bioquímicos específicos de órgãos complexos (BHATIA; INGBER, 2014, ESCH; BAHINSKI; HUH, 2015).

Estes dispositivos surgiram por trazerem uma abordagem única que explora com precisão os elementos funcionais de um órgão, sendo projetados usando uma abordagem reducionista, com a intenção de replicar as características fundamentais da sobrevivência de um órgão, como por exemplo os alvéolos no pulmão, os néfrons nos rins e os ósteons no osso (KANG; PARK; HUH, 2021). O processo de criação destas unidades funcionais inicia pela redução do órgão aos seus elementos anatômicos funcionais básicos, responsáveis pela sua função fisiológica. As unidades funcionais do órgão são examinadas de modo a identificar os constituintes celulares-chaves como fenótipo, organização estrutural das diferentes células e tecidos, aspectos mecânicos e/ou bioquímicos presentes no microambiente local (KANG; PARK; HUH, 2021).

Estas características são incluídas no modelo *organ-on-a-chip*, que por sua vez é seguido pelo desenho e fabricação do microdispositivo. Esses sistemas são então usados em modelos *in vitro* especializados que permitem a simulação, investigação dos mecanismos e das modulações farmacológicas de processos biológicos complexos, possuindo a capacidade de investigar os mecanismos básicos da fisiologia dos órgãos e também de suas alterações patológicas (KANG; PARK; HUH, 2021).

Recentemente, os modelos *organ-on-a-chip* têm sido usados na avaliação da toxicidade dos nanomateriais como métodos alternativos aos estudos em cultura de células e em animais. Tais modelos podem oferecer uma maneira de investigar a toxicidade sistêmica ao avaliar a interação de nanopartículas com o microambiente

fisiológico. Assim, neste trabalho o enfoque maior será dado ao emprego de sistemas microfisiológicos como uma nova ferramenta para a avaliação da toxicidade e segurança dos nanomateriais empregados no diagnóstico e tratamento de doenças.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um levantamento bibliográfico sobre a utilização dos modelos *organ-on-a-chip* na avaliação da toxicidade dos nanomateriais empregados no diagnóstico e tratamento de doenças.

2.1.1 Objetivos específicos

- Descrever os tipos de nanomateriais empregados e/ou estudados para fins de diagnóstico e tratamento de doenças, assim como suas características químicas e físico-químicas;
- Descrever os efeitos tóxicos potenciais dos nanomateriais e seus mecanismos de toxicidade;
- Identificar e descrever os modelos *organs-on-a-chip* empregados na avaliação da toxicidade dos nanomateriais.

3 METODOLOGIA

Neste trabalho foi realizado uma revisão da literatura sobre a avaliação *in vitro* da toxicidade dos nanomateriais empregados no diagnóstico e tratamento de doenças, com enfoque nos modelos *organ-on-a-chip*, usando as bases de dados informatizadas como *United States National Library of Medicine* (PubMed), *Elsevier's Scopus* (SCOPUS), Google Acadêmico e *Scientific Electronic Library Online* (Scielo).

Para refinamento da busca foram empregadas as seguintes palavras chaves: “*nanomaterials*”, “*microphysiological systems*”, “*nanotoxicology*”, “*organs-on-chip*”, “*in vitro toxicity*”, intercalados com o operador booleano “AND”. Não foram incluídas citações. O período da busca compreendeu os últimos 10 anos. A partir da leitura e análises dos resumos, foram selecionadas as publicações mais relevantes para o trabalho seguindo os critérios de inclusão. Após essa pré-seleção, os trabalhos que se encaixaram no tema da revisão foram lidos na íntegra, e foi feita a extração de dados para elaboração da descrição narrativa dos mesmos.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 CLASSIFICAÇÃO DOS NANOMATERIAIS

Nanomateriais têm sido amplamente empregados na medicina na detecção de moléculas biológicas, diagnóstico de imagem e liberação de fármacos. Tais materiais são conhecidos por sua elevada relação superfície/volume, o que modula consideravelmente suas propriedades físico-químicas e desempenho, quando comparados aos materiais de tamanho micro ou macroscópico (PARAS *et al.*, 2022).

Com base em sua morfologia, tamanho, propriedades e constituintes, pode-se destacar cinco categorias principais: nanomateriais à base de carbono, nanomateriais metálicas, nanomateriais semicondutores, nanomateriais poliméricos e nanomateriais à base de lipídios (KOLAHALAM *et al.*, 2019).

Os nanomateriais à base de carbono, como os nanotubos de carbono e os fulerenos, são notáveis por sua estrutura única. Os nanotubos de carbono consistem em folhas de grafeno enroladas, proporcionando resistência superior ao aço e aplicabilidade para reforço estrutural. Os fulerenos, por sua vez, apresentam uma estrutura de gaiola oca com sessenta ou mais átomos de carbono, exibindo afinidade por elétrons, condutividade e resistência elétrica notáveis (KOLAHALAM *et al.*, 2019).

Nanopartículas metálicas, obtidas a partir de íons metálicos divalentes e trivalentes, são preparadas por métodos químicos ou fotoquímicos. Essas partículas possuem alta área de superfície e capacidade de adsorção, sendo amplamente utilizadas em diversas pesquisas, estudos ambientais e bioimagem. Os nanomateriais semicondutores, com propriedades metálicas e não metálicas, apresentam amplos intervalos de bandas que podem ser modificados para diversas aplicações, como fotocatalise e dispositivos eletrônicos (KOLAHALAM *et al.*, 2019).

Por fim, os nanocompósitos são materiais sólidos polifásicos, nos quais uma fase possui dimensões inferiores a 100 nm. Apresentam uma alta relação entre superfície e volume, influenciando suas propriedades físico-químicas com base no tamanho e forma (KOLAHALAM *et al.*, 2019).

Os nanomateriais podem ser classificados de acordo com a sua dimensionalidade, composição e origem. Nos próximos itens, encontram-se descritas algumas destas classificações.

4.1.1 Classificação quanto a sua origem

Podemos classificar em 4 diferentes categorias de nanomateriais com base em sua origem. Sendo elas: naturais, incidentais, projetados e bioinspirados.

Nanomateriais naturais são formados por processos naturais, como bioquímicos, geoquímicos ou mecânicos. Exemplos incluem materiais provenientes de incêndios florestais, drenagem ácida de minas, cinzas vulcânicas e resíduos radioativos. Esses materiais podem ser encontrados na natureza, como as cores azuis da tarântula, escamas de asas de borboleta, seda de aranha, estruturas virais, entre outros (HARISH *et al.*, 2022).

Nanomateriais incidentais são criados involuntariamente por atividades humanas diretas ou indiretas, como emissões de motores de veículos, gases de soldagem e combustão de combustíveis sólidos. Muitos deles são formados durante incêndios florestais e, geralmente, possuem tamanhos e formas irregulares, afetando significativamente o meio ambiente (HARISH *et al.*, 2022).

Nanomateriais projetados são fabricados intencionalmente para atender a propósitos específicos, como implantes médicos nanoestruturados. Eles são caracterizados por formas e tamanhos regulares, como anéis, fulerenos, nanotubos de carbono e grafeno. Esses materiais são produzidos para atender a necessidades específicas, proporcionando controle preciso sobre suas características (HARISH *et al.*, 2022).

Nanomateriais bioinspirados são fabricados com o objetivo de imitar nanoestruturas, características ou funções presentes em materiais naturais ou organismos vivos. Utilizam técnicas avançadas de nanofabricação para modular suas estruturas e obter funções específicas. Um exemplo é a imitação da mudança de cor rápida observada nos camaleões, usando nanocristais de sílica em sensores de elastômero mecanocrômicos. Essas categorias destacam a diversidade de origens e propriedades dos nanomateriais, fornecendo uma compreensão abrangente de suas aplicações e implicações (HARISH *et al.*, 2022).

4.1.2 Classificação quanto a sua dimensionalidade

O jeito mais comum de classificar uma nanoestrutura é por meio de sua dimensão, em 4 tipos: dimensão zero (0D), unidimensional (1D), bidimensional (2D)

e tridimensional (3D). Nos nanomateriais de dimensão zero, todas as três dimensões dos nanomateriais estão na faixa da nanoescala, sendo as nanopartículas um exemplo desta classificação. Nos nanomateriais, apenas uma das dimensões das partículas encontram-se na faixa de nanoescala, tendo como exemplos os nanobastões, nanotubos e nanofios. Os nanomateriais bidimensionais possuem duas dimensões na faixa da nanoescala e incluem os nanofilmes, nanocamadas e nanorevestimentos. Por fim os nanomateriais tridimensionais não possuem nenhuma dimensão na faixa da nanoescala. Isso significa que em três dimensões arbitrárias eles têm escala maior que 100 nanômetros, incluídos nesta classificação estão os nanocompósitos, núcleos, multi nanocamadas, feixes de nanofios e feixes de nanotubos (KOLAHALAM *et al.*, 2019). A classificação das nanoestruturas baseadas em sua dimensão, juntamente com alguns exemplos está demonstrada no Quadro 1.

Quadro 1 — Classificação das nanoestruturas com base na dimensionalidade.

Dimensionalidade	Descrição	Exemplos
Dimensão zero (0D)	Todas as dimensões na escala de nanômetros	Fulerenos, pontos quânticos, nanopartículas, nanobastões
Unidimensional (1D)	Uma dimensão não está na escala de nanômetros	Nanotubos de carbono, nanobastões, nanofios
Bidimensional (2D)	Duas dimensões não estão na escala de nanômetros	Grafeno, multicamadas de filme fino
Tridimensional (3D)	Três dimensões não estão na escala de nanômetro	Nanocompósitos

Fonte: Adaptado de SHUBHA; MANOHARA; SUBHRANSH (2022).

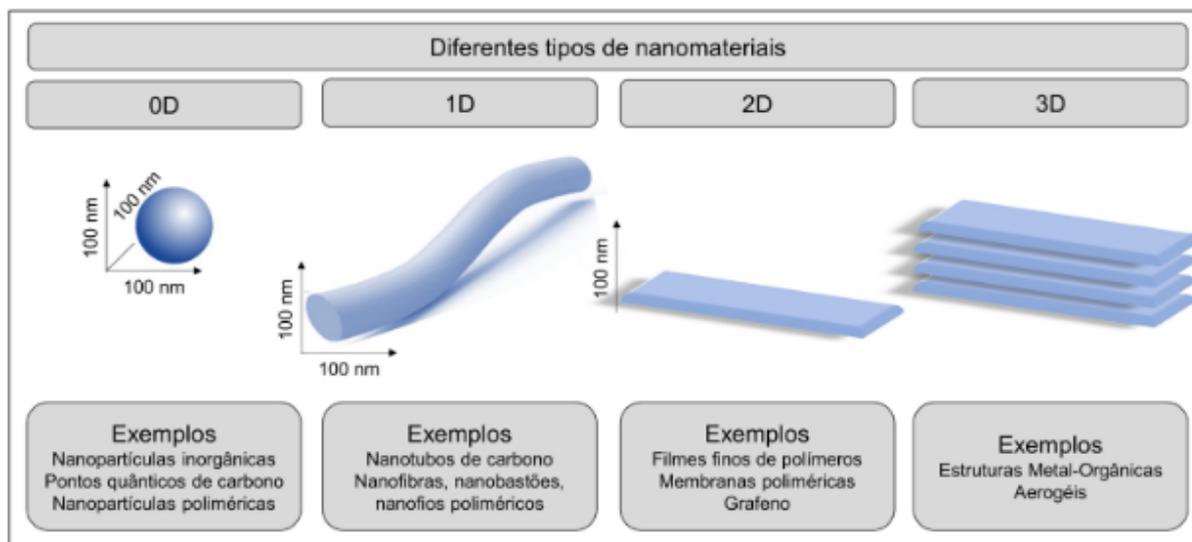
Os materiais com dimensões todas abaixo da escala nanométrica pertencem à categoria de nanomateriais de dimensão zero (0D). Exemplos notáveis incluem nanopartículas, pontos quânticos, nanopontos de carbono e fulerenos. Nos últimos anos, houve avanços consideráveis na pesquisa desses nanomateriais, que apresentam propriedades estruturais únicas devido ao seu tamanho ultra reduzido, como uma alta relação entre superfície e volume. Pontos quânticos de carbono, pontos quânticos de grafeno, fulerenos, pontos quânticos inorgânicos e nanopartículas de metais nobres são alguns exemplos comuns desta categoria (PARAS *et al.*, 2022).

Por outro lado, os nanomateriais unidimensionais (1D) possuem uma proporção comprimento-diâmetro elevada, impactando positivamente em suas propriedades elétricas, mecânicas, químicas e magnéticas. Exemplos notáveis incluem nanotubos de carbono de parede única, que demonstram habilidades promissoras no armazenamento de hidrogênio. Pesquisas sugerem que nanotubos feitos de materiais inorgânicos mostram potencial para o armazenamento reversível de hidrogênio, proporcionando maior capacidade de sorção. Além disso, nanobastões dopados têm se mostrado eficazes na melhoria do processo de sorção e dessorção do hidrogênio (PARAS *et al.*, 2022).

Os nanomateriais bidimensionais (2D) consistem em estruturas planares com espessura de camada atômica, conectadas por forças de van der Waals. Esses materiais possuem vigor mecânico e flexibilidade notáveis, graças às ligações covalentes robustas no plano e à pequena espessura atômica. Suas características únicas, como grande área superficial e propriedades anisotrópicas, tornam-nos ideais para diversas aplicações, especialmente quando a atividade de superfície é crucial (PARAS *et al.*, 2022).

Por fim, os nanomateriais tridimensionais (3D) podem ser construídos a partir da organização de nanoestruturas 0D, 1D ou 2D (Figura 1). Eles exibem morfologias complexas, como nanocubos, dendrímeros e nanogaiolas. Em comparação com seus equivalentes a granel, esses nanomateriais 3D podem combinar as vantagens dos materiais a granel e dos nanomateriais, apresentando efeitos de confinamento quântico e dispersão de luz. A automontagem a partir de precursores desempenha um papel vital na preparação dessas estruturas, frequentemente alcançada por meio de síntese química úmida. A diversidade desses nanomateriais oferece oportunidades promissoras em várias áreas, desde armazenamento de energia até aplicações terapêuticas, explorando suas propriedades únicas e adaptáveis (PARAS *et al.*, 2022).

Figura 1 – Diferentes tipos de nanomateriais, de acordo com sua dimensionalidade.



Fonte: SANFELICE; PAVINATTO; CORRÊA, (2022).

4.1.3 Classificação quanto a sua composição

Os nanomateriais empregadas na medicina podem ser classificadas quanto a sua composição em orgânicas, inorgânicas e a base de carbono (HALEEM *et al.*, 2023, JHA *et al.*, 2014, MITRAGOTRI; STAYTON, 2014). As nanopartículas orgânicas são aquelas constituídas de proteínas, carboidratos, lipídios, polímeros, ou qualquer outro composto orgânico. A Figura 2 exibe uma representação de alguns dos diferentes tipos de nanomateriais orgânicos, como as micelas, dendrímeros, lipossomas, nanopartículas poliméricas. Muitos destes sistemas são biodegradáveis e biocompatíveis, sendo especialmente empregados como carreadores de fármacos. A encapsulação protege os fármacos da degradação e permite direcioná-los a tecidos alvos, o que é uma vantagem em particular para administração de fármacos de elevada toxicidade, como os quimioterápicos. Pela escolha adequada dos materiais e da tecnologia de obtenção, a liberação do fármaco por ocorrer de forma sustentada ou ainda ser acionada pelas condições do meio como pH, presença de enzimas e temperatura (HALEEM *et al.*, 2023, MITRAGOTRI; STAYTON, 2014).

Partículas poliméricas, variando de algumas dezenas de nanômetros a vários micrômetros, são sintetizadas através de diversos métodos, como emulsificação e secagem por pulverização. Recentemente, métodos foram desenvolvidos para criar

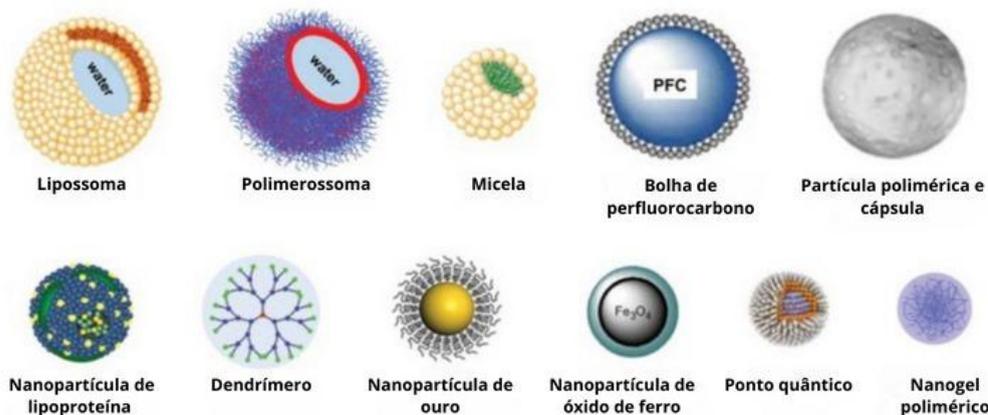
partículas de diferentes formas, sendo as nanopartículas em forma de bastonete destacadas por apresentarem maior circulação sanguínea, por evitar o sistema fagocitário, e direcionamento, características desejadas em terapias com nanopartículas (MITRAGOTRI; STAYTON, 2014; NGO *et al.*, 2022).

Métodos como a replicação de partículas em modelos não umectantes são empregados para produzir partículas não esféricas em larga escala. As nanopartículas poliméricas oferecem oportunidades para liberação controlada, permitindo direcionamento mais eficaz e redução da toxicidade sistêmica. Algumas podem ser projetadas para liberar o medicamento apenas quando expostas a gatilhos específicos, como ultrassom, luz óptica ou condições biomoleculares, como por exemplo pH no local afetado (MITRAGOTRI; STAYTON, 2014).

Além das nanopartículas poliméricas, o uso contínuo de sistemas baseados em lipídios, como lipossomas, na síntese de nanopartículas tem ganhado espaço. Os lipossomas oferecem biocompatibilidade e facilidade de encapsulamento, embora sejam mais frágeis em comparação com as nanopartículas poliméricas. Um exemplo notável é o Doxil, que utiliza doxorrubicina encapsulada em lipossomas e é utilizado no tratamento de câncer (MITRAGOTRI; STAYTON, 2014).

Com a possibilidade de combinar propriedades interessantes de diferentes componentes, os nanomateriais orgânicos-inorgânicos híbridos têm atraído pesquisadores no desenvolvimento de novos e inteligentes materiais nanocompósitos, pois demonstram muitas propriedades novas de alto interesse, como alta atividade catalítica, propriedades ópticas estimulantes e diversas propriedades físicas. Porém, ainda é necessária a integração de uma matriz polimérica ou de um componente orgânico, que melhore ainda mais as propriedades mecânicas, térmicas e químicas. Esta estratégia maximiza a interface entre os componentes, molda o limiar de percolação do enchimento NP e otimiza a processabilidade do componente integrado à base de polímero (KHALID *et al.*, 2020).

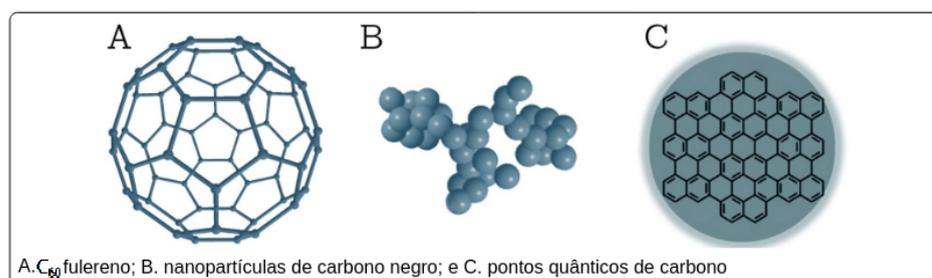
Figura 2 — Tipos de nanopartículas orgânicas.



Fonte: Adaptado de SUN e GUPTA (2019).

Nanopartículas à base de carbono compreende nanopartículas feitas exclusivamente de átomos de carbono. Os exemplos mais conhecidos desta classe são os fulerenos, as nanopartículas de negro de carbono e os pontos quânticos (Figura 3). Fulerenos são moléculas de carbono caracterizadas pela sua estrutura simétrica semelhante a uma gaiola. As nanopartículas de negro de carbono apresentam-se como partículas esféricas unidas na forma de agregados semelhantes a cachos de uva. Os pontos quânticos, por sua vez, consistem de nanopartículas quase esféricas de tamanho menor que 10 nm. As nanopartículas à base de carbono unem as propriedades distintas das ligações de carbono hibridizado do tipo sp^2 com as propriedades físico-químicas incomuns da nanoescala. Devido à sua condutividade elétrica única, alta resistência, afinidade eletrônica, propriedades ópticas, térmicas e de sorção, são utilizados em uma ampla gama de aplicações, como na liberação de fármacos, armazenamento de energia e bioimagem. (JOUDEH; LINKE, 2022).

Figura 3 — Diferentes tipos de nanopartículas à base de carbono.



Fonte: Adaptado de JOUDEH e LINKE (2022).

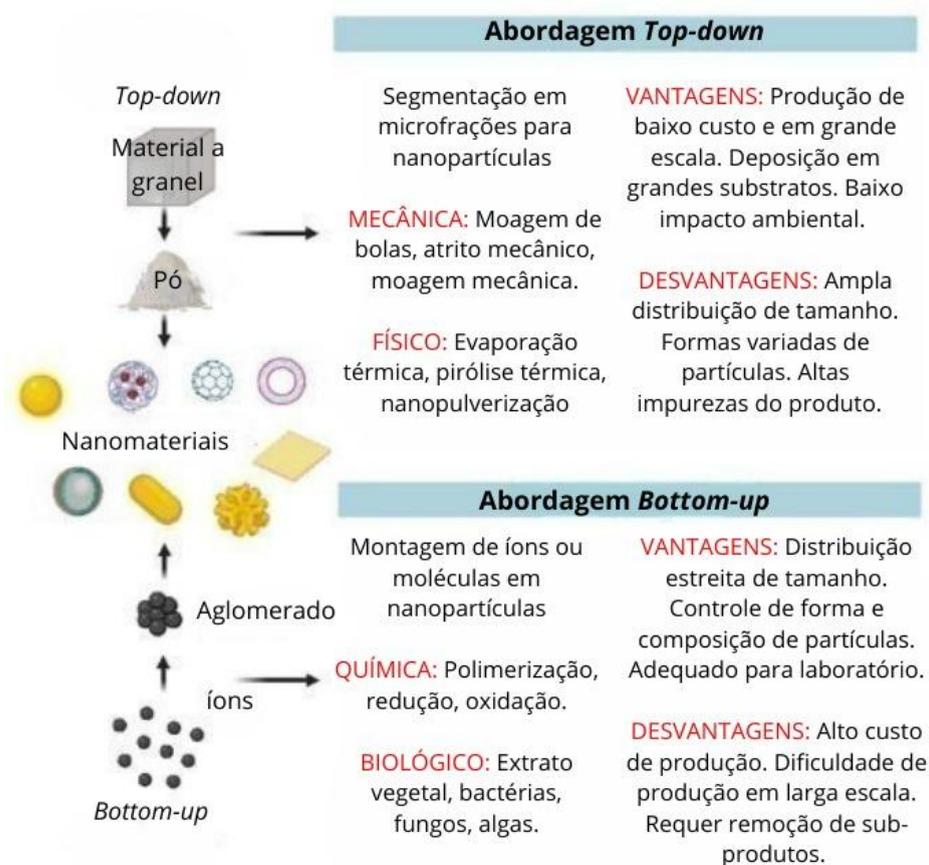
Nanopartículas inorgânicas são compostos que incluem outros elementos que não o carbono, como por exemplo, metais, óxidos metálicos e sais metálicos. Tais nanomateriais possuem diversos formatos (cilindros, elipses, cubos ou esferas) relacionados ao seu empacotamento atômico, com manutenção da natureza cristalina dos compostos metálicos, embora existam também nanopartículas inorgânicas na forma amorfa. Devido às ligações pendulares dos átomos, a superfície das nanopartículas inorgânicas é muito reativa e sensível; esta desvantagem pode ser superada através da funcionalização das partículas. Alguns destes materiais possuem características notáveis, particularmente os pontos quânticos metálicos, devido ao estágio de transição entre massa e poucos átomos, e as nanopartículas magnéticas, por exemplo, ferro (Fe) e magnetita (Fe_3O_4), devido às suas fortes forças coercitivas e propriedades paramagnéticas (HARISH *et al.*, 2022). Ainda são citados como materiais inorgânicos as nanoargilas (silicatos de espessura de 1 nm), as quais são materiais biocompatíveis e de baixa toxicidade, empregadas como materiais de revestimento, na adsorção de toxinas e na esterilização de materiais (HARISH *et al.*, 2022).

4.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS

As características específicas dos nanomateriais são determinadas pelo método de síntese utilizado. Atualmente, os métodos são agrupados em abordagens “*top-down*” e “*bottom-up*”, independentemente da origem da nanopartícula (BARHOUM *et al.*, 2022). A abordagem “*bottom-up*” é o método em que a fabricação da nanopartícula resulta da montagem de átomos ou moléculas individuais, conforme ilustrado na Figura 4. Esta abordagem explora a capacidade de automontagem de átomos, íons, moléculas ou nanopartículas e as interações físicas e químicas (por exemplo, ligações iônicas e de hidrogênio, forças de van der Waals e ligações de hidrogênio mediadas por água) para reunir blocos de construção primários em estruturas macroscópicas. Métodos de síntese química (por exemplo, transição sol-gel, micromulsão) e nanoprecipitação são exemplos de métodos de obtenção de nanopartículas pela abordagem do tipo “*bottom-up*”. A principal vantagem desta abordagem é a possibilidade de sintetizar nanoestruturas com menos defeitos e composição química homogênea (BARHOUM *et al.*, 2022, HARISH *et al.*, 2022).

As técnicas do tipo “*top-down*” para a obtenção de nanopartículas, por outro lado, envolvem a fragmentação de materiais sólidos maiores e uniformes em frações menores para formar nanopartículas, geralmente pelo uso de técnicas de moagem, atrito e gravura. As abordagens “*top-down*” são adequadas para sintetizar filmes finos e nanopartículas maiores que 100 nm (BARHOUM *et al.*, 2022, HARISH *et al.*, 2022).

Figura 4 — Abordagens “*top down*” e “*bottom up*” para obtenção de nanopartículas.



Fonte: Adaptado de HARISH *et al.* (2022).

4.3 REGULAMENTAÇÃO DOS NANOMATERIAIS

É certo que nos últimos anos houve um investimento global significativo na investigação da segurança dos nanomateriais, isso levou a uma melhor compreensão dos efeitos e dos mecanismos gerados por eles. No entanto, ainda é difícil chegar a conclusões inequívocas sobre os riscos da maioria dos nanomateriais no contexto da regulamentação. A principal razão para esta conclusão bastante

decepcionante é que a investigação foi predominantemente “orientada para a ciência” e não “orientada para a regulamentação”.

A pesquisa orientada para a ciência muitas vezes resulta em dados experimentais que não podem ser utilizados em um contexto regulamentar, em que os dados têm de ser bem definidos, normalizados, fiáveis, reproduzíveis e intercambiáveis (VAN TEUNENBROEK; BAKER; DIJKZEUL, 2017).

A Agência Europeia de Medicamentos (EMA) aplica a legislação geral sobre medicamentos na regulamentação dos nanomedicamentos. Ao mesmo tempo, cria uma experiência multidisciplinar especializada para avaliar nanomedicamentos utilizando os atuais princípios de análise de risco/benefício. Também estabeleceu uma definição de nanomedicina e publicou uma lista de orientações específicas para nanomedicina que pode ser consultada na sua página de orientação (FOULKES *et al.*, 2020).

Até recentemente a FDA não tinha publicado nenhum documento específico para nanomedicamentos, ou mesmo para a categoria de nanomateriais em geral. No entanto, em agosto de 2016, foi emitido um documento que aborda os regulamentos de forma geral a todos os produtos relacionados com nanomateriais, dentro dos cosméticos, ingredientes alimentares e também de rações para animais. Isso porque a FDA ainda não está totalmente convencida que os nanomedicamentos se comportam de maneira muito diferente de outros medicamentos de moléculas pequenas, sendo desnecessária uma legislação própria (FARJADIAN *et al.*, 2019).

Apesar de ainda não possuírem uma regulamentação específica, tanto a FDA quanto a Comissão Europeia certificaram numerosos medicamentos baseados em nanomedicina para fins terapêuticos e de diagnóstico, principalmente voltados ao tratamento do câncer, além de possuírem outros que estão sendo avaliados para serem lançados no mercado. Entre os medicamentos aprovados, cerca de 250 foram produzidos com base em plataforma nanotecnológica, e já estão no mercado ou em ensaios clínicos. Entre os medicamentos relatados, as nanopartículas poliméricas são as mais comumente utilizadas devido a sua fácil síntese e ampla aplicabilidade (ALBALAWI *et al.*, 2021).

Enquanto isso, a Agência Europeia das Substâncias Químicas (ECHA), uma agência executiva europeia independente, financiada pela União Europeia, aborda a avaliação de segurança de substâncias químicas, incluindo nanomateriais fabricados, regulamentados pela legislação química europeia REACH EC

1907/2006, esta regulamentação estabelece ao sistema da União Europeia, a garantia do registro, avaliação, autorização e restrições das substâncias químicas (ALLAN *et al.*, 2021).

Em 2018 uma atualização da REACH (Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Substâncias Químicas) introduziu requisitos de informação específicos para nanotecnologia e novas disposições para sua avaliação de segurança química. Além da sua função reguladora, a ECHA acolhe o Observatório da União Europeia para os nanomateriais, que visa fornecer informações objetivas e fiáveis ao público e a outras pessoas sobre os aspectos de inovação e segurança dos nanomateriais no mercado da União Europeia (ALLAN *et al.*, 2021).

No Brasil em 2005 foi proposto o primeiro Projeto de Lei Nº 5.076 de 2005, que visava regulamentar a pesquisa em nanotecnologia com a finalidade de respeitar os valores éticos e sociais do indivíduo e da família, evitando que a pesquisa nessa área tenha tendência para alguma corrente indesejável pela sociedade brasileira. Projeto este, vinculado à Presidência da República com intuito de assessorar tecnicamente a implementação da Política Nacional de Nanosegurança, com a estipulação de normas técnicas de segurança, pareceres técnicos relacionados com a pesquisa, produção, consumo e descarte de produtos nanotecnológicos. A proposta legislativa foi distribuída e analisada por três comissões distintas da Câmara Federal, sendo os pareceres dos relatores desfavoráveis, pois o projeto de lei seria incompatível e inadequado tanto financeira quanto orçamentariamente (HUPFFER; LAZZARETTI, 2019).

Atualmente existe uma resolução publicada no Diário Oficial da União que é a RDC Nº 751, de 15 de setembro de 2022 que dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de notificação e de registro, e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de dispositivos médicos, onde na seção III de definições o inciso XXVIII do art. 4º define nanomateriais como:

“Nanomaterial: material natural, incidental ou manufaturado que contém partículas em estado não ligado ou sob a forma de agregado ou aglomerado, em que 50% ou mais do número de partículas apresente distribuição de tamanho dentro do intervalo de 1 a 100 nm, em uma ou mais de suas dimensões externas, podendo incluir:

a) fulerenos, flocos de grafeno e nanotubos de carbono de parede simples com uma ou mais dimensões externas inferiores a 1 nm também são considerados nanomateriais.

b) materiais manufaturados com dimensões que extrapolem o limite superior da nanoescala (estabelecida entre 1 e 100 nm), até o marco de 1000 nm, e que exibam propriedades ou fenômenos tamanho-dependentes distintos daqueles apresentados pelo mesmo material em macroescala, poderão ser enquadrados na definição de nanomaterial;" (RDC nº 751/2022 – art. 4º, inciso XXVIII).

Ainda este ano tornou-se pública o Guia nº 63/2023 - Versão 1 que disponibiliza informações quanto a Avaliação de Segurança Biológica de Materiais de Uso em Saúde de Base Nanotecnologia, estruturado pela ANVISA no seu Webinar com a Gerência de Tecnologia de Materiais de Uso em Saúde. O Guia é um instrumento regulatório de caráter recomendatório e não vinculante, que possui como foco a segurança. Foi estruturado com o intuito de elucidar e racionalizar o planejamento e a condução de uma avaliação de segurança biológica capaz de vislumbrar e contemplar as peculiaridades nanotoxicológicas, mesmo que sob uma perspectiva caso a caso. O Guia é estruturado com uma abordagem conservadora estruturada em 5 seções; Primeiro na contextualização sobre materiais de uso em saúde que sejam constituídos ou incorporem nanomateriais, com suas principais aplicações e preocupações de segurança relacionadas; Em segundo pelos Requisitos Essenciais de Segurança aplicáveis a essa categoria de produtos, segundo a Resolução – RDC nº 546/2021; Em terceiro pela caracterização Físico-química e Biológica do nanomaterial empregado; Quarto pela avaliação de Segurança Biológica do produto acabado, sob uma perspectiva de risco; E cinco pelo reporte detalhado de informações. Tudo isso extraído das bases normativas RDC nº 751/2022; RDC nº 546/2021; ISO/TR 13014; ISO 10993-1; ISO/TR 10993-22; ISO 14971 e ISO/TR 24971 além de uma extensa revisão bibliográfica (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2023).

4.4 NANOTOXICIDADE

É inevitável que o ser humano tenha contato com os nanomateriais que os rodeiam. Eles podem entrar em nosso corpo por diferentes vias de administração (Quadro 2), mais frequentemente através do trato respiratório, culminando em um contato intensivo com os pulmões. Essa entrada também é possível através da via

dérmica, gastrointestinal e por meio de interações com implantes e injeções que permitem esse contato mais direto, podendo ser bastante nocivo para o sistema biológico (AKÇAN *et al.* 2020).

Quanto à exposição dérmica, três fatores são relevantes referentes a sua absorção, que são as propriedades físico-químicas dos nanomateriais, as propriedades físico-químicas da ferramenta que dispersa a molécula penetrante e a localização e as condições da pele. Cremes e loções são ferramentas à base de nanomateriais frequentemente usados na exposição da pele, no qual os nanomateriais geralmente se acumulam no estrato córneo e na derme. Acredita-se também que alguns dos nanomateriais absorvidos pela pele podem vazar para a corrente sanguínea, podendo causar efeitos sistêmicos mais graves (AKÇAN *et al.* 2020).

Já as nanopartículas inaladas podem ser depositadas em todas as regiões do trato respiratório, alcançando os alvéolos, com a deposição de partículas ultrafinas principalmente nesta região. Após a absorção pelo trato respiratório, as nanopartículas podem entrar na corrente sanguínea e nos linfonodos, alcançando células na medula óssea, baço e coração. No trato respiratório, macrófagos alveolares processam partículas não eliminadas pelo sistema mucociliar e tosse, a fagocitose ativa os macrófagos para liberar quantidades substanciais de radicais de oxigênio, enzimas proteolíticas, mediadores pró-inflamatórios, etc., podendo levar a inflamações pulmonares agudas e crônicas. Algumas nanopartículas, como as de prata, foram mostradas como citotóxicas para células de macrófagos alveolares e células epiteliais pulmonares (BACANLI; BASARAN, 2014).

Dito isso, as nanopartículas também podem chegar ao trato gastrointestinal após a limpeza mucociliar do trato respiratório pela região nasal ou ser ingeridas diretamente em alimentos, água, medicamentos e dispositivos de administração de fármacos. Vários tipos de nanopartículas podem passar pelo trato gastrointestinal, sendo rapidamente eliminadas nas fezes e na urina. No entanto, algumas nanopartículas podem se acumular no fígado durante o metabolismo de primeira passagem. Estudos relataram a ocorrência de argíria sistêmica após a ingestão de nanopartículas coloidais, demonstrando sua translocação do trato intestinal (BACANLI; BASARAN, 2014).

Injeções e implantes são outras possíveis vias de exposição, principalmente para materiais projetados. Dessa forma, as partículas na escala nanométrica podem

se distribuir em diferentes partes do corpo dependendo do tamanho, características e vias de entrada (BACANLI; BASARAN, 2014).

Quadro 2 — Efeitos tóxicos por via de administração.

Via de Administração	Efeitos Tóxicos
Respiratória	Fibrose, inflamação, granuloma nos pulmões; distúrbios cardiovasculares sistêmicos; possível associação com câncer de próstata
Cutânea	Acúmulo no estrato córneo e derme; potencial vazamento para a corrente sanguínea
Gastrointestinal	Absorção direta; ingestão secundária; potencial acúmulo em órgãos; baixa absorção intestinal; metabolismo hepático
Injeções e Implantes	Permeabilidade no local de administração; possível toxicidade sistêmica dependendo do material

Fonte: Adaptado de AKÇAN *et al.* (2020).

4.4.1 Mecanismo de toxicidade

Quando expostas à luz ou a metais de transição, os nanomateriais podem promover a formação de pró-oxidantes, que, por sua vez, desestabilizam o delicado equilíbrio entre a capacidade do sistema biológico de produzir e desintoxicar as espécies reativas de oxigênio (EROs). Tamanho, forma e agregação são características dos nanomateriais que podem culminar na geração de EROs. As EROs incluem radicais livres como o ânion superóxido, radicais hidroxila e o não radical peróxido de hidrogênio, que são constantemente gerados nas células em condições normais como consequência do metabolismo aeróbico. De maneira positiva as células possuem um extenso sistema de defesa antioxidante para combater as EROs, seja diretamente por interceptação ou indiretamente através da reversão do dano oxidativo (ARORA, RAJWADE, PAKNIKAR, 2012).

As primeiras indicações de desenvolvimento de toxicidade de partículas nanométricas vieram de estudos epidemiológicos, mostrando associação da exposição a material particulado com resultados adversos da gravidez, como baixo peso ao nascer, parto prematuro e até pré-eclâmpsia. Recentemente, foi confirmado que o carbono negro ambiental atinge o lado fetal da placenta em mulheres grávidas expostas a tal contaminantes (DUGERSHAW *et al.*, 2020).

Em termos gerais, os sistemas biológicos conseguem integrar múltiplas vias de lesão em um número limitado de resultados patológicos, como inflamação, apoptose, necrose, fibrose, hipertrofia, metaplasia e carcinogênese. No entanto, mesmo que os nanomateriais não introduzam novas patologias, podem existir mecanismos de lesão inovadores que exigem ferramentas, ensaios e abordagens específicas para avaliar sua toxicidade. Vias biológicas e mecanísticas específicas podem ser elucidadas em condições controladas *in vitro*; essas, juntamente com estudos *in vivo*, revelariam uma ligação entre o mecanismo de lesão e o resultado fisiopatológico no órgão-alvo (ARORA, RAJWADE, PAKNIKAR, 2012).

4.5 MODELOS DE *ORGANS-ON-A-CHIPS*

Organs-on-a-chip, também referidos como sistemas microfisiológicos *organs-chips*, são dispositivos de cultura de células construídos de modo a mimetizar as características de unidades teciduais multicelulares ou elementos funcionais de órgãos (KANG; PARK; HUH, 2021). Estes sistemas microfisiológicos conseguem fornecer um microambiente controlável a partir de seus microcanais, nos quais as células humanas, predominantemente epitélio ou endotélio, podem crescer de forma robusta e reprodutível através do fluxo lento no meio de cultura. Neste regime de fluxo laminar simples, as células que crescem no microcanal podem se comunicar umas com as outras por difusão (CHOI *et al.*, 2016).

Para um dado órgão, o processo de criação de um dispositivo microfisiológico inicia na redução do órgão a seus mais básicos elementos anatômicos responsáveis pela sua função (por exemplo, alvéolos nos pulmões, néfrons nos rins). Estas unidades funcionais são examinadas de modo a identificar os constituintes celulares-chaves, a organização celular das diferentes células e tecidos, e os aspectos mecânicos e bioquímicos que estão presentes em um dado microambiente. Um dispositivo microfluídico é então construído para reproduzir os aspectos previamente identificados para o funcionamento do órgão ou tecido (KANG; PARK; HUH, 2021). Abaixo são descritos alguns destes modelos já desenvolvidos.

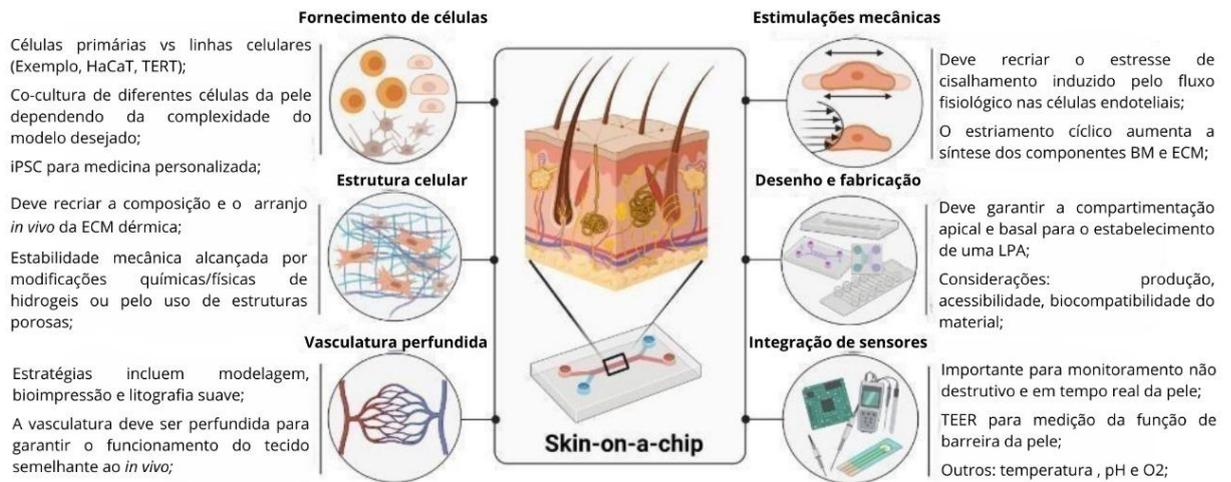
4.5.1 *Skin-on-chip*

As inovações trazidas pelas tecnologias *organ-on-chip* e a demanda por modelos de pele mais confiáveis em testes de medicamentos e cosméticos impulsionaram o desenvolvimento do modelo *skin-on-a-chip*. Esses dispositivos microfluídicos possibilitam o cultivo desse tecido sob o controle preciso de vários parâmetros físicos e bioquímicos, tais como fluxos, forças e gradientes químicos. Classificar todas as abordagens *skin-on-a-chip* em grupos não é uma tarefa simples, pois elas variam consideravelmente em aspectos fundamentais, como o método de fabricação, os materiais utilizados e a manutenção do tecido (RISUEÑO *et al.*, 2021).

Dois abordagens distintas foram desenvolvidas para criar *chips* microfluídicos destinados à modelagem da pele: a primeira envolve a introdução direta de um fragmento de pele, obtido por meio de biópsia ou de um equivalente de pele reconstruída, no *chip*. A segunda abordagem concentra-se na geração *in situ* do tecido diretamente no *chip* (conhecida como *in situ skin-on-a-chip*) (RISUEÑO *et al.*, 2021).

Para que um modelo de *skin-on-a-chip* seja fisiologicamente relevante, é necessário que tenha incluído as camadas essenciais da pele humana (derme e epiderme), juntamente com um sistema vascular. A escolha da fonte celular e do tipo de andaime desempenha um papel crucial na obtenção de um modelo final que apresente a arquitetura e fisiologia desejadas. Além disso, a incorporação de estímulos mecânicos, como alongamento cíclico e tensão de cisalhamento, é fundamental para reproduzir o microambiente *in vivo*. Por fim, a consideração da integração de sensores nos dispositivos é essencial para possibilitar a monitorização em tempo real da função da pele (ZOIO; OLIVA, 2022). A Figura 5 fornece um desenho esquemático representando os principais fatores a serem considerados no desenvolvimento de modelos *skin-on-a-chip* fisiologicamente relevantes, incluindo fatores técnicos e biológicos (fonte de células, estrutura celular, perfusão, alongamento cíclico, design e fabricação e integração de sensores).

Figura 5 — Desenvolvimento de plataformas biomiméticas *skin-on-a-chip*.



Fonte: Adaptado de ZOIO e OLIVA (2022).

4.5.2 Heart-on-chip

Modelos *heart-on-chip* (Figura 6) foram desenvolvidos com o objetivo de mimetizar importantes características morfológicas e funcionais do meio cardíaco, como a organização anisotrópica dos cardiomiócitos e a estimulação eletromecânica para gerar um batimento de contração síncrona. Vários modelos 2D e 3D foram desenvolvidos para melhorar e avaliar a maturação do tecido cardíaco, de forma a reproduzir sua funcionalidade e sua resposta frente a medicamentos ou substâncias exógenas (FERRARI; RASPONI, 2021). Um exemplo deste dispositivo é ilustrado na Figura 6, no qual é constituído de três camadas de dimetilpolisiloxano alinhadas e irreversivelmente ligadas (*i* e *ii*, respectivamente), (*iii*) representa uma foto real do dispositivo e (*iv*) medida da taxa de contração no dispositivo cardíaco em resposta ao aumento da concentração de isoprenalina na presença (+ES) ou ausência (-ES) de estímulo elétrico.

Figura 6 — Dispositivo *heart-on-a-chip*.

Fonte: Adaptado de FERRARI; RASPONI (2021).

4.5.3 Kidney-on-a-chip

Os rins são responsáveis pela eliminação de muitos fármacos e metabólitos via urina, além de terem um papel importante na filtração e manutenção do equilíbrio de fluidos e eletrólitos. Sistemas microfisiológicos têm sido desenvolvidos para reproduzir as funções normais dos rins, replicando regiões específicas dos néfrons, incluindo os podócitos nos capilares glomerulares ou as células epiteliais dos túbulos proximais, alças de Henle e túbulos distais convolutos (BAJAJ *et al.*, 2018).

Os sistemas microfisiológicos renais replicam a função renal melhor do que a cultura celular 2D tradicional, devido à presença de tensão de cisalhamento de fluido mediada por fluxo e tensão mecânica, que replicam o fluxo urinário e impulsionam a morfologia celular adequada de forma a conseguir replicar pontos críticos na expressão de proteínas transportadoras apicais e basolaterais dos rins. Apesar do alto grau de complexidade de se replicar uma estrutura glomerular, existem estudos capazes de reproduzir a barreira funcional de filtração glomerular *in vitro* através da co-cultura de podócitos e células endoteliais glomerulares (CHEN *et al.*, 2021).

Dispositivos *kidney-on-chip* podem incluir uma única ou múltiplas células dentro de uma microcâmara ou microcanais com ou sem fluxo contínuo, além de uma matriz extracelular para recapitular o microambiente tecidual. Adicionalmente os modelos *kidney-on-a-chip* incorporam a estimulação mecânica em uma variedade de abordagens, mediando passivamente a rigidez ou geometria do substrato e aplicando forças ativamente. A integração de sensores em dispositivos

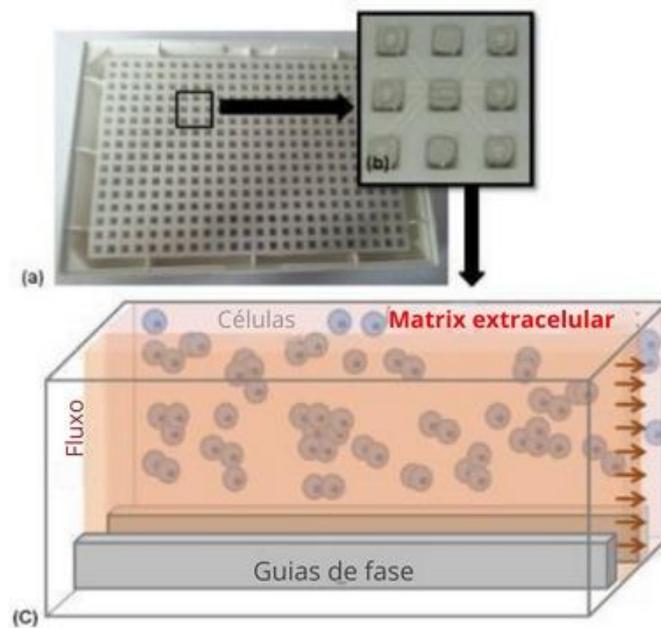
microfluídicos permite o monitoramento em tempo real da função celular, taxa de crescimento e integridade da monocamada celular (WANG; GUST; FERRELL, 2022).

4.5.4 Liver-on-a-chip

O fígado é o principal local onde ocorre o metabolismo de fármacos e xenobióticos e, portanto, a utilização de modelos para avaliação da função hepática é essencial para o desenvolvimento de medicamentos. Para isto, culturas celulares 2D têm sido amplamente adotadas por apresentarem baixo custo e facilidade de manipulação, servindo como técnica para seleção de vários fármacos. Entretanto, a ausência da complexidade da arquitetura do tecido hepático faz com que os modelos celulares 2D não respondam adequadamente aos fármacos e toxinas. Por outro lado, modelos *in vivo* são falhos em reconstruir mecanismos hepáticos humanos, devido às diferenças entre as vias metabólicas complexas do fígado (JANG *et al.*, 2015).

Para obtenção dos sistemas *liver-on-a-chip*, a Organoplate® (Mimetas) foi desenvolvida como plataforma para cultura de tecidos 3D. Estruturas semelhantes a esferóides de HepG2 incorporadas em Matrigel foram cultivadas usando o dispositivo OrganoPlate. Neste caso, a configuração selecionada foi constituída de três câmaras de cultura separadas por dois guias de fase e organizada em formato de placa de 356 poços para aumentar o rendimento experimental, conforme ilustrado na Figura 7 (onde (a) estrutura microfluídica está incorporada no fundo de placas de 364 poços, (b) cada câmara de cultura possui três pistas com entrada e saída, respectivamente e (c) modelo de cultura para células HepG2 em matriz extracelular separada do fluxo sem qualquer barreira física usando guias de fase). Para refletir a situação *in vivo* onde os hepatócitos foram expostos a um fluxo indireto sem barreiras físicas, os compartimentos de hidrogel foram semeados nas duas câmaras laterais e o meio foi perfundido ao longo do canal central. Boa viabilidade celular, maiores produções de albumina e ureia e maior atividade do CYP1A foram obtidas no sistema de perfusão 3D em comparação com a condição estática (JANG *et al.*, 2015).

Figura 7 — Representação esquemática do dispositivo microfluídico.



Fonte: Adaptado de JANG *et al.* (2015).

4.5.5 Lung-on-a-chip

O pulmão é um órgão essencial pelo qual muitos materiais provenientes do ambiente podem entrar no organismo, representando assim uma porta de entrada vital de toxinas, patógenos, fármacos e outras moléculas. A função do sistema respiratório apresenta uma enorme diversidade, tanto quanto em seu ambiente circundante como em sua estrutura. Cada unidade funcional alveolar é composta por diferentes tipos de células, sendo a barreira celular do epitélio pulmonar um dos primeiros obstáculos frente a entrada de moléculas e materiais particulados no nosso corpo. Modelos 3D têm sido desenvolvidos para avaliação da toxicidade destes materiais, mas não têm sido capazes de reproduzir as interfaces teciduais intrincadas e o microambientes dinâmicos dos pulmões. Neste sentido, modelos *lung-on-a-chip* têm sido desenvolvidos para mimetizar não somente a estrutura, mas também algumas das propriedades funcionais dos pulmões (ASHAMMAKHI *et al.*, 2019).

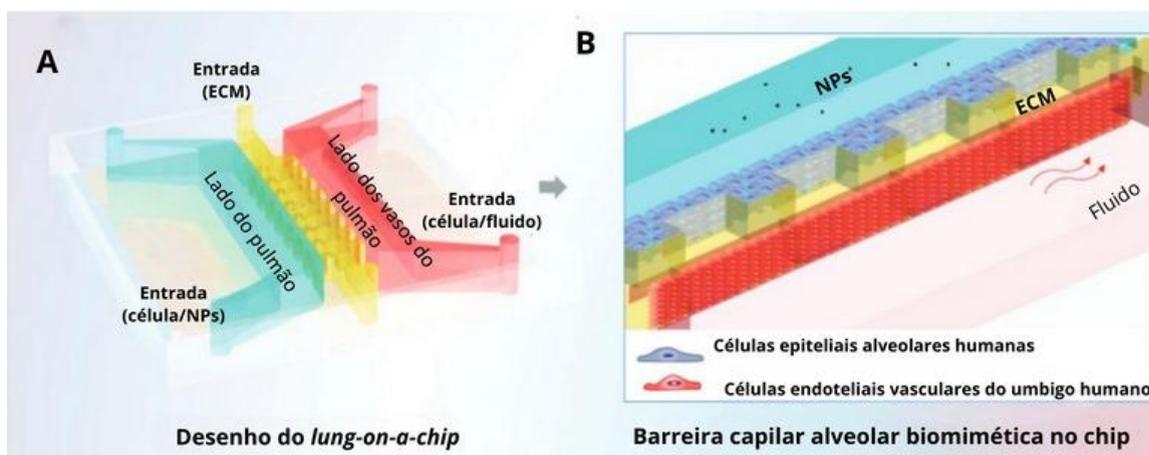
Vários fatores, incluindo comunicações célula-célula e matriz-célula, e sinais biofísicos, têm sido integrados na criação de modelos *lung-on-a-chip* para reproduzir a complexa fisiopatologia dos pulmões. Esses sistemas são normalmente constituído por um *chip* em forma de sanduíche com dois canais opostos, separados

por uma fina membrana polimérica porosa, que são revestidos com células epiteliais pulmonares humanas e células endoteliais vasculares humanas, em lados opostos. Entretanto, estes modelos têm sido incapazes de recriar as interações com a matriz extracelular que ocorrem *in vivo* (ZHANG *et al.*, 2018).

Para melhorar o desempenho destes dispositivos, Zhang *et al.* (2018) apresentaram um modelo *lung-on-a-chip* constituído de três canais paralelos, que foram semeados com células epiteliais alveolares, células endoteliais vasculares humanas e matriz extracelular.

A Figura 8 destaca a estrutura *lung-on-a-chip* onde B está ampliada e mostra a barreira alvéolo-capilar artificial no *chip*. Os canais flanqueadores são revestidos com células epiteliais alveolares humanas e células endoteliais vasculares, respectivamente, representando o lado pulmonar e o lado dos vasos sanguíneos da barreira capilar alveolar *in vivo*. Matrigel está localizado entre as células epiteliais e endoteliais, formando uma estrutura de barreira em camadas. As células endoteliais no canal do vaso experimentam fluxo fluídico para imitar o fluxo sanguíneo dinâmico no pulmão vivo (ZHANG *et al.*, 2018).

Figura 8 — Modelo *lung-on-a-chip* para testes de nanotoxicidade.



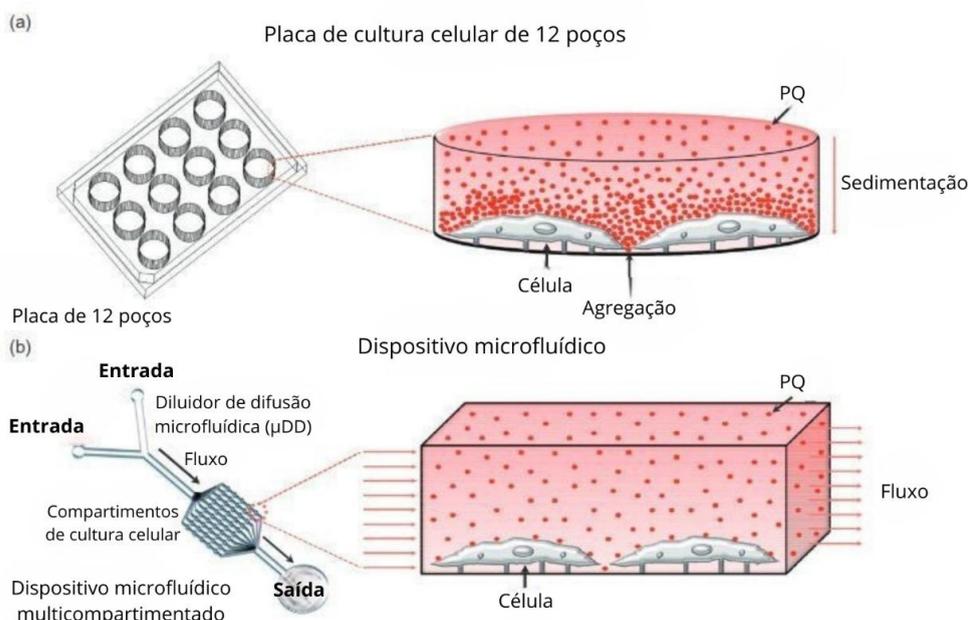
Fonte: Adaptado de ZHANG *et al.* (2018).

4.6 UTILIZAÇÃO DE MODELOS ORGAN-ON-A-CHIP NA AVALIAÇÃO DA NANOTOXICIDADE DOS NANOMATERIAIS

A avaliação do desempenho de nanopartículas em um contexto fisiológico integrado representa uma área de pesquisa de grande interesse e o emprego da

tecnologia *organ-on-a-chip* tem mostrado ser promissor na avaliação da liberação sítio-específica, eficácia terapêutica e efeitos adversos destes sistemas. De modo similar à avaliação da citotoxicidade de compostos moleculares, a avaliação da toxicidade dos nanomateriais é geralmente realizada por incubação em cultura de células em placas usando pipetas. Desta maneira, as células estão expostas aos nanomateriais em condições estáticas, a qual pode levar à adsorção ou sedimentação nas superfícies das células pela ação da gravidade. Considerando que o fluxo dos nanomateriais sobre a superfície das células pode levar à alterações na permeabilidade celular e captura das nanopartículas em condições *in vivo*, o uso de cultura de células estática pode resultar na inexatidão nos valores de viabilidade celular (McCORMICK *et al.*, 2017). Uma revisão realizada por Mahto *et al.* (2014) traz importantes questionamentos sobre o uso de culturas de células estáticas na avaliação da nanotoxicidade e descreve a capacidade dos dispositivos microfluídicos em estabelecer condições de fluxo sobre as células, mantendo homogênea a distribuição das partículas e evitando a sua sedimentação. A Figura 9 demonstra um diagrama esquemático que mostra o conceito de cinética de nanopartículas em um meio de cultura. O item (a) demonstra a exposição de células em uma plataforma de cultura tradicional (ou seja, condição de exposição estática), as nanopartículas (por exemplo, pontos quânticos) no meio de cultura tendem a assentar e aglomerar dependendo das propriedades das partículas (por exemplo, tamanho, forma, carga e densidade) e do meio circundante, o que pode afetar significativamente a estabilidade físico-química das nanopartículas e da dose celular (MAHTO *et al.*, 2014). No item (b) o esquema ilustra a capacidade de um dispositivo microfluídico em estabelecer condições de exposição ao fluxo, mantendo a distribuição homogênea das nanopartículas e evitando sua sedimentação no meio de cultura (MAHTO *et al.*, 2014).

Figura 9 — Plataforma tradicional de nanotoxicologia.



Fonte: Adaptado de Mahto *et al.* (2014).

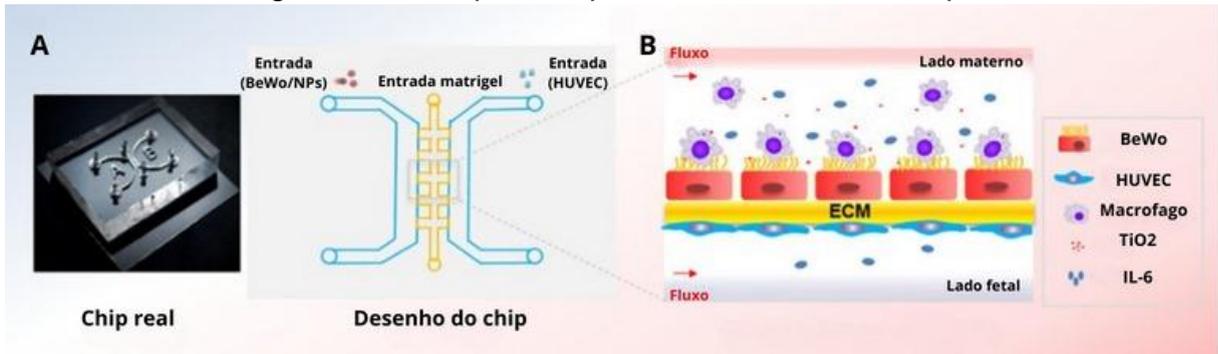
Mesmo considerando a potencial aplicação dos modelos *organ-on-a-chip* na avaliação da toxicidade de nanomateriais, poucos artigos foram encontrados na literatura científica. Fede *et al.* (2015) avaliaram a captura e toxicidade de nanopartículas de ouro (AuNP) frente a células endoteliais HUVEC *in vitro*, submetidas à advecção e ao cisalhamento, visto que estes processos estão frequentemente presentes na administração intravenosa de dispersões coloidais. Os autores compararam os resultados obtidos com o dispositivo microfluídico com os relatados utilizando condições estáticas de cultura de células. Neste estudo, os autores evidenciaram a importância da interação nanopartícula-célula na avaliação da toxicidade. Em suma, a avaliação sob condições de fluxo nos dispositivos microfluídicos, usando a mesma concentração de partículas de ouro, resultou na menor sedimentação de aglomerados de nanopartículas, gerando uma toxicidade cerca de 20% menor, quando comparado ao método estático de cultura de células (FEDE *et al.*, 2015).

Zhang *et al.* (2018) avaliaram a toxicidade pulmonar de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) e óxido de titânio (TiO₂) em modelo de *lung-on-a-chip* (ver item 4.5.5). Neste estudo foi avaliado o efeito da exposição às nanopartículas sobre a permeabilidade alvéolo-capilar e geração de espécies reativas de oxigênio. Os resultados mostraram que o TiO₂ aumenta significativamente a permeabilidade

somente na maior concentração testada, enquanto o ZnO alterou a permeabilidade em todas as concentrações avaliadas. Esses resultados indicam que a permeabilidade da barreira alvéolo-capilar no modelo *lung-on-a-chip* varia de acordo com a concentração e o tipo de nanopartículas. Adicionalmente, a exposição às nanopartículas de TiO₂ levou a um aumento dose-dependente na geração de EROs pelas células epiteliais, mas não teve um impacto significativo na geração de EROs pelas células endoteliais. Por outro lado, a exposição às nanopartículas de ZnO resultou em um aumento dependente da dose, na geração de espécies reativas de oxigênio, tanto nas células epiteliais, quanto nas células endoteliais. Estes resultados foram consistentes com as mudanças na permeabilidade observadas em resposta à exposição a diferentes concentrações de nanopartículas. Assim, comparativamente, as nanopartículas de ZnO foram consideradas mais tóxicas, devido à liberação de íons de Zinco (Zn²⁺) após a exposição ao ZnO. O Zn²⁺ conseguiu penetrar na barreira epitelial e na membrana de Matrigel, interagindo com as camadas das células endoteliais e, conseqüentemente, aumentando a geração de espécies reativas de oxigênio (ZHANG *et al.*, 2018).

Yin *et al.* (2019) desenvolveram um dispositivo 3D para avaliação do efeito da exposição às nanopartículas sobre a permeabilidade da barreira placentária. O microdispositivo foi criado de modo a simular as condições micro ambientais dinâmicas na circulação materno-fetal combinado com uma matriz extracelular e fluxo (Figura 10). A toxicidade de nanopartículas de TiO₂ foram avaliadas neste estudo, sendo observado o aumento da geração de espécies reativas de oxigênio nos trofoblastos e nas células endoteliais, após o contato com nanopartículas em concentrações mais elevadas. Além disso, as nanopartículas de TiO₂ se difundiram na matriz extracelular, sugerindo o possível contato com células endoteliais no lado fetal. Na avaliação da integridade da barreira placentária foi observado que a exposição às nanopartículas conduziu à morte celular, o que pode potencialmente resultar na sua ruptura. Assim, os resultados indicaram que as nanopartículas de TiO₂ podem atravessar a barreira placentária e causar danos, sugerindo potenciais efeitos adversos frente à exposição às nanopartículas durante a gravidez (YIN *et al.*, 2019).

Figura 10 — Dispositivo *placental barrier-on-a-chip*.



Fonte: Adaptado de YIN *et al.* (2019).

5 CONCLUSÃO

Após tudo o que foi abordado com relação aos nanomateriais e sua aplicação na medicina, observa-se a importância da avaliação das interações destes com os componentes do meio biológico e dos seus efeitos provocados *in vivo*.

A complexa interação dos nanomateriais com o meio biológico, podem ser afetadas por uma série de fatores, entre eles, o tamanho das partículas, sua forma e morfologia. Influenciando assim na absorção, distribuição, eliminação e também na capacidade de ligação das células com os tecidos específicos, dificultando muito essa relação. A forma como os nanomateriais entram no organismo, seja por inalação, ingestão ou injeção, também impactam neste contexto, de forma em que o tempo de exposição aos nanomateriais, o estado de saúde do indivíduo e fatores genéticos tensionalizam para a complexidade das interações.

A utilização de métodos alternativos para avaliação da toxicidade dos nanomateriais é crucial devido a essas razões. Primeiramente, esses métodos, como o modelo *organ-on-a-chip*, proporcionam uma abordagem ética ao reduzir a necessidade de testes em animais, respondendo a preocupações morais associadas à pesquisa. Também têm o potencial de reproduzir de maneira mais precisa ambientes fisiológicos humanos em comparação com métodos tradicionais, tornando os resultados mais relevantes para a fisiologia humana.

Esses métodos avançados não apenas fornecem uma avaliação precisa da toxicidade, mas também contribuem para um entendimento mais profundo dos mecanismos subjacentes aos efeitos tóxicos dos nanomateriais. Isso é essencial para o desenvolvimento responsável e seguro da nanotecnologia em diversas aplicações, especialmente na medicina, além também de ajudarem a reduzir incertezas associadas às respostas biológicas, permitindo uma avaliação mais precisa da toxicidade.

Os dispositivos microfluídicos oferecem uma abordagem valiosa, são projetados para replicar ambientes biológicos complexos de maneira mais precisa do que os métodos convencionais, permitindo a criação de modelos *in vitro* mais sofisticados que imitam a arquitetura tridimensional de órgãos e reproduzem aspectos importantes, como interfaces tecido-tecido, microambientes mecânicos e bioquímicos. Ao incorporar células vivas em microcanais poliméricos transparentes, os dispositivos microfluídicos oferecem a oportunidade de estudar a interação dos

nanomateriais com células e tecidos em condições mais próximas da realidade. Esses modelos *in vitro* avançados podem fornecer *insights* cruciais sobre os efeitos dos nanomateriais no nível celular e tissular, ajudando na compreensão dos mecanismos de nanotoxicidade.

O futuro da aplicação desses dispositivos, como os *organ-on-a-chip*, é promissor e abrangente. Esses avançados modelos *in vitro* têm o potencial de revolucionar a pesquisa biomédica e toxicológica. Prevê-se que esses dispositivos desempenhem um papel crucial no desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e seguros, permitindo a avaliação de fármacos em condições mais próximas do ambiente biológico real. Além disso, sua aplicação na pesquisa de nanotoxicologia será fundamental para entender os riscos associados aos nanomateriais e garantir sua segurança em diversas aplicações.

No entanto podemos dizer que o uso pleno dessa tecnologia para avaliar a nanotoxicidade, ainda está em seus dias iniciais. Pouco foi encontrado na literatura que de fato relaciona-se o uso dos dispositivos microfisiológicos para o estudo de efeitos tóxicos dos nanomateriais, fato esse que se explica pelo alto custo para o desenvolvimento de um dispositivo funcional, e também da dificuldade de se mimetizar as complexas interações dos meios biológicos.

À medida que a tecnologia desses dispositivos avança, espera-se que eles se tornem ferramentas padrão na pesquisa pré-clínica, proporcionando uma transição mais suave da descoberta à aplicação clínica. Isso pode acelerar significativamente o desenvolvimento de tratamentos personalizados e contribuir para uma abordagem mais precisa e eficaz na compreensão dos efeitos de agentes terapêuticos e tóxicos no corpo humano.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia n° 63/2023 – Versão 1 Avaliação de Segurança Biológica de Materiais de Uso em Saúde de Base Nanotecnológica. Brasília: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/educacaoepesquisa/webinar/produtos/produtos>. Acesso em: 04 dez. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 751, de 15 de Setembro de 2022. Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de notificação e de registro, e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de dispositivos médicos. Brasília: ANVISA, 2022. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5672055/RDC_751_2022_.pdf/37b2d641-82ec-4e64-bb07-4fc871936735. Acesso em: 13 nov. 2023.
- AKÇAN, Ramazan *et al.* Nanotoxicity: a challenge for future medicine. **Turkish Journal of Medical Sciences**, [S.l.], v. 50, n. 4, p. 1180-1196, June 2020. Disponível em: <https://journals.tubitak.gov.tr/medical/vol50/iss4/69/>. Acesso em: 16 abr. 2023.
- ALBALAWI, Fahad *et al.* Engineered Nanomaterials: the challenges and opportunities for nanomedicines. **International Journal of Nanomedicine**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 161-184, Jan. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33447033/>. Acesso em: 29 ago. 2023.
- ALGHAMDI, Maha Ali *et al.* The Promise of Nanotechnology in Personalized Medicine. **Journal of Personalized Medicine**, [S.l.], v. 12, n. 5, p. 673-709, Apr. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35629095/>. Acesso em: 18 out. 2023.
- ALLAN, Jacqueline *et al.* Regulatory landscape of nanotechnology and nanoplastics from a global perspective. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [S.l.], v. 122, n. 1, p. 104885-104903, June 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230021000258?via%3Dihub>. Acesso em: 29 ago. 2023.
- ARORA, Sumit; RAJWADE, Jyutika M.; PAKNIKAR, Kishore M. Nanotoxicology and *in vitro* studies: the need of the hour. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.l.], v. 258, n. 2, p. 151-165, Jan. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X11004467?via%3Dihub>. Acesso em: 09 jun. 2023.
- ASHAMMAKHI, Nureddin *et al.* Microphysiological Systems: next generation systems for assessing toxicity and therapeutic effects of nanomaterials. **Small Methods**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 89-124, Nov. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33043130/>. Acesso em: 17 out. 2023.
- BACANLI, Merve; BASARAN, Nursen. Nanotoxicology - New Research Area in Toxicology. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**. [S.l.], p. 231-240. Apr. 2014. Disponível em:

<http://www.turkjps.org/archives/archive-detail/article-preview/nanotoxicology---new-research-area-in-toxicology/12357>. Acesso em: 15 nov. 2023.

BAJAJ, Piyush *et al.* Emerging Kidney Models to Investigate Metabolism, Transport, and Toxicity of Drugs and Xenobiotics. **Drug Metabolism and Disposition**, [S.l.], v. 46, n. 11, p. 1692-1702, Aug. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30076203/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

BARHOUM, Ahmed *et al.* Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: history, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. **Nanomaterials**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 177-225, Jan. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35055196/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

BASAVARAJ, Kh. Nanotechnology in medicine and relevance to dermatology: present concepts. **Indian Journal of Dermatology**, [S.l.], v. 57, n. 3, p. 169-174, June 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3371517/>. Acesso em: 22 ago. 2023.

BAYDA, Samer *et al.* The History of Nanoscience and Nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. **Molecules**, [S.l.], v. 25, n. 1, p. 112-117, Dec. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/1/112>. Acesso em: 31 maio 2023.

BHATIA, Sangeeta N; INGBER, Donald E. Microfluidic organs-on-chips. **Nature Biotechnology**, [S.l.], v. 32, n. 8, p. 760-772, Aug. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25093883/>. Acesso em: 08 maio 2023.

BOVERHOF, Darrell R. *et al.* Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [S.l.], v. 73, n. 1, p. 137-150, Oct. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230015001488?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jun. 2023.

CHEN, Wei-Yang *et al.* Kidney Organoid and Microphysiological Kidney Chip Models to Accelerate Drug Development and Reduce Animal Testing. **Frontiers in Pharmacology**, [S.l.], v. 12, n. 6, p. 89-96, July 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34381363/>. Acesso em: 18 out. 2023.

CHOI, Jin-Ha *et al.* Priming nanoparticle-guided diagnostics and therapeutics towards human organs-on-chips microphysiological system. **Nano Convergence**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 24-34, Oct. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28191434/>. Acesso em: 17 out. 2023.

DOMB, Abraham J. *et al.* Safety Evaluation of Nanotechnology Products. **Pharmaceutics**, [S.l.], v. 13, n. 10, p. 1615-1662, Oct. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/10/1615>. Acesso em: 05 jun. 2023.

DUGERSHAW, Battuja Batbajar *et al.* Recent insights on indirect mechanisms in developmental toxicity of nanomaterials. **Particle and Fibre Toxicology**, [S.l.], v. 17,

n. 1, p. 31-53, July. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32653006/>. Acesso em: 04 dez. 2023.

EL-KADY, Maha M. *et al.* Nanomaterials: a comprehensive review of applications, toxicity, impact, and fate to environment. **Journal of Molecular Liquids**, [S.l.], v. 370, p. 121046-121064, Jan. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167732222025855?via%3Di> hub. Acesso em: 01 jun. 2023.

ESCH, Eric W.; BAHINSKI, Anthony; HUH, Dongeun. Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S.l.], v. 14, n. 4, p. 248-260, Mar. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25792263/>. Acesso em: 05 maio 2023.

FARJADIAN, Fatemeh *et al.* Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. **Nanomedicine**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 93-126, Jan. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30451076/>. Acesso em: 29 ago. 2023.

FEDE, Caterina *et al.* Evaluation of gold nanoparticles toxicity towards human endothelial cells under static and flow conditions. **Microvascular Research**, [S.l.], v. 97, n. 2, p. 147-155, Jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002628621400168X>. Acesso em: 17 nov. 2023.

FERRARI, Erika; RASPONI, Marco. Liver–Heart on chip models for drug safety. **Bioengineering**, [S.l.], v. 5, n. 3, p. 31-44, July 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34286172/>. Acesso em: 18 out. 2023.

FOOD & DRUG ADMINISTRATION. Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials - Guidance for Industry. Apr. 2022. 29p. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/guidance-compliance-regulatory-information/guidances-drugs>. Acesso em: 10 jun. 2023.

FOREST, Valérie. Experimental and Computational Nanotoxicology—Complementary Approaches for Nanomaterial Hazard Assessment. **Nanomaterials**, [S.l.], v. 12, n. 8, p. 1346-1372, Apr. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/12/8/1346>. Acesso em: 05 jun. 2023.

FOULKES, Rachel *et al.* The regulation of nanomaterials and nanomedicines for clinical application: current and future perspectives. **Biomaterials Science**, [S.l.], v. 8, n. 17, p. 4653-4664, Sept. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32672255/>. Acesso em: 29 ago. 2023.

HALEEM, Abid *et al.* Applications of nanotechnology in medical field: a brief review. **Global Health Journal**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 70-77, June 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2414644723000337>. Acesso em: 15 nov. 2023.

HARISH, Vancha et al. Nanoparticle and Nanostructure Synthesis and Controlled Growth Methods. **Nanomaterials**, [S.l.], v. 12, n. 18, p. 3226-3256, Sept. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36145012/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

HILLEGASS, Jedd M. *et al.* Assessing nanotoxicity in cells *in vitro*. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, [S.l.], v. 2, n. 3, p. 219-231, Apr. 2010. Wiley.. Disponível em: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wnan.54>. Acesso em: 05 jun. 2023.

HUPFFER, Haide Maria; LAZZARETTI, Luisa Lauermann. NANOTECNOLOGIA E SUA REGULAMENTAÇÃO NO BRASIL. **Revista Gestão e Desenvolvimento**, [S.l.], v. 16, n. 3, p. 153-178, Set. 2019. Disponível em: <https://periodicos.feevale.br/seer/index.php/revistagestaoedesenvolvimento/article/view/1792>. Acesso em: 29 ago. 2023.

JANG, Mi *et al.* On-chip three-dimensional cell culture in phaseguides improves hepatocyte functions *in vitro*. **Biomicrofluidics**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 113-125, May. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26180570/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

JHA, Rakhi K. *et al.* An emerging interface between life science and nanotechnology: present status and prospects of reproductive healthcare aided by nano-biotechnology. **Nano Reviews**, [S.l.], v. 5, n. 1, p. 22762-22781, Jan. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24600516/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

JOUDEH, Nadeem; LINKE, Dirk. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. **Journal of Nanobiotechnology**, [S.l.], v. 20, n. 1, p. 262-291, June 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35672712/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

KANG, Shawn; PARK, Sunghee Estelle; HUH, Dan Dongeun. Organ-on-a-chip technology for nanoparticle research. **Nano Convergence**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 405-421, July 2021. Disponível em: <https://nanoconvergencejournal.springeropen.com/articles/10.1186/s40580-021-00270-x>. Acesso em: 06 jun. 2023.

KHALID, Khalisanni *et al.* Advanced in developmental organic and inorganic nanomaterial: a review. **Bioengineered**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 328-355, Jan. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32138595/>. Acesso em: 04 dez. 2023.

KHAN, Ibrahim; SAEED, Khalid; KHAN, Idress. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, [S.l.], v. 12, n. 7, p. 908-931, Nov. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535217300990>. Acesso em: 01 jun. 2023.

KHANNA, Puja *et al.* Nanotoxicity: an interplay of oxidative stress, inflammation and cell death. **Nanomaterials**, [S.l.], v. 5, n. 3, p. 1163-1180, June 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28347058/>. Acesso em: 05 jun. 2023.

KOLAHALAM, Lalitha A. *et al.* Review on nanomaterials: Synthesis and applications. **Materials Today: Proceedings**, [S.l.], v. 18, n. 6, p. 2182-2190, May. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214785319325507>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MAHTO, Sanjeev Kumar *et al.* Microfluidic platforms for advanced risk assessments of nanomaterials. **Nanotoxicology**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 381-395, July 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/17435390.2014.940402>. Acesso em: 17 nov. 2023.

MCCORMICK, Scott *et al.* The Use of Microfluidics in Cytotoxicity and Nanotoxicity Experiments. **Micromachines**, [S.l.], v. 8, n. 4, p. 124-142, Apr. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6190054/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

MITRAGOTRI, Samir; STAYTON, Patrick. Organic nanoparticles for drug delivery and imaging. **Mrs Bulletin**, [S.l.], v. 39, n. 3, p. 219-223, Mar. 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1557/mrs.2014.11>. Acesso em: 15 nov. 2023.

MULVANEY, Paul. Nanoscience vs Nanotechnology—Defining the Field. **Nano**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 2215-2217, Mar. 2015. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.5b01418>. Acesso em: 10 jun. 2023.

NGO, Wayne *et al.* Why nanoparticles prefer liver macrophage cell uptake in vivo. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], v. 185, n. 1, p. 114238-114250, June. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X22001284?via%3Dihub>. Acesso em: 03 dez. 2023.

PARAS *et al.* A Review on Low-Dimensional Nanomaterials: nanofabrication, characterization and applications. **Nanomaterials**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 160-204, Dec. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36616070/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

RISUEÑO, I. *et al.* Skin-on-a-chip models: general overview and future perspectives. **Bioengineering**, [S.l.], v. 5, n. 3, p. 901-913, July 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8270645/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

SANFELICE, Rafaela Cristina; PAVINATTO, Adriana; CORRÊA, Daniel Souza. Introdução à Nanotecnologia. **Nanotecnologia Aplicada A Polímeros**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 27-48, Nov. 2022. Disponível em: <https://openaccess.blucher.com.br/article-list/9786555502527-586/list#undefined>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SHUBHA, A.; MANOHARA, S. R.; SUBHRANSHU, S. S. Nanomaterials: Types of Nanomaterials and Their Fundamental Physicochemical Properties. *In*: BETHLEM, N. **Nanotoxicology**: Toxicity Evaluation of Nanomedicine Applications. 1. ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, 2022. cap. 1, p. 22-41. Acesso em: 28 ago. 2023.

SOARES, Sara *et al.* Nanomedicine: Principles, Properties, and Regulatory Issues. **Frontiers in Chemistry**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 360-375, 20 Aug. 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2018.00360/full>. Acesso em: 31 maio 2023.

SUN, Michael; GUPTA, Anirban Sen. Vascular Nanomedicine: Current Status, Opportunities, and Challenges. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, [S.l.], v. 46, n. 05, p. 524-544, June 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31200393/>. Acesso em: 01 jun. 2023.

TAKA, Anny Leudjo *et al.* A Review on Conventional and Advanced Methods for Nanotoxicology Evaluation of Engineered Nanomaterials. **Molecules**, [S.l.], v. 21, n. 26, p. 6536-6555, Apr. 2010. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/21/6536>. Acesso em: 05 jun. 2023.

USKOKOVIĆ, Vuk. Entering the Era of Nanoscience: time to be so small. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, [S.l.], v. 9, n. 9, p. 1441-1470, 1 Jan. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23980495/>. Acesso em: 31 maio 2023.

VAN TEUNENBROEK, Tom; BAKER, James; DIJKZEUL, Aart. Towards a more effective and efficient governance and regulation of nanomaterials. **Particle and Fibre Toxicology**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 54-59, Dec. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29258600/>. Acesso em: 29 ago. 2023.

WANG, Dan; GUST, Matthew; FERRELL, Nicholas. Kidney-on-a-Chip: mechanical stimulation and sensor integration. **Sensors**, [S.l.], v. 22, n. 18, p. 6889-6906, Sept. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36146238/>. Acesso em: 18 out. 2023.

YIN, Fangchao *et al.* A 3D human placenta-on-a-chip model to probe nanoparticle exposure at the placental barrier. **Toxicology in Vitro**, [S.l.], v. 54, n. 14, p. 105-113, Feb. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233318302261?via%3Dihub>. Acesso em: 18 out. 2023.

ZDROJEWICZ, Zygmunt *et al.* Medical applications of nanotechnology. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, [S.l.], v. 69, n. 1, p. 1196-1204, Oct. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26561846/>. Acesso em: 22 ago. 2023.

ZHANG, Min *et al.* A 3D human lung-on-a-chip model for nanotoxicity testing. **Toxicology Research**, [S.l.], v. 7, n. 6, p. 1048-1060, Nov. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30510678/>. Acesso em: 18 out. 2023.

ZOIO, Patrícia; OLIVA, Abel. Skin-on-a-Chip Technology: microengineering physiologically relevant *in vitro* skin models. **Pharmaceutics**, [S.l.], v. 14, n. 3, p.

682-712, Mar. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/14/3/682>.
Acesso em: 16 nov. 2023.