

## **Desenvolvimento de estratégia terapêutica para o câncer baseada em sistema nanoestruturado e luz**

- **Programa 7 - MATERIAIS E NANOTECNOLOGIA**

Atividade 750 - Nanomateriais

- **Programa 2 - APLICAÇÕES DAS RADIAÇÕES IONIZANTES**

Atividade 230 - Fontes Radioativas e Aplicações das Radiações na Saúde

- **Programa 9 - TECNOLOGIA LASERS**

Atividade 920 - Aplicações de Lasers

### **QUALIFICAÇÃO DO PRINCIPAL PROBLEMA A SER ABORDADO**

De acordo com a Sociedade Americana de Câncer, uma em cada sete mortes em todo mundo são causadas pelo câncer, representando mais que a AIDS, tuberculose e malária somadas. A Agência Internacional de Pesquisa de Câncer (IARC) contabilizou em 2012 um total de 14,1 milhões de novos casos de câncer e 8,2 milhões de mortes. Para o ano de 2030, a IARC estima 21,7 milhões de novos casos, 13,2 milhões de mortes por câncer e 73 milhões de pessoas vivas com a doença. [1]

Câncer é o nome dado a um grupo de doenças que se caracterizam pela reprodução desenfreada de células anômalas prejudicando o correto funcionamento do organismo. Com o avanço da tecnologia e da medicina, os diagnósticos são realizados precocemente possibilitando a descoberta da doença nos estágios iniciais. Isso resulta em uma demanda de tratamentos menos invasivos e de eficácia igual ou superior aos tratamentos clássicos, como a cirurgia, radioterapia e quimioterapia. [1, 2]

A braquiterapia é a modalidade da radioterapia em que a fonte de radiação é colocada próxima ou em contato com a região a ser tratada. A dose é liberada continuamente, durante um curto período de tempo (implantes temporários) ou durante todo o decaimento da fonte (implantes permanentes). [3] Esse tipo de tratamento é considerado menos invasivo, pois focaliza os

efeitos da radiação diretamente no alvo desejado. Como os tecidos saudáveis são poupados, menos efeitos colaterais são observados. [4] A técnica já é empregada no tratamento de câncer desde o início do século 20.

Nanotecnologia é a ciência que aborda as propriedades especiais dos materiais de tamanho nanométrico. O principal objetivo é criar novos materiais, novos produtos e processos a partir da manipulação de átomos e moléculas. [5-7]

O uso da nanotecnologia se dá na escala nanométrica, unidade equivalente a um bilionésimo de metro. Para se produzir partículas deste tamanho diminuto são necessários uma equipe multidisciplinar e laboratórios com equipamentos de alta precisão. [6] Estruturas configuradas no tamanho nanométrico diferem na forma física, química e no comportamento biológico quando comparadas com suas estruturas maiores. Por exemplo, propriedades como a fluorescência, ponto de fusão, condutividade elétrica, permeabilidade magnética e reatividade química são dependentes do tamanho da partícula. [8, 9]

Um bom exemplo são as nanopartículas de ouro (AuNP). Elas não têm a cor amarela podendo aparecer vermelha ou roxa. Em nanoescala, o movimento dos elétrons do ouro está confinado. Isto restringe o movimento, fazendo as AuNPs reagirem de forma diferente com a luz, resultando na diferença de cor. Talvez o resultado mais importante dos efeitos quânticos em nanoescala é o conceito de *tunability* (ajuste fino) das propriedades. Isso significa que um pesquisador pode alterar as propriedades para servir uma determinada proposta. Por exemplo, a mudança da cor de fluorescência de uma partícula pode ser utilizada para identificar as doenças. [9]

Além disso, o fato de que a maioria dos processos biológicos ocorre na escala nano dá aos cientistas modelos para imaginar e construir novos processos que podem aperfeiçoar pesquisas na medicina, tratamento de imagens, computação, impressão, catálise química, síntese de materiais, entre outros. [8] A quimioterapia, entrega de fármacos e radioterapia, por exemplo, poderão ser guiadas diretamente para o alvo, diminuindo a toxicidade, efeitos colaterais e dosagens. Particularmente as nanopartículas (NPs) metálicas,

menores que 50 nm, podem ser confeccionadas em diferentes formatos. O formato e tamanho da NP define sua banda de absorção. Podem carregar nucleotídeos, anticorpos, proteínas e átomos radioativos para tratamento. São principalmente utilizadas para terapia genética e do câncer. [10, 11]

Por outro lado, a utilização da luz na prática clínica vem gerando grande interesse devido à tendência mundial de procurar formas menos invasivas de tratamentos. Mais especificamente, a terapia com luz de baixa potência (TLBP) tem sido utilizada como modalidade terapêutica em uma variedade de condições patológicas, que incluem a modulação do processo inflamatório, redução de dor em quadros algícos e aceleração do processo de reparação tecidual. [12-15] Neste caso, são utilizados lasers e/ou diodos emissores de luz (LEDs) com comprimentos de onda entre 600 nm e 1000 nm, visto que estes comprimentos de onda têm pouca absorção pela água e sangue, e, portanto, conseguem penetrar mais profundamente no tecido biológico.

Recentemente, verificou-se que a TLBP desencadeia diferentes respostas quando aplicada a células normais e tumorais que foram expostas à radiação ionizante (RI). Em fibroblastos, observou-se que a TLBP induziu proliferação, enquanto que para células de tumor de mama, a TLBP levou à senescência. Além disso, a TLBP *per se* não alterou a viabilidade de células tumorais, independente da dose de energia utilizada. [16] Em um modelo *in vivo* de melanoma murino, observou-se que a TLBP atrasou a progressão do tumor e aumentou a sobrevivência do animal [17].

Neste contexto, esta proposta interdisciplinar reúne pesquisadores com *expertise* para enfrentar os problemas desafiadores do tratamento do câncer. A equipe do CTR é reconhecida por seus esforços na produção de fontes para braquiterapia; a equipe do CLA tem competência no estudo da interação não térmica da luz com o sistema biológico; a equipe do CB tem liderança na caracterização do efeito biológico e/ou citotóxico de biomoléculas e radiobiologia; e a equipe do CR vem acumulando, ao longo dos anos, conhecimento na funcionalização e/ou radiomarcagem de NPs para fins diagnósticos e/ou terapêuticos na área de oncologia.

## OBJETIVOS

O objetivo principal desta proposta é estabelecer uma parceria intercentros do Ipen que ofereça grandes avanços para o tratamento do câncer. Isso será alcançado reunindo uma equipe multidisciplinar de físicos e biólogos com a experiência necessária para desenvolver e testar essa nova abordagem terapêutica. Uniremos as vantagens do tratamento de câncer com braquiterapia com o tamanho diminuto das NPs para criar uma modalidade de tratamento inovadora, a nanobraquiterapia. Além disso, associaremos a TLBP para investigar se há sinergia entre ambas as modalidades terapêuticas. As seguintes etapas serão cumpridas neste trabalho:

- Síntese e caracterização de AuNPs radioativa e não-radioativa;
- Funcionalização das nanopartículas para direcionamento ao tumor;
- Ensaio de citotoxicidade *in vitro*;
- Ensaio em modelo animal de tumor de próstata e tumor de mama;
- Associação da TLBP à nanobraquiterapia *in vivo*.

---

**CENTROS PARTICIPANTES DA PROPOSTA**

**Coordenadora:** Maria Elisa Chuery Martins Rostelato

**Centro de Tecnologia das Radiações – CTR**

Maria Elisa Chuery Martins Rostelato

Carlos Alberto Zeituni

**Centro de Lasers e Aplicações – CLA**

Martha Simões Ribeiro

**Centro de Radiofarmácia – CR**

Emerson Soares Bernardes

Efraim Araujo Perini

**Centro de Biotecnologia - CB**

Patrick Jack Spencer

Daniel Perez Vieira

## METODOLOGIA

### ***Desenvolvimento e caracterização de AuNPs***

Trabalhos na literatura apresentam o desenvolvimento de NPs para os mais diferentes usos. A ideia de se usar um núcleo radioativo com tamanho nano é extremamente inovadora e apresenta enormes desafios.

A escolha do radionuclídeo depende da radiobiologia do câncer e da dose depositada no tecido que leva em conta o tipo do decaimento, energia e tempo de meia-vida (que influenciam na dose depositada por tempo de duração do radioisótopo). Para este trabalho será utilizado o Au-198. Outros isótopos serão investigados em trabalhos futuros.

Ao se manipular reagentes radioativos diversos cuidados devem ser tomados. O primeiro passo será a determinação dos procedimentos de segurança baseados nas características químicas dos radioisótopos. Após o levantamento das propriedades químicas, o local de trabalho deve ser preparado levando em conta a atividade radioativa que será utilizada. Cálculos que estipulem a dose radioativa que será recebida pelo pesquisador devem respeitar os limites da norma CNEN NN 3.01 de 20 mSv de dose máxima/ano. [18] Encontram-se disponíveis no CTR uma *hot cell* de chumbo com telemanipuladores e *glove box* com fluxo de ar controlados. Câmaras de ionização e detectores de radiação de monitoramento também estão disponíveis.

Como todo o trabalho com materiais radiativos "abertos" (não selados) gera a formação de rejeitos radioativos, um plano de gerenciamento que inclui identificação, processamento, isolamento em local designado será implantado. Os limites de descarte devem seguir a norma NN 8.01 da CNEN. [19] O laboratório de produção de fontes radioativas do CTR/IPEN conta com mais de 20 anos de operação e respeito aos padrões de segurança além de possuir uma equipe multidisciplinar capacitada e equipamentos de medição necessários.

Primeiramente, ouro puro 99,99% será dissolvido com água régia e concentrado e lavado com HCl formando o ácido cloroáurico,  $\text{HAuCl}_4$ . Estados

de oxidação comuns de ouro incluem  $Au^{+1}$ ,  $Au^{+3}$  e o seu estado não-oxidado  $Au^0$ . O  $Au^0$  é o estado final desejável para as NPs. Assim, o principal passo é redução do  $Au^{+1}$  ou  $Au^{+3}$  para  $Au^0$  por adição de doador de elétrons (agente redutor) na reação. Uma nova reação de síntese de NPs investigando agentes redutores não-tóxicos, como o ácido ascórbico e o citrato de sódio será desenvolvida. Com essa rota estabelecida e otimizada, os procedimentos para ativação poderão se iniciar. O reator nuclear ativará o ouro transformando-o em um emissor beta, Au-198.

Testes de estabilidade realizados com fluidos considerados de importância biológica serão realizados. Eles são: solução de 10% NaCl, 0,5% cisteína, 0,2 M histidina e diversos valores de pH. Isso permitirá a avaliação da estabilidade das NPs. Caso a partícula se decomponha, um agente de revestimento será utilizado de modo que a superfície das NPs fique estável. Nesse trabalho, o polietileno glicol, o ácido dimercaptosuccínico, a goma arábica e o tetraoctilamônio de bromo serão avaliados como potenciais agentes de revestimento. Além disso, as nanopartículas serão funcionalizadas através do revestimento com ligantes para direcionamento tumor-específico. [20-22] Os testes de estabilidade serão repetidos para a NP revestida.

A NP sintetizada será caracterizada na sua forma não radioativa, antes e depois do revestimento pelas seguintes técnicas:

- DLS – Espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta;
- MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão;
- Espectroscopia UV-Vis;
- XPS- Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X.

#### ***Testes de toxicidade in vitro***

- *Viabilidade celular*

Células da linhagem PC3 (tumor de próstata humana) e 4T1 (mama murina) serão plaqueadas na concentração de  $5 \times 10^4$ /poço. A seguir serão

adicionadas as nanopartículas diluídas em meio de cultura. Após incubação em diferentes tempos (24, 48 e 72 horas), a viabilidade celular será quantificada por meio do ensaio de MTS 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium. Este composto é metabolizado nas mitocôndrias pelas células viáveis formando um derivado solúvel de formazan. O MTS será adicionado em concentração de 5 mg/mL, sendo 100 µl/poço, e será realizado um novo período de incubação por mais 3 horas nas mesmas condições anteriores. A seguir, procederemos à leitura da placa em um leitor de ELISA em comprimento de onda de 540 nm. Células L-929 (fibroblastos murinos, não tumorais) serão utilizadas como controle negativo. A curva de sobrevivência será calculada a partir da absorbância de células cultivadas na ausência de nanopartículas (100% de viabilidade) e de células lisadas pela adição de Triton X-100 a 0,1% (0% de viabilidade). Todos os ensaios serão realizados em quadruplicata.

- *Citometria de fluxo*

Após 72 horas em cultura, as células semeadas em placas de 96 poços, tratadas com as nanopartículas ou as culturas controles (não-tratadas) serão lavadas em PBS e receberão uma solução do corante brometo de etídio monoazida (Thermo-Fisher Scientific, E1374) na concentração de 8,5 µg/mL diluído em PBS suplementado com 2% de soro fetal bovino. A placa de cultura será aberta e exposta à fonte de luz fluorescente por 5 minutos para fotoativação do composto, que será associado irreversivelmente apenas ao DNA de células inviáveis. Este procedimento visa marcar de forma eficiente as células que não devem ser incluídas na contabilização de núcleos e micronúcleos, além de fornecer certa medida de citotoxicidade. Após esta etapa, as células receberão PBS com 2% de soro fetal bovino e serão centrifugadas para remoção de corante livre.

Duas etapas de lise serão realizadas para liberação dos núcleos e micronúcleos e para coloração do DNA dos mesmos. A primeira etapa consiste na lise das células com solução de cloreto de sódio (0,854 mg/mL), citrato de

sódio (1 mg/mL) e Triton X-100 (1%), além de 0,4  $\mu$ M do corante fluorescente SYTOX Green (Thermo-Fisher Scientific, S7020). Após lise por 5 minutos à temperatura ambiente, as placas serão centrifugadas e receberão a solução da segunda lise (sacarose 85,6mg/mL, ácido cítrico 15mg/mL e SYTOX Green 0,4 $\mu$ M). Após 5 minutos em temperatura ambiente, o material será centrifugado novamente e ressuspendido em PBS para leitura no citômetro de fluxo (Accuri C6, BD Biosciences)

Os eventos marcados com EMA serão excluídos da contagem. Eventos com SYTOX serão avaliados conforme seu tamanho (FSC) e fluorescência (FL1) para discriminação entre núcleos e micronúcleos. Serão contabilizados ao menos 20000 eventos (células binucleadas) em cada amostra.

### ***Ensaio em modelo animal***

Todos os procedimentos experimentais seguirão as normas vigentes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e serão submetidos à aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IPEN-CNEN/SP. Os animais serão mantidos no biotério do IPEN em um ciclo claro-escuro 12h/12h com água e ração *ad libitum*.

O modelo de indução de câncer de próstata utilizará células da linhagem humana PC3 em camundongos machos Balb/c Nude com aproximadamente 6 semanas de idade e massa corpórea aproximada de 20 g. As células PC3 serão cultivadas em meio RPMI suplementado com 10 % de soro fetal bovino, penicilina e estreptomicina e mantidas em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Para a preparação do inóculo, as células serão tripsinizadas, quantificadas em câmara de Neubauer e suspensas na concentração de 1x10<sup>6</sup> células em 50  $\mu$ L de PBS (solução salina tamponada com fosfato) pH 7,2. A essa suspensão será adicionado 50  $\mu$ L de Matrigel. Esse preparado será então injetado subcutaneamente no flanco direito dos camundongos Balb/c Nude.

Para o modelo de indução de câncer de mama serão utilizadas células da linhagem 4T1 em camundongos fêmeas BALB/c com aproximadamente 6 semanas de idade e massa corpórea aproximada de 20 g. As células 4T1

serão cultivadas em frasco de cultura previamente preparado contendo meio de cultura DMEM suplementado com 10 % de soro fetal bovino, penicilina e estreptomicina e mantidas em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> com a tampa entreaberta até alcançar aproximadamente 80% de confluência. Para a preparação do inóculo, as células serão tripsinizadas, quantificadas em câmara de Neubauer e suspensas na concentração de 1x10<sup>6</sup> células em 100 µL de PBS (solução salina tamponada com fosfato) pH 7,2. Para a indução do tumor, os animais serão anestesiados por via inalatória com isoflurano (2,5%) e manutenção com 1,5%. Sob anestesia, os animais serão tricotomizados na região da mama. Posteriormente será realizada assepsia local e os animais receberão um inóculo subcutâneo na mama com 1x10<sup>6</sup> células da linhagem 4T1 com seringa de 1 mL e agulha hipodérmica.

Todos os animais serão acompanhados diariamente, observando-se sua condição clínica, desde o momento inicial após a inoculação até ser possível observar um nódulo delimitado em todos os animais. Neste momento terá início avaliação quantitativa do tumor com auxílio de um paquímetro digital. O volume do tumor será determinado utilizando a equação.

$$V= 0,5.C.L^2 \quad (1)$$

Na equação, V representa o volume tumoral em mm<sup>3</sup>, C é o comprimento e L a largura do tumor, ambos em mm. Quando a massa tumoral alcançar o volume de aproximadamente 100 mm<sup>3</sup>, será considerada positiva a instalação do processo neoplásico.

#### ***Avaliação da biodistribuição das nanopartículas in vivo***

Nesta etapa será avaliada a capacidade das NPs funcionalizadas reconhecerem especificamente os tumores de mama (4T1) ou tumores de próstata (PC3) gerados em camundongos segundo protocolo descrito previamente. Para isso, quando os tumores atingirem cerca de 200-300 mm<sup>3</sup>, as NPs sintetizada na sua forma radioativa (10-25 MBq) serão injetadas na veia

caudal dos animais previamente inoculados com células 4T1 ou PC3 e analisados ao final de 1, 2 e 6 horas. Os animais serão anestesiados com isoflurano por inalação (concentração inicial 0.5%- anestesia geral 1 a 1.87%), colocados na câmara de escaneamento e analisados no (microSPECT/PET/CT Albira – Carestream (Brucker Corporation)) no Centro de Radiofarmácia do IPEN. As imagens obtidas serão analisadas utilizando-se o software  $\pi$ MOD ( $\pi$ MOD Technologies, Zurich). Os ROI's e as atividades nos órgãos (%DR) serão obtidos utilizando-se o software  $\pi$ MOD ( $\pi$ MOD Technologies, Zurich).

Além do mais, serão realizados estudos de biodistribuição no qual 1-2 MBq de nanopartículas radioativas serão injetadas na veia caudal de camundongos previamente inoculados com células 4T1 ou PC3 (volume tumoral 200-300 mm<sup>3</sup>). Ao final de 1, 4, 6, 8 e 24 horas os animais serão eutanasiados e os órgãos de interesse incluindo o tumor serão excisados. A radioatividade de cada órgão de interesse será medida em um contador- $\gamma$  e os resultados serão expressos como percentagem de dose injetada por grama (%DI/g).

### ***Associação da TLBP e nanobraquiterapia***

Os animais serão aleatoriamente divididos em 4 grupos: controle sem tratamento, tratamento só com AuNP radioativa, tratamento com TLBP e tratamento com AuNP+TLBP.

As NPs serão inoculadas diretamente no tumor após identificação do processo neoplásico. A TLBP também será realizada diretamente no tumor nos dias 1 (após inoculação das NPs), 3, 7, 10 e 14 pós-instalação tumor. Os melhores parâmetros para NPs e TLBP previamente estabelecidos serão utilizados. Como fonte de luz, usaremos um laser de emissão vermelha com potência aproximada de 40 mW e  $\lambda = 660$  nm. Os animais serão acompanhados até o fim do experimento. No entanto, se sua massa corpórea apresentar queda contínua por 6 dias, o experimento será finalizado.

Os animais serão acompanhados diariamente durante todo o período experimental. Para informação clínica, o volume do tumor será mensurado,

conforme anteriormente descrito. Os animais também serão monitorados por sinais clínicos como aparência de pelagem (erizada, emaranhada, opaca), postura (arqueada ou não) e alteração comportamental, como diminuição do consumo de água e comida e diminuição de movimentos.

Os animais Balb/c ou Balb/c Nude serão inoculados com a linhagem 4T1 ou PC3 modificada com a fotoprotéina luciferase (4T1-Luc2 ou PC3-Luc2), respectivamente, e serão submetidos ao protocolo terapêutico. Para obtenção do bioimageamento, os animais serão conduzidos ao laboratório do CEFAP do ICB-USP. Antes da aquisição das imagens, será inoculado um reagente para a detecção de luz, caracterizado como um sal de potássio de D-luciferina. Será preparada uma solução de 15 mg de luciferina, diluída em 1 ml de PBS e uma alíquota de 100  $\mu$ l será administrada pela via intraperitoneal de cada animal, os quais serão anestesiados com 2,5% de isoflurano. Os mesmos serão transferidos para a câmera de imagem e mantidos com 1,5% de isoflurano. A mensuração da emissão de fótons será realizada através do modo de alta resolução e será estabelecida em uma região de interesse (ROI) no local da região da mama onde o tumor estiver instalado. O sinal de luminescência é proporcional à progressão do tumor.

Utilizaremos durante todo o procedimento experimental 60 animais para cada linhagem celular (4T1-Luc2 ou PC3-Luc2), número de animais obtido a partir de cálculo amostral estatístico, considerando-se um grau de confiança de 95%. A margem de erro aceitável foi estabelecida em 20% e espera-se uma porcentagem de sucesso de 80%. [23]

---

## **PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS OU TECNOLÓGICAS DA PROPOSTA**

O câncer é uma doença devastadora tanto para o doente e seus familiares quanto para o uso de recursos financeiros da Saúde Pública. Tratamentos eficazes e menos invasivos são extremamente necessários. Nesse contexto, o presente trabalho unirá as vantagens do tratamento localizado da braquiterapia com fontes de tamanho nanométrico. Além disso, fontes de luz de baixa potência são custo-efetivas para implementação na Saúde Pública. De fato, recentemente, o Ministério da Saúde aprovou o uso do laser para tratamento precoce da mucosite oral em pacientes oncológicos. [24] O domínio tecnológico dessa nova área nos permitirá aprofundar conhecimentos e desenvolver produtos e/ou processos inovadores, que serão divulgados em congressos nacionais e internacionais, além da publicação de artigos em revistas de impacto.

**CRONOGRAMA FÍSICO**

Ano	2019			2020				2021	
<i>item/mês</i>	03-06	07-10	11-12	01-02	03-06	07-10	11-12	01-02	03-06
1. Síntese da NP									
2. Caracterização da NP									
3. Funcionalização da NP									
4. Ensaio de toxicidade									
5. Ensaio em modelo animal									
6. Apresentação de trabalhos e publicações									

---

**IDENTIFICAÇÃO DA EQUIPE ENVOLVIDA NO PROJETO**

**CTR**

Maria Elisa Chuery Martins Rostelato

Carlos Alberto Zeituni

Rodrigo Crespo Mosca

Carla Daruich de Souza

Beatriz Ribeiro Nogueira

João Augusto Moura

Anselmo Feher

Wilmmer Alexander Arcos Rosero

Andreza Aparecida Del Carmen Castro Gonzalez

Cíntia Tozzeti

Lucas Kodato Machado

Angélica Bueno Barbezan

**CLA**

Martha Simões Ribeiro

Camila Ramos Silva

Ismael Pretto Sauter

Saulo de Toledo Pereira

Tania Mateus Yoshimura

**CR**

Emerson Bernardes Soares

Efrain Araujo Perini

Sofia Nascimento dos Santos

**CB**

Patrick Jack Spencer

Daniel Perez Vieira

Leticia Bonfim

Luma Ramirez de Carvalho

Priscila de Queiroz Souza Passos

---

## **INFRAESTRUTURA E APOIO TÉCNICO-FINANCEIRO**

Todos os ensaios descritos anteriormente serão realizados junto ao CTR (Laboratório de Produção de Fontes para Radioterapia); CLA (Laboratório de Terapia Óptica), CB (Biotério e Laboratório de Radiobiologia) e CR (Laboratório de Imagem Molecular). Todos os laboratórios possuem as instalações necessárias para o desenvolvimento de pesquisas em radiações na área da Saúde. Os recursos animais e a infraestrutura para manutenção dos mesmos durante os experimentos serão fornecidos pelo biotério do IPEN-CNEN/SP.

## **PRODUÇÃO DE C&T**

- 4 publicações em periódico internacional
- 10 apresentações de trabalho em congresso nacional e/ou internacional
- 3 doutores formados
- 2 mestres formados

## **IMPACTO PARA A SOCIEDADE**

Nossa proposta busca por uma nova abordagem terapêutica para o câncer, menos invasiva e custo-efetiva, de modo a promover maior conforto ao paciente e ser uma opção economicamente viável para implementação na Saúde Pública.

---

## REFERÊNCIAS

1. American Cancer Society, Global Cancer Facts & Figures, 2015: Atlanta, USA.
2. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer, Incidência de Câncer no Brasil, 2014.
3. Podgorsak, E.B., Radiation Oncology Physics: A Handbook For Teachers And Students, International Atomic Energy Agency, Editor 2005: Viena.
4. Salvajoli, J.V., L. Souhami, and S.L. Faria, Radioterapia em Oncologia. 1999, São Paulo, SP: Editora Médica-Científica.
5. Mesbahi, A., A review on gold nanoparticles radiosensitization effect in radiation therapy of cancer. Reports of Practical Oncology & Radiotherapy, 2010. 15(6): p. 176-180.
6. Róz, A.L.d., et al., Técnicas de Nanocaraterização. 2014: Campus - Grupo Elsevier. 256.
7. Alves, O.L., Cartilha sobre nanotecnologia, Agencia Brasileira de Desenvolvimento Industrial, Editor 2011: Brasília.
8. Adams, M., Nanoparticles Technology Handbook. 2015: NY RESEARCH PRESS. 346.
9. Daniel, M.-C. and D. Astruc, Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. Chem Rev, 2004. 104(1): p. 293-346.
10. Jain, S. and S. Joshi, Nanomedicine: A Promising Tool for the Treatment of Cancer. Pharmacologyonline, 2009. 3: p. 574-590.
11. Alam, F., et al., Unique roles of nanotechnology in medicine and cancer-II. Indian Journal of Cancer, 2015. 52(1): p. 1-9.
12. de Magalhaes, M.T, Nunez, S.C., Kato, I.T., Ribeiro, M.S. Light therapy modulates serotonin levels and blood flow in women with headache. A preliminary study. Exp Biol Med 2016;241(1):40-5.

13. de Andrade, A.L., Bossini, P.S., Parizotto, N.A. Use of low level laser therapy to control neuropathic pain: A systematic review. *J Photochem Photobiol B*. 2016;164:36-42
14. Meneguzzo, D.T., et al. Prevention and treatment of mice paw edema by near-infrared low-level laser therapy on lymph nodes. *Lasers Med Sci* 2013;28(3):973-80.
15. Nunez, S.C., et al. The influence of red laser irradiation timeline on burn healing in rats. *Lasers Med Sci* 2013;28(2):633-41.
16. Ramos Silva, C., et al. Exploring the effects of low-level laser therapy on fibroblasts and tumor cells following gamma radiation exposure. *J Biophotonics*. 2016 Dec;9(11-12):1157-1166.
17. Ramos Silva, C. and Ribeiro, M.S. Efeitos da terapia com laser em baixa intensidade em melanoma murino. Estudo in vivo. *Anais do XXII Congresso Brasileiro de Física Médica*, Ribeirão Preto, SP, 2017.
18. Comissão Nacional de Energia Nuclear, NN 3.01 - Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica, 2005: <http://www.cnen.gov.br/normas-tecnicas>.
19. Comissão Nacional de Energia Nuclear, NN 8.01 - Gerência de Rejeitos Radioativos de Baixo e Médio Níveis de Radiação (Resolução 167/14), 2014: <http://www.cnen.gov.br/normas-tecnicas>.
20. Djoumessi, D., et al., Rapid, one-pot procedure to synthesise 103Pd: Pd@Au nanoparticles en route for radiosensitisation and radiotherapeutic applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015. 3(10): p. 2192-2205.
21. Cardoso Avila, P.E., et al., Biological response of HeLa cells to gold nanoparticles coated with organic molecules. *Toxicology in Vitro*, 2017. 42: p. 114-122.
22. Daniels, J.L., et al., Synthesis and characterization of pHLIP® coated gold nanoparticles. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2017. 10: p. 62-69.
23. Weyne, G.R.S. Determinação do tamanho da amostra em pesquisas experimentais na área de saúde, *Arq. Med. ABC*, 29, 87-90, 2004.

---

24. Ministério da Saúde. PORTARIA Nº 516, DE 17 DE JUNHO DE 2015.  
[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2015/prt0516\\_17\\_06\\_2015.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2015/prt0516_17_06_2015.html)  
ml2015.

## ANEXO 1:

### Justificativa para a aquisição do sistema de água “nanopura”

Em nanociência, os processos desenvolvidos estão na escala nano ( $10^{-9}$  m). Caso haja alguma fonte de contaminação, ela será extremamente prejudicial, visto que será “carregada” junto com a nanopartícula formada. Por exemplo, na figura abaixo se pode ver a formação de nanopartículas de ouro de tamanho ótimo (24 nm) e uma contaminação em 2669 nm (seta azul). Isso ocorre principalmente pela qualidade da água que é utilizada durante a síntese química.

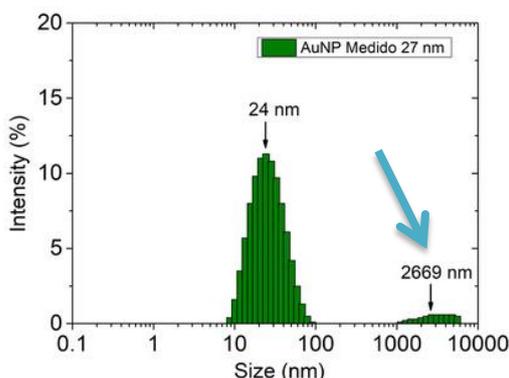


Figura 1: Gráfico de intensidade de AuNPs por tamanho em nm obtido por DLS. Equipamentos de água milli-q típicos possuem (quando a calibração é mantida) um valor de TOC (*Total Organic Carbon*, indicador de contaminantes orgânicos) entre 1-30 ppb. Água utilizada na confecção de NPs normalmente possuem valor de TOC menor que 1 ppb. Este equipamento será alimentado com a água milli-q que passará por novas etapas de purificação. Essa água “nano-purificada” também é utilizada no preparo de vidrarias, que devem ser lavadas múltiplas vezes para garantir a remoção de particulados. Não existe no IPEN equipamento com valor tão baixo de TOC, portanto é indispensável sua aquisição. Poderá ser utilizado em diversas pesquisas realizadas pelo IPEN, como no crescimento de cristais para detecção de radiação, na síntese de óxido de grafeno, além de melhorar resultados de projetos existentes e viabilizar novas pesquisas.