

EFEITO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS ENERGÉTICOS E METABOLISMO EM RATOS OBESOS

EFFECT OF GOLD NANOPARTICLES ON ENERGETIC INFLAMMATORY PARAMETERS AND METABOLISM IN OBESE RATS

Morgana de Prá¹, Ana Cristina Povaluk Tschoeke², Marcos Marques da Silva Paula³, Gislaine Tezza Rezin⁴

Resumo

A obesidade é caracterizada pelo excesso de gordura no corpo, podendo levar ao desenvolvimento de graves complicações de saúde. Foi sugerido uma terapia inédita para obesidade envolvendo nanotecnologia, especificadamente Nanopartículas de Ouro (GNPs) em condições bioquímicas e inflamatórias em ratos obesos. Foram sintetizados GNPs com 18nm, isolados ou associados à lecitina de soja, administrados intraperitonealmente em camundongos uma vez ao dia, podendo ser administrado em dose única ou ao decorrer de 14 dias. Após 24 horas da administração os animais foram eutanasiados, os tecidos foram coletados para avaliação de concentração de GNPs e soro para avaliação da toxicidade hepática e renal. Após essa etapa, os camundongos foram expostos à obesidade com dieta de controle (normolipídica) ou dieta obesa (hiperlipídica) sendo tratados com salina ou PNB após 8 semanas, uma vez ao dia, durante 14 dias, até completar 10 semanas de experimento. O peso corporal e ingestão de alimentos foram monitorados frequentemente. Foi encontrado concentração maior de GNPs nos tecidos quando administrados isoladamente, sem dano hepático ou renal. Em camundongos obesos, a aplicação de GNPs não atuou no peso corporal e gordura visceral, mas reduziu a ingestão de alimentos. As GNPs revelaram efeito benéfico sobre inflamação e estresse oxidativo, sem reverter a disfunção mitocondrial e seu uso foi positivo, implicando na redução de ingestão dietética, condições inflamatórias e estresse oxidativo, mostrando-se uma promessa no tratamento da obesidade.

Palavras-chave: obesidade. nanotecnologia. nanopartículas de ouro. metabolismo energético.

Abstract

Obesity is characterized by excess fat in the body, which can lead to the development of serious health complications. An unprecedented therapy for obesity involving nanotechnology has been suggested, specifically Gold Nanoparticles (GNPs) in biochemical and inflammatory conditions in obese rats. 18nm GNPs were synthesized, isolated or associated with soy lecithin, administered intraperitoneally to mice once a day, which can be administered in a single dose or over 14 days. After 24 hours of administration, the animals were euthanized, tissues were collected to assess the concentration of GNPs and serum to assess liver and renal toxicity. After this stage, the mice were exposed to obesity with a control diet (normolipidic) or obese diet (hyperlipidic) being treated with saline or PNB after 8 weeks, once a day, for 14 days, until completing 10 weeks of the experiment. Body weight and food intake were monitored frequently. A higher concentration of GNPs was found in the tissues when administered alone, without hepatic or renal damage. In obese mice, the application of GNPs did not affect body weight and visceral fat, but reduced food intake. GNPs showed a beneficial effect on inflammation and oxidative stress, without reversing mitochondrial dysfunction and their use was positive, implying a reduction in dietary intake, inflammatory conditions and oxidative stress, showing a promise in the treatment of obesity.

Keywords: obesity. nanotechnology. gold nanoparticles. energy metabolism.

How to cite this article:

SOBRENOME, Nome; SOBRENOME, Nome. SOBRENOME, Nome. Título do artigo título do artigo título do artigo **ACINNET Journal**, Varginha, MG, v. 10, p. xxx, 2020. ISSN 0000-0000/ ISSN 0000-0000.

Disponível em: [https:// endereço do periódico](https://endereço do periódico). Acesso em xx de xxx de 20XX.

DOI: [https:// colocar o doi do artigo](https://colocar o doi do artigo) (editoração da revista)

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença caracterizada pelo excesso de peso corporal na forma de gordura, podendo ocasionar graves complicações de saúde (1). A quantia e localização de gordura no corpo são fatores importantes a serem observados, pois estudos indicam que a gordura localizada na região do abdome no corpo oferece maiores riscos à saúde, pois aumenta as chances de desencadear doenças crônicas não transmissíveis (8) (26). De acordo com a OMS, a principal causa de obesidade é um desequilíbrio no balanço energético entre calorias consumidas e calorias metabolizadas pelo indivíduo. O consumo de nutrientes, assim como seu metabolismo, são controlados por estruturas neurais, sistemas neuroquímicos e neuroendócrinos (29). Após a ingestão alimentar, ocorre aumento na captação de nutrientes da circulação para os tecidos e durante o processo de jejum, ocorre na direção oposta. Porém, na obesidade, há alteração nesse fluxo bidirecional (30) (31) (32).

A obesidade está correlacionada com o tecido adiposo, órgão multicelular regulado por hormônios, com inúmeras funções, incluindo secreção de adipocinas que atuam em vários sistemas biológicos, entre eles a homeostase energética e inflamação (30) (33) (34). Neste cenário, a insulina e a leptina são hormônios excretados em proporção à concentração de massa adiposa e atuam no catabolismo periféricamente estimulante (29). Sendo assim, a obesidade induz a ocorrência de inflamação por todo o corpo, com níveis altos de ácidos graxos circulantes e mediadores inflamatórios, resultando em alteração na homeostasia de muitos órgãos, incluindo o Sistema Nervoso Central (SNC) (13). Ainda, o estresse oxidativo na obesidade aparenta possuir relação com as alterações no metabolismo energético, pela diminuição dos genes mitocondriais (9). Tendo em vista que a obesidade é uma doença multifatorial, considerando os riscos relacionados a ela, sente-se a necessidade de tratamentos de pacientes, prioritariamente aqueles com comorbidades associadas (16). Entretanto, as terapias utilizadas para o tratamento da obesidade vêm sendo dicotômicas e limitadas, a curto prazo demonstram resultados satisfatórios na redução de peso porém, a longo prazo mostram-se insatisfatórios, ocorrendo recuperação de peso.

Por conseguinte, propõe-se uma nova terapia para a obesidade com nanotecnologia, especificamente nanopartículas de ouro (GNPs), os nanomateriais mais utilizados no campo biomédico (105) (106), capazes de se ligar em micro e macro moléculas, tendo as penetrações através da membrana facilitadas pelas características nanométricas. Portanto, o objetivo do trabalho é a avaliação do efeito de GNPs em superfícies inflamatórias e bioquímicas de ratos obesos.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Animais

Camundongos Swiss machos (*Mus musculus*) do laboratório da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) foram utilizados para este estudo. Os animais tinham 40 dias, com pesos de aproximadamente 30g no início do experimento. Foram alojados individualmente em gaiolas para camundongos, mantidos em ambiente climatizado com ciclo de luz controlada de 12/12 horas (7h-19h) e temperatura de 23°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade do Sul de Santa Catarina (Protocolos: 15.002.4.01.IV., 15.001.4.01.IV. e 15.005.4.01.IV.).

Indução da obesidade

O protocolo para indução da obesidade e composição dietética foi baseado em estudos anteriores (27).

Validação para modelo animal de obesidade

A avaliação da ingestão alimentar foi realizada com base na diferença entre a quantidade de alimento ofertada ao animal e a quantidade de comida restante na gaiola após 24 horas. Os dados foram demonstrados em calorias consumidas, levando-se em conta o número de calorias de cada dieta: dieta lipídica normal = 3.798 Kcal/Kg e dieta hiperlipídica = 5.358 Kcal/Kg. O peso corporal dos animais foi registrado durante todo o período de indução da dieta, as medições foram feitas uma vez por semana com a utilização de uma balança digital eletrônica e a gordura visceral dos animais foi medida.

Níveis de citocinas

O cérebro foi rapidamente removido e o hipotálamo foi coletado e armazenado a -80°C, os níveis de IL-1 β e IL-10 no hipotálamo foram determinados pelo método de microplacas ELISA usando kit comercial (R & D Systems, Minneapolis, MN). Os resultados foram expressos como pg/mg de proteína.

Parâmetros de dano oxidativo

O dano oxidativo foi medido pela avaliação da peroxidação lipídica (MDA) e carbonilação de proteínas no hipotálamo. O nível de MDA foi medido usando um método de cromatografia líquida de alta performance (28). O dano oxidativo às proteínas foi determinado pela reação dos grupos carbonila nas proteínas oxidativas, de acordo com o método descrito por Levine (29) e os resultados foram expressos como níveis de proteína por miligrama de proteína carbonilada (nMol/mg de proteína).

Parâmetros de defesa antioxidante

A defesa antioxidante foi medida pela avaliação da atividade da SOD baseada em sua capacidade de inibir a oxidação espontânea da adrenalina ao adrenergocromo, conforme descrito por Bannister (30). Os níveis de GSH foram determinados conforme descrito por Hissin e Hilf (32), todos os resultados foram expressos como unidades por miligramas de proteína (U/mg de proteínas).

Parâmetros do metabolismo energético

O metabolismo energético foi avaliado pela medida da atividade do complexo da cadeia respiratória mitocondrial e a atividade da CK. A atividade do complexo I foi avaliada seguindo o método descrito por Cassina e Radi (33). A atividade do complexo II foi medida pelo método descrito por Fischer (34), pela diminuição de absorvância de 2,6-Dicloroindofenol a 600 nm, todos os resultados foram expressos como nmol/ min x xmg de proteína.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico GraphPad Prism® 6.01. As análises foram determinadas pelo teste t de Student, que comparou o grupo de controle ao grupo obeso. Significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dieta hiperlipídica proporcionou grande ingestão de calorias aos animais do grupo obeso e ao grupo tratado com as GNPs, após 3 semanas consumindo a dieta, esses animais tiveram um aumento no peso corporal. A diferença estatística foi mantida até o final do experimento. A administração de GNPs não reduziu o peso corporal desses animais, como também foi encontrado em um estudo de Chen et al. [2013], que não encontraram alteração no peso de ratos após uma única administração intraperitoneal de GNP esféricos de tamanho médio de 21nm na dose de 7,85 µg / g de peso, nos períodos de 1h, 24 e 72h. O pouco tempo de administração do GNPs pode ser um fator limitante na perda de peso, sendo necessários estudos com períodos de administração mais longos para elucidar esse mecanismo e se o papel anti-inflamatório dos GNPs pode atuar na perda de peso.

Ainda, os níveis de glicose, colesterol, triglicérides, HDL e LDL foram avaliados e observou-se que não houve alterações significativas quando comparados ao grupo controle, exceto para glicose, onde o grupo obeso recebendo solução salina apresentou menores níveis de glicose, comparando ao seu controle. Assim, os animais que receberam dieta hiperlipídica apresentaram valores glicêmicos abaixo dos animais que receberam dieta normolipídica. Em contraste com o presente estudo, Moretto [2017] também avaliou a obesidade induzida por uma dieta hiperlipidêmica em camundongos, encontrou uma média de 157mg / dL no grupo controle, contra 215mg / dL no grupo obeso.

Esse achado pode elucidar os mecanismos de ação das GNPs e sua influência no metabolismo, neste caso, atuando na secreção de insulina. Storlien et al. [1986] mostraram que a ingestão de uma dieta rica em gordura contribui significativamente para o acúmulo de gordura e mudanças na secreção de insulina. No animal obeso, a dieta hiperlipídica e o acúmulo de gordura refletem-se em um processo inflamatório que, portanto, atua no organismo estimulando a secreção e a predominância de altos níveis de insulina [Vasdev, 2004 e Muller, 2017] que implicaram, em nosso estudo, em níveis glicêmicos baixos.

Como já mencionado, as GNPs diminuem os marcadores inflamatórios [Chen, 2013], portanto, pode-se supor que, com a diminuição do processo inflamatório, ocorreu a diminuição da secreção de insulina dos animais que receberam os GNPs, logo, a quantidade de insulina circulante foi menor, fato que levou a níveis glicêmicos encontrados em obesos com uso de GNPs, sendo semelhante ao seu grupo controle. E em animais obesos tratados com solução salina, o grau de inflamação encontrado é maior e, portanto, a secreção de insulina também. Basicamente, o metabolismo atua, nesses casos, aumentando a produção pancreática de insulina, a fim de diminuir a glicemia devido à dieta hiperlipídica. Em relação aos valores de colesterol e triglicérides, neste estudo não foram observadas alterações em suas concentrações após a administração de GNPs. Além disso, Muller et al. [2017] não observaram alterações nesses mesmos parâmetros após a administração intraperitoneal de GNPs por 21 dias em ratos Wistar machos.

O tecido adiposo responde ao consumo excessivo de nutrientes pela hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos. Evidentemente, a não alteração dos valores de triglicérides corrobora que as calorias ingeridas em excesso foram armazenadas como tecido adiposo, contribuindo para o aumento do peso de gordura e do peso total do animal.

Até o momento, nenhum estudo foi conduzido para avaliar o efeito de nanopartículas de ouro sobre o colesterol LDL e HDL em ratos obesos. Em nosso estudo, não foram observadas alterações significativas entre o grupo controle e o grupo obeso, e as GNPs não mostraram influência na concentração sérica dessas

substâncias. Portanto, este é o primeiro estudo a relatar que as GNPs não interferem nos níveis séricos dessas substâncias.

Cliffon et al. [1992] sugerem que o tipo de dieta usada teve pouca influência nos níveis séricos de colesterol; sendo determinado quase exclusivamente pela atividade metabólica, refletindo a carga genética do indivíduo e sua idade e sexo. Este fato corrobora os achados de nosso estudo, uma vez que ambos os camundongos alimentados com dieta normolipídica, quando alimentados com hiperlipidemia, mantiveram níveis séricos semelhantes de LDL e HDL.

Com relação à inflamação e parâmetros bioquímicos, nossos dados indicaram que a obesidade animal levou à inflamação, juntamente com aumento do dano oxidativo e disfunção mitocondrial em cérebros de ratos, mas estes animais quando tratados com GNPs mostraram uma diminuição nos parâmetros de estresse oxidativo e inflamatório. Em contraste, a disfunção mitocondrial permaneceu a mesma com o tratamento à base de ouro.

De acordo com nossos resultados, os animais do grupo obeso mostraram uma maior diminuição nos níveis de IL-10 na gordura e algumas estruturas cerebrais, como córtex pré-frontal, estriado, hipocampo e hipotálamo em comparação com animais alimentados com uma dieta lipídica normal e animais obesos tratados com GNPs teve um aumento nos níveis de IL-10. Esse achado é consistente com o de um estudo de Wang [37], que também encontrou uma diminuição na expressão de IL-10 no hipotálamo de animais obesos (50% de ingestão de gordura saturada na dieta). No entanto, Van de Sande-Lee [39] demonstrou um aumento significativo nos níveis de IL-10 no líquido cefalorraquidiano de indivíduos obesos após perda de peso devido à cirurgia bariátrica. Eles também relataram que o aumento na IL-10 foi acompanhado por mudanças nos padrões de ressonância magnética. Assim, como os PNBs são compostos de um metal nobre, acreditamos que o ouro pode ter interagido com a IL-10 fazendo com que ela aumente.

Neste estudo, também foi observado que os animais do grupo obeso apresentaram maior expressão de IL-1 β e TNF- α nas estruturas cerebrais avaliadas, e que o grupo obeso tratado com GNPs reverteu essa condição. A IL-1 β é uma citocina envolvida no processo inflamatório que medeia a regulação positiva de muitas citocinas inflamatórias, como o TNF- α , pela sinalização através do receptor da IL-1 β , seguida da ativação do fator nuclear-kappa B (NF-kb) [40]. Estudos corroboram essa informação, pois demonstraram que animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 β , proteínas de resposta inflamatória, marcadores de ativação de células gliais e presença de apoptose [41].

Como já demonstrado na literatura, uma dieta hiperlipídica compromete a integridade da BHE, facilitando assim a entrada de células imunes no SNC, incluindo ácidos graxos saturados que podem causar inflamação no hipotálamo [17]. Nesse sentido, tanto a dieta hiperlipídica como as alterações periféricas do acúmulo de gordura corporal estão associadas à ativação microglial, e a expressão do gene da citocina ocorre predominantemente nesses tipos celulares [42]. Em um artigo de revisão [44], os autores apontaram que a ativação do TNF- α mediada pelo TNF- α em células da glia era um elemento-chave nos efeitos deletérios dessa citocina. Todos esses mecanismos, incluindo a infiltração de leucócitos e ácidos graxos livres no SNC, bem como a ativação celular no SNC, contribuem para a produção de ERO, com consequente dano oxidativo [42].

O aumento de agentes oxidantes no cérebro é de grande preocupação, uma vez que a exposição crônica a ROS pode causar grandes danos às membranas celulares, levando à perda da integridade e viabilidade celular [46,47]. Em contraste

com a grande produção de ROS, o SNC tem baixos níveis de enzimas antioxidantes em comparação com outros órgãos [50]. Alguns estudos citam os GNPs como um agente antioxidante, inibindo a formação em cascata de espécies reativas de oxigênio e / ou aprimorando o sistema de defesa antioxidante enzimático, mas o mecanismo exato ainda não está claro [57]. Li et al (2015) [58] demonstraram que as nanopartículas de ouro aumentam os níveis de NRF2, o que induz a sinalização de genes antioxidantes, em um estudo com células endoteliais. Este aumento é causado pela ação das nanopartículas de ouro que afetam as ligações tioss do keap1, alterando sua conformação e liberando o NRF2 para posterior transcrição de genes citoprotetores, contribuindo assim com o efeito antioxidante. Além disso, o efeito antiinflamatório dos GNPs pode estar auxiliando na redução de radicais livres, uma vez que macrófagos ativados e neutrófilos produzem espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e ácido hipocloroso para fins de degradação e limpeza celular [59].

A atividade das enzimas antioxidantes SOD e GSH no cérebro de ratos obesos foi aumentada e quando tratadas com GNPs houve redução. Em um estudo com os GNPs, os efeitos antioxidantes foram avaliados e demonstraram que os GNPs se ligam diretamente ao radical livre, principalmente ao ânion superóxido, neutralizando-o, e que esse efeito é dependente da dose, tamanho e superfície da molécula [59]. Corroborando este trabalho, Martin et al. (2014) mostraram o mesmo efeito dependente da dose de GNPs como um agente quelante de radical livre. No trabalho de Yakimovich et al. (2008) observou-se que o efeito antioxidante máximo das nanopartículas ocorre no tamanho de 9 nm com concentração de 6%, e, além disso, os autores demonstraram que os GNPs apresentam uma característica mimética às enzimas antioxidantes, interagindo diretamente com o ânion superóxido e radical hidroxila formando subprodutos menos reativos, já que neste trabalho utilizamos nanopartículas de tamanho 18 nm, o que pode ter influenciado nossos resultados. A GSH é utilizada como substrato para a GPx eliminar o H₂O₂ e atuar na desintoxicação de aldeídos reativos (como o MDA) que são gerados durante a peroxidação lipídica [52]. Portanto, a manutenção da atividade da GPx e níveis adequados de GSH são de fundamental importância para prevenir danos oxidativos [37]. A atividade da GSH é ainda mais relevante nas mitocôndrias, dadas as grandes quantidades de ROS produzidas naquele local. A esse respeito, evidências mostraram que a depleção de GSH mitocondrial contribui para a suscetibilidade ao estresse oxidativo [37]. Wullner et al [53] mostraram que, nos neurônios do cerebelo, a depleção de GSH mitocondrial e citoplasmática resultava em aumento na geração de EROs e no comprometimento da função mitocondrial. Esta informação é consistente com os nossos resultados, uma vez que os animais obesos tratados com GNPs foram depletados nos níveis de GSH juntamente com a atividade reduzida dos complexos I e II da cadeia respiratória mitocondrial.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que a obesidade está associada à presença de inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial no cérebro de ratos e que os GNPs são fortes candidatos a auxiliar no tratamento da obesidade, pois tem efeito antioxidante, dependente do tamanho e anti-inflamatório.

REFERÊNCIAS

- [1] Organização Mundial da Saúde. Obesidade e excesso de peso [Internet]. [Atualizada em jan 2015; acesso em 2016 Mai 24]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
- [17] Milanski M, G Degasperi, Coope A, J Morari, Denis R, Cintra DE (2009) ácidos graxos saturados produzem uma resposta inflamatória predominantemente através da ativação da sinalização TLR4 no hipotálamo: implicações para a patogênese da obesidade. *J Neurosci* 29: 359-370.
- [37] Wang X, Ge A, M Cheng, Guo F, Zhao M, Zhou X (2012) Aumento da inflamação hipotalâmica associada à susceptibilidade à obesidade em ratos expostos à dieta rica em gordura. *Exp Diabetes Res* 2012: 847246.
- [38] Kennedy A, Martinez K, CC Chuang, LaPoint K, McIntosh M (2009) saturada inflamação mediada por ácidos graxos e resistência à insulina no tecido adiposo: mecanismos de ação e implicações. *J Nutr* 139: 1-4.
- [39] Van de Sande-Lee S, Pereira FRS, Cintra DE, Fernandes PT, Cardoso AR, CR Garlipp (2011) reversibilidade parcial da disfunção hipotalâmica e mudanças na atividade cerebral após a redução da massa corporal em indivíduos obesos. *Diabetes* 60: 1699-1704.
- [40] Moynagh PN (2005) A via de sinalização da interleucina-1 em astrócitos: um dos principais contribuintes para a inflamação no cérebro. *J Anat* 207: 265-269.
- [41] De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC (2005) O consumo de uma dieta rica em gordura ativa uma resposta pró-inflamatória e induz a resistência à insulina no hipotálamo. *Endocrinology* 146: 4192-4199.
- [42] Kälin S, Heppner FL, Bechmann I, M de Prinz, Tschöp MH, Yi CX (2015) Reação imune hipotalâmica inata na obesidade. *Nat Rev Endocrinol* 11: 339-51.
- [43] Posey KA, DJ Clegg, Printz RL, J Byun, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A (2009) Acúmulo de lipoproteína pró-inflamatória hipotalâmica, inflamação e resistência à insulina em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296: E1003-E12.
- [44] Boitard C, Cavaroc A, Sauvant J, Aubert A, Castanon N, Layé S (2014) O comprometimento da memória hipocampal-dependente induzida pela ingestão de dieta hiperlipídica juvenil está associado à inflamação hipocampal aumentada em ratos. *Brain Behav Immun* 40: 9-17.
- [45] Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J (2010) Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rer Nutr* 23: 629-43.
- [46] Fischer R, Maier O (2015) Interrelação do Estresse Oxidativo e Inflamação na Doença Neurodegenerativa: Papel do TNF. *Oxid Med Cell Longev* 2015: 1-18.
- [47] Lassmann H (2011) Mecanismos de neurodegeneração compartilhados entre esclerose múltipla e doença de Alzheimer. *J Neural Transm (Viena)* 2011: 747-52.
- [50] Parkhurst CN, Gan WB (2010) Dinâmica da microglia e função no SNC. *Curr Opin Neurobiol* 20: 595-600.
- [53] Wullner U, Seyfried J, Groscurth P, Beinroth S, Winter S, M Gleichmann, Heneka M, P Loschmann, Schulz JB, Weller M, Klockgether T (1999) Depleção de glutatona e morte celular neuronal: o papel do oxigênio reativo intermediários e função mitocondrial. *Pesquisa do cérebro* 826: 53-62.
- [54] Heales SJ, Bolaños JP, Stewart VC, Brookes PS, Terra JM, Clark JB (1999) Nitricoxide, mitocôndria e doença neurológica. *Biochim Biophys Acta* 1410: 215-228.
- [55] Aw TY, Jones DP (1989) Fornecimento de nutrientes e função mitocondrial. *Annu Rev Nutr* 9: 229-251.

[56] Rocha, FR. Efeitos terapêuticos da iontoforese com nanopartículas de ouro na recuperação de lesão muscular traumática. 2016.76f. Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Santa Catarina, 2016.

[57] Barathmanikanth S; et al. O efeito anti-oxidante de nanopartículas de ouro restringe condições hiperglicêmicas em camundongos diabéticos. J. Nanobiotechnol. 14: 8-16. 2010.

[58] Li JJ; et al. Autofagia e estresse oxidativo associados a nanopartículas de ouro. Biomateriais 31 (23): 5996-6003. 2010.

[59] Uchiyama MK; et al. Toxicidade in vivo e in vitro e propriedades antiinflamatórias de bioconjugados de nanopartículas de ouro no sistema vascular. Toxi Sci. 142 (2): 497-507. 2014