

Propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanocompósitos para utilização em magneto-hipertermia

Biocompatible and magnetic properties of nanocomposites for use in magnetohyperthermy

Vinícius F. Castro¹, Juliana Celestino¹, Alvaro A. A. de Queiroz¹ e Filiberto G. Garcia²

¹Instituto de Ciências Exatas do Departamento de Física e Química da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) – Itajubá (MG), Brasil

²Instituto de Ciência Exatas do Departamento de Física e Química da UNIFEI – Itabira (MG), Brasil

Resumo

Neste trabalho, estudou-se as propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanoesferas transportadoras de partículas magnéticas de $Y_3Fe_{5-x}AlxO_{12}$ (YFeAl) baseadas no polímero diglicidil éter do bisfenol-A (DGEBA). Partículas magnéticas de YFeAl monodispersas e com tamanho igual a 15 nm foram preparadas através da decomposição térmica de complexos de ferro (III) na presença de oleilamina [6]. Nanoesferas contendo partículas policristalinas de $Y_3Fe_{5-x}AlxO_{12}$ ($0 \leq x \leq 2$) foram preparadas utilizando a técnica de polimerização em dispersão utilizando o dietilenotriamina (DETA) como agente endurecedor. As nanoesferas sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios-X (XRD) e microscopia eletrônica de varredura (SEM). A temperatura Curie (T_c) foi determinada a partir das medições de susceptibilidade magnética no intervalo de 223-573 K. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) indicou uma distribuição monomodal de tamanho. No intervalo de composição $1.5 \leq x \leq 1.8$, as nanoesferas exibiram T_c modulável no intervalo de interesse da hipertermia. A fim de avaliar a possível influência das nanoesferas de DGEBA/YFeAl nas células de mamíferos, testes de citotoxicidade foram realizados. Foi observado que as nanoesferas não afetaram a viabilidade das células ou a taxa de crescimento da cultura celular. Esses resultados sugerem que as nanopartículas de $Y_3Fe_{5-x}AlxO_{12}$ encapsuladas pelo sistema DGEBA/DETA representam uma alternativa promissora no tratamento de tumores malignos através da magneto-hipertermia.

Palavras-chave: Magneto-hipertermia, DGEBA, nanoesferas, câncer.

Abstract

In this work the biocompatible and magnetic properties of $Y_3Fe_5-xAlxO_{12}$ (YFeAl) nanospheres carriers based on diglycidyl ether of bisphenol A (DGEBA) is presented. Monodisperse magnetic particles of YFeAl and 15 nm on size distribution of were prepared by thermal decomposition of complexes of iron (III) in the presence of oleilamine. Nanospheres containing particles of polycrystalline $Y_3Fe_5-xAlxO_{12}$ ($0 \leq x \leq 2$) were prepared using the dispersion polymerization technique using Diethylenetriamine (DETA) as a hardener. The synthesized microspheres were characterized by X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The Curie temperature (T_c) was determined from measurements of magnetic susceptibility in the range of 223-573 K. The scanning electron microscopy (SEM) indicated a monomodal distribution in size of the synthesized nanospheres. In the composition range of $1.5 \leq x \leq 1.8$, the nanospheres exhibited T_c scalable in the range of magnetohyperthermy interests. To assess the possible influence of nanospheres of DGEBA / YFeAl in mammalian cells, cytotoxicity tests were performed. It was observed that the nanospheres did not affect the viability of cells or the growth rate of cell culture. These results suggest that nanoparticles of $Y_3Fe_5-xAlxO_{12}$ encapsulated by the system DGEBA/DETA represent a promising alternative for the treatment of malignant tumors by magnetohyperthermy.

Keywords: Magnetohyperthermy, DGEBA, nanospheres, cancer.

Introdução

O câncer representa atualmente uma das principais causas da mortalidade entre os seres humanos, representando mais do que uma simples enfermidade. Apesar de todo o avanço alcançado na medicina clínica preventiva, o câncer continua sendo uma ameaça oculta, de surgimento inesperado e pronunciada.

A evolução da medicina ao longo do último século promoveu uma importante alteração neste prognóstico desfavorável, permitindo que um grande percentual dos portadores de câncer tenha atualmente a oportunidade da cura ou significativo aumento de qualidade de vida como uma realidade significativamente viável.

A acentuada redução da mortalidade por câncer no presente século é consequência de vários fatores,

destacando-se o desenvolvimento de políticas de saúde que visam à prevenção, avanço alcançado nos métodos de diagnóstico e métodos cirúrgicos e o desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos vetorizados.

Atualmente são cinco as modalidades convencionais empregadas no tratamento do câncer: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, hipertermia e imunoterapia¹. Destas cinco modalidades, nenhuma delas por si só, consegue a erradicação total do tecido tumoral maligno.

A hipertermia pertence à lista dos tratamentos convencionais aceitos pela "American Cancer Society" e continua sendo uma das mais poderosas modalidades terapêuticas para melhorar a evolução dos pacientes com câncer². Também é um dos melhores coadjuvantes que aumenta a eficácia da radioterapia e da quimioterapia. Neste sentido, os experimentos clínicos de Fase III comprovam que quando a hipertermia foi associada com a radioterapia, ela melhorou o controle local do melanoma de 28% para 46% em 2 anos de acompanhamento; provocou aumento da remissão total do câncer recorrente de mama de 38% para 60%, aumentou o índice de remissão total do câncer avançado cervical de 57% para 82% e no glioblastoma multifórmio aumentou a sobrevida de 2 anos de 15% para 31%³.

A hipertermia é um procedimento terapêutico empregado para proporcionar aumento de temperatura em uma região do corpo que esteja afetada por uma neoplasia, com o objetivo de causar a lise das células cancerosas. Seu princípio de funcionamento se baseia no fato de que a temperatura de 41°C a 42°C tem o efeito de destruir diretamente as células tumorais, uma vez que estas são menos resistentes a aumentos bruscos de temperatura do que as células normais circunvizinhas.

O aumento de temperatura requerido pela hipertermia pode ser atingido, entre outros métodos, pelo uso de nanopartículas magnéticas, processo este conhecido com o nome de magneto-hipertermia ou magnetotermocitólise⁴. Quando submetidas à ação de um campo magnético externo de frequência alternada, as nanopartículas magnéticas são aquecidas. O uso de nanopartículas magnéticas (monodomínios magnéticos) é preferível as micropartículas (multidomínios magnéticos) uma vez que nanopartículas magnéticas respondem mais eficientemente a campos externos absorvendo destes mais energia.

De maneira geral, nanopartículas magnéticas têm recebido atenção especial para a utilização no tratamento do câncer pela técnica hipertêmica por poderem ser guiadas ou localizadas em um alvo específico por campos magnéticos externos. A possibilidade da vetorização de nanopartículas magnéticas através de gradientes de campos magnéticos levou ao desenvolvimento de várias técnicas de encapsulamento de partículas magnéticas de forma que os sistemas obtidos se tornassem efetivos carreadores de drogas com especificidade tumoral para a liberação controlada de agentes quimioterápicos.

Um pré-requisito importante para a utilização clínica da magneto-hipertermia é que as nanopartículas devem apresentar baixos níveis de toxicidade, assim como um elevado

momento de saturação que permita minimizar as doses requeridas. Neste contexto, cerâmicas com composição do tipo Ítria-Ferro-Alumínio (YFeAl) aparecem como um candidato promissor, visto que possuem uma alta temperatura de Curie (T_c) e elevado momento de saturação⁵. Entretanto, tais partículas possuem elevada citotoxicidade, sendo necessário desenvolverem-se técnicas de encapsulamento que imputem às nanopartículas ferromagnéticas as propriedades biocompatíveis necessárias para uma aplicação da magneto-hipertermia de modo clinicamente seguro.

Neste trabalho, propomos o desenvolvimento de metodologias para obtenção "in situ" de sistemas que utilizam resinas epoxídicas e sistemas orgânicos arborescentes para o encapsulamento de ferritas de YFeAl de baixa dimensionalidade e toxicidade destes sistemas para o organismo biológico.

Materiais e métodos

Nanopartículas monodispersas de MFe_2O_4 ($M=Y, Al$) com tamanho igual a 15 nm (Figura 1) foram sintetizados através da decomposição térmica de complexos de ferro (III) na presença de oleilamina⁶.

Nanoesferas contendo as partículas ferromagnéticas de YFeAl foram obtidas através da técnica de polimerização em dispersão. As nanopartículas de YFeAl foram previamente dispersas na solução do monômero epoxídico diglicidil éter de bisfenol A (DGEBA):poliglicerol (1:1). Após homogeneização a 800 rpm por 2 horas adicionou-se a dietilenotriamina (DETA) como agente de cura. O sistema foi transferido para óleo mineral sob forte agitação (1200 rpm) e o sistema aquecido até 130 °C por 15 h. Ao término da reação, as microesferas foram lavadas exaustivamente com etanol, clorofórmio para a remoção de impurezas e secassob vácuo a 50 °C, por 72 horas.

O aspecto morfológico das microesferas foi observado com o auxílio de microscópio eletrônico de varredura (MEV, Phillips XL 30) e a análise de distribuição de tamanhos foi efetuada utilizando o software para aquisição e o tratamento computacional de imagens para análise da distribuição de tamanhos.

O ensaio da citotoxicidade das nanoesferas híbridas orgânicas-inorgânicas de YFeAl foi realizado utilizando-se células de ovário de hamster chinês, ATCC CHO K₁ (American Type Culture Collection)⁷.

Resultados e discussão

O processo de encapsulamento das partículas magnéticas obtidas neste trabalho é de fundamental importância para a obtenção de materiais implantáveis com propriedades biocompatíveis. A importância de polímeros DGEBA curado por DETA como biomateriais se deve à sua inércia química e compatibilidade com o sangue, como demonstrado em nossas publicações mais recentes⁸.

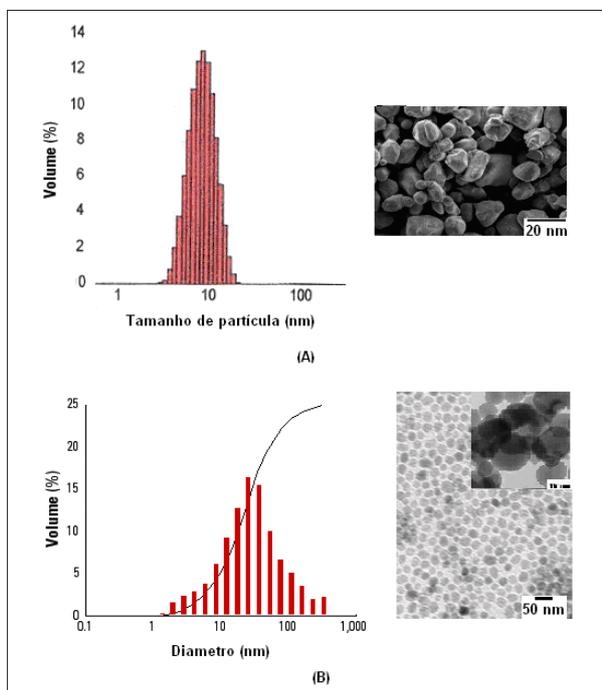


Figura 1. Distribuição do tamanho de partículas e micrografias do microscópio eletrônico de varredura (MEV) de partículas de YFeAl (A) e microesferas do nanocompósito DGEBA/YFeAl (B).

A Figura 1 ilustra as micrografias MEV das nanopartículas de YFeAl e as microesferas de DGEBA/YFeAl obtidas neste trabalho. Com relação à distribuição de tamanho das partículas de YFeAl (Fig. 1A) observa-se um tamanho médio em torno de 15 nm. Um dos fatores mais importantes na obtenção de nanopartículas para tratamento de hipertermia magnética é a distribuição dos tamanhos das partículas. A síntese de nanoesferas ferromagnéticas neste trabalho tem levado a uma distribuição de tamanhos de partículas relativamente homogênea. A distribuição homogênea quanto ao tamanho das partículas favorece o processo de conversão da energia magnética em calor uma vez que os proporciona uma distribuição homogênea da temperatura dentro do tecido tumoral.

As nanoesferas de DGEBA/YFeAl (Fig. 1B) apresentam uma distribuição de tamanhos entre 30 e 60 nm. O diâmetro médio dos capilares sanguíneos do fígado situa-se entre 4 a 16 μm logo, o diâmetro das nanoesferas obtidas neste trabalho parece ser conveniente para o tratamento de tumores malignos presentes no fígado através da técnica de hipertermia.

As propriedades magnéticas das amostras exibiram superparamagnetismo com valor de magnetização de saturação de -53,7 meu/g (Fig. 2).

Considerando-se a área sob a curva na Figura 2, calculou-se a energia magnética presente nas cerâmicas ferromagnéticas quando estas foram submetidas a um campo magnético. A Figura 3 mostra a energia de magnetização em função da concentração de ferro. Observa-se uma forte dependência da energia magnética estocada em função da concentração de Ferro (mol %).

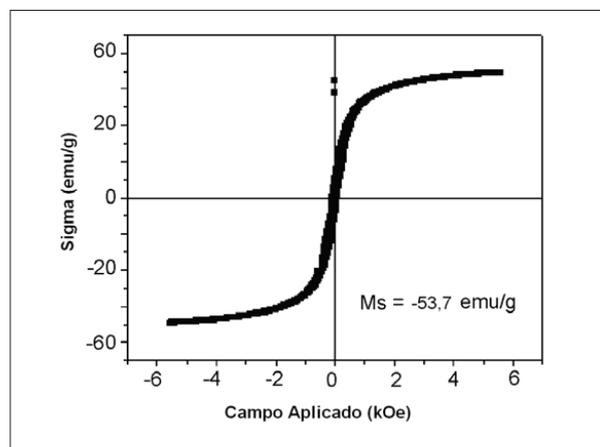


Figura 2. Curva de histerese à temperatura ambiente (25 °C) dos nanopós de YFeAl.

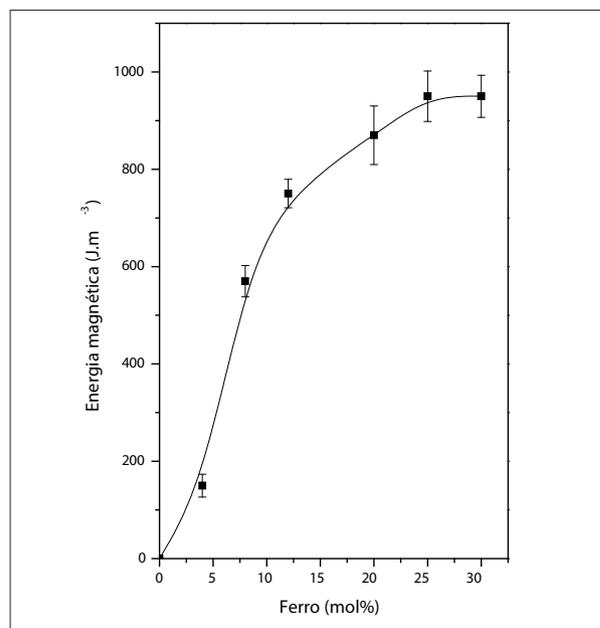


Figura 3. Energia Magnética (J.m^3) versus concentração de Ferro (mol%).

O ensaio de citotoxicidade de biomateriais é efetuado conforme a ISO 10.993-part 5. A linhagem celular recomendada é que seja uma linhagem celular estabelecida de mamíferos obtida de um repositório reconhecido como o American Type Culture Collection (ATCC). É utilizada no ensaio uma cultura de células de ovário de hamster chinês (ATCC CHO K1).

Na Figura 5, são apresentadas as curvas de viabilidade celular das nanoesferas magnéticas de YFeAl. As amostras apresentaram comportamento semelhante ao controle negativo, não tóxico, com $\text{IC}_{50\%}$ maior que 50%.

Conclusões

Nanopartículas magnéticas de 15 nm foram encapsuladas por DGEBA e curadas com DETA. Nanoesferas com

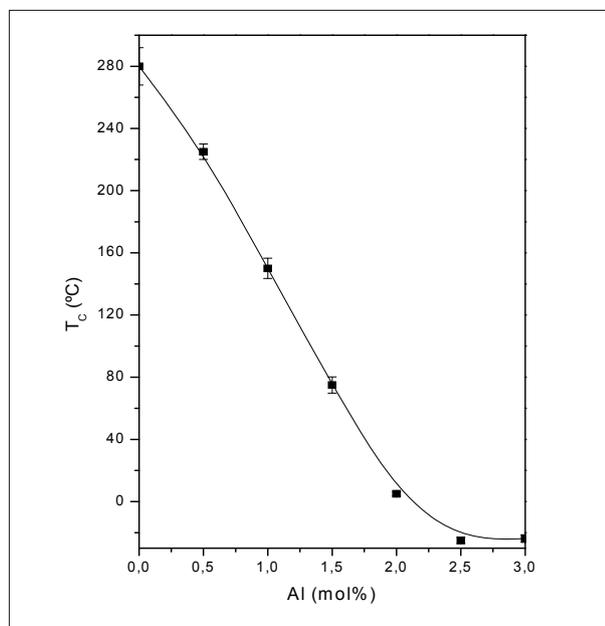


Figura 4. Dependência da temperatura de transição de Curie (T_c) de cerâmicas YFeAl em função da composição de Al.

distribuição de tamanhos entre 30-60 nm, transportadoras das partículas magnéticas YFeAl foram obtidas e caracterizadas quanto às suas propriedades magnéticas e biocompatíveis. A microscopia eletrônica de varredura indicou uma distribuição monomodal de tamanho e temperatura de transição de Curie dependente da composição da cerâmica YFeAl. Ensaios biológicos indicam que o nanocompósito obtido não afetou o crescimento de células de mamíferos e ao mesmo tempo apresentou temperatura de transição de Curie dependente da composição de Al na cerâmica. Esses resultados sugerem que as nanopartículas de $Y_3Fe_{5-x}AlxO_{12}$ encapsuladas pelo sistema DGEBA/DETA representam uma alternativa promissora no tratamento de tumores malignos através da magneto-hipertermia.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos aos órgãos de fomento à pesquisa Finep, CNPq, Capes e Fapemig pelo auxílio financeiro ao desenvolvimento deste projeto. Também fica expresso nosso agradecimento à FUPAI pelo auxílio fornecido para participação do XIV Congresso Brasileiro de Física Médica.

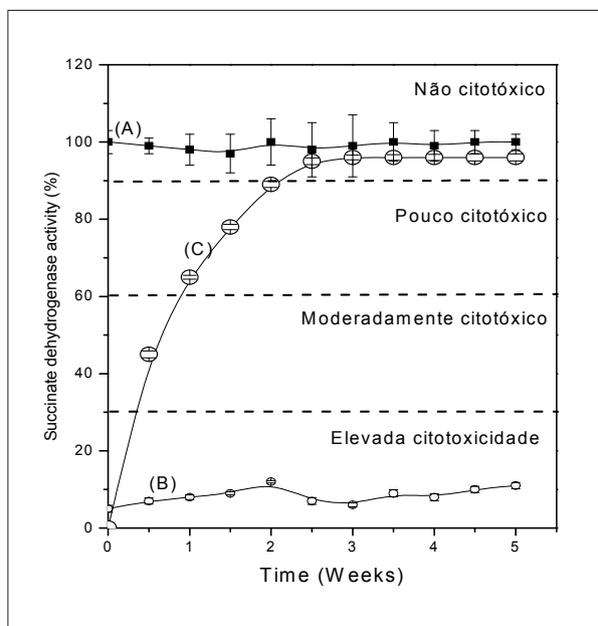


Figura 5. Citotoxicidade das nanocapsulas magnéticas DGEBA/YFeAl (C). Em (A) e (B) tem-se os controles positivos e negativos, respectivamente.

Referências

1. Modalities of Cancer Therapy. [homepage da internet] [citado 2009 Aug 13]. Disponível em: <http://www.merck.com/mmpe/sec11/ch149/ch149b.html#CACFCFDG>
2. Overgaard, J. The current and potential role of hyperthermia in radiotherapy. *Intern J Rad Onc Biol Phys* 1989; 6: 535-49.
3. Vernon C. Hyperthermia in cancer growth regulation Phase III. *Biotherapy* 1992;4(4):307-15.
4. Tartaj P, Morales MP, Veintemillas-Verdaguer S, Gonzales-Carreño T, Serna JC. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J Phys D: Appl Phys* 2003;36:R182-R197.
5. Sun S, Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. *J Am Chem Soc.* 2002;124(28):8204-5.
6. Queiroz AAA, Passos ED, Silva MR, Higa OZ, Bressiani AHA, Bressiani JC. Biocompatible superparamagnetic nanospheres for the cancer treatment. Apresentado no III Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais (COLA0B). Campinas (SP), 2004, p. 182.
7. International Organization for Standardization. "Biological evaluation of medical devices tests for cytotoxicity: in vitro methods", ISO 10993-5 (1999 E).
8. Garcia FG, Leyva ME, Queiroz AAA, Higa OZ. Epoxy networks for medicine applications: mechanical properties and in vitro biological properties. *J Appl Polym Sci.* 2009;112:1215-25.