

Pontos quânticos magneto ativos: uma nova fronteira para a medicina terapêutica e diagnóstica

Magnetoactive quantum dots: a new frontier for diagnostic and therapeutic medicine

Vinícius F. Castro¹, Alvaro A. Queiroz²

¹Universidade Federal de Itajubá/Laboratório de Biomateriais, Itajubá (MG), Brasil

²Laboratório de Biomateriais, Instituto de Ciências Exatas/Universidade Federal de Itajubá, Itajubá (MG), Brasil

Resumo

Este trabalho descreve a obtenção e caracterização de nanoesferas orgânicas biocompatíveis baseadas em polímero epoxídico como transportadoras de cerâmicas magnetoativas de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ (YFeAl) revestidas por pontos quânticos de ZnS. As nanopartículas de YFeAl/ZnS foram obtidas e purificadas utilizando dendrímeros de poliglicerol como microestrutura digitalizadora *in-situ*, uma técnica adaptada do método de obtenção de ZnS pela técnica do poli-ol. Após purificação por ultrassom, o nanocompósito YFeAl/ZnS foi revestido com o polímero epoxídico biocompatível diglicidil éter do bisfenol-A (DGEBA) utilizando técnica de polimerização interfacial para formação de nanoesferas. A microestrutura e o tamanho das nanoesferas transportadoras de YFeAl/ZnS foram determinados através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando-se software de análise de imagens. A fluorescência das nanoesferas transportadoras de YFeAl/ZnS foi observada utilizando-se a microscopia de epifluorescência e sua intensidade foi analisada através da espectroscopia de fluorescência. Esse trabalho é uma etapa precedente que envolve o preparo e a caracterização de nanoesferas multifuncionais para a caracterização e a terapia de tecido neoplásico.

Palavras-chave: magneto-hipertermia, pontos quânticos, ZnS, cerâmicas ferromagnéticas.

Abstract

This work describes the preparation and characterization of magnetoactive and fluorescent polymeric nanospheres for therapeutic and diagnostic medicine. Magnetic and fluorescent nanospheres containing magnetoactive and fluorescent ceramics (YFeAl/ZnS) were prepared by inter-facial polymerization of epoxidic polymer based on the ether diglycidic of bisphenol A (DGEBA). The microstructure and size distribution of the nanospheres were determined by scanning electron microscopy (SEM) using image analysis software. The spherical nanoparticles with smooth surfaces and moderately uniform size distributions were obtained. The fluorescence of the nanospheres was observed using the epifluorescence microscopy and its intensity was analyzed by fluorescence spectroscopy. In-vitro experiments of magnetic mobility under external magnetic field and fluorescence spectroscopy results indicated that the magnetic and fluorescent nanospheres obtained in this work can be a highly versatile nanosystem for the therapeutic and cancer diagnosis.

Keywords: magnetic-hyperthermy, quantum dots, ZnS, ferromagnetic ceramics.

Introdução

A nanotecnologia e a nanociência (N&N) representam um novo patamar de conhecimento, proporcionando significativos impactos científicos e tecnológicos em diversas áreas da atividade humana a exemplo da agricultura, energia, preservação ambiental e saúde pública. A nanotecnologia pode ser entendida como o estudo, a manipulação, a construção e os impactos de materiais ou estruturas que estão normalmente na escala abaixo de cem nanômetros e que têm propriedades que são

dependentes única e exclusivamente desta escala de tamanho.

As aplicações da nanotecnologia na área da saúde proporcionaram o surgimento de uma nova área na medicina denominada nanomedicina. A nanomedicina é um dos ramos mais promissores da medicina contemporânea e tem proporcionado uma série de desenvolvimentos para o diagnóstico e terapias para prevenir e tratar doenças hereditárias entre outras, terapia celular e fármacos inteligentes que se reverte em significativas melhorias da qualidade de vida da população.

Correspondência: Vinícius Fortes de Castro, Rua Guilhermina Rennó da Silva, 51, Itajubá (MG), CEP 37502024, Brasil – E-mail: vfc_mg@yahoo.com.br

Anunciada como uma nova revolução tecnológica na medicina, nanomateriais denominados de pontos quânticos estão sendo utilizados como marcadores biológicos fluorescentes para o diagnóstico por imagem de células cancerígenas¹. Uma grande variedade de pontos quânticos baseados no CdS e ZnS tem sido testados como marcadores fluorescentes para o mapeamento de neoplasias.

Atualmente nosso grupo tem se dedicado ao desenvolvimento de processos de obtenção de pontos quânticos de ZnS utilizando polímeros de microestrutura digitalizada e moléculas altamente ramificadas denominadas dendrímeros².

Embora a aplicação de pontos quânticos para a área de imagem médica seja promissora, a biocompatibilidade destes materiais tem despertado a preocupação não somente dos cientistas de biomateriais, mas também da própria comunidade médica.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido técnicas de encapsulamento de nanopartículas magnéticas com polímeros orgânicos hemocompatíveis para utilização em magneto-hipertermia³.

O revestimento de partículas magnéticas de YFeAl com pontos quânticos do tipo ZnS surgem como uma ferramenta com elevado potencial para o tratamento do câncer com características duais ao nível terapêutico e de diagnóstico. Neste contexto, o presente trabalho descreve

a obtenção e caracterização de nanoesferas orgânicas biocompatíveis como transportadoras de cerâmicas magnetoativas de YFeAl revestidas por pontos quânticos de ZnS encapsulados em polímero epoxídico. O sistema obtido representa um passo importante no desenvolvimento de sistemas de nano-entrega direta ao tumor expandindo significativamente o potencial da medicina terapêutica e diagnóstica no tratamento do câncer.

Material e Métodos

Partículas magneto-ativas de $Y_3Fe_{5-x}Al_xO_{12}$ (YFeAl) foram obtidas utilizando a técnica da decomposição térmica de complexos de Fe(II)³. As nanopartículas de YFeAl obtidas e purificadas foram revestidas por pontos quânticos de ZnS utilizando dendrímeros de poliglicerol como microestrutura digitalizadora *in-situ*, uma técnica adaptada do método de obtenção de ZnS pela técnica do polioli publicada recentemente por nosso grupo de pesquisa². Após purificação por ultrassom, o nanocompósito YFeAl/ZnS foi revestido com o polímero epoxídico DGEBA, biocompatível, utilizando a técnica de processos de polimerização em suspensão⁴. A Figura 1 ilustra o princípio da técnica.

A forma e o tamanho das partículas de YFeAl/ZnS foram determinados pela microscopia eletrônica de varredura (MEV, Philips XL 30), sendo o tamanho e o desvio padrão estimados a partir da análise de imagens 200 partículas.

Para a aquisição de imagens, foi utilizado o sistema computacional Hlimage ++ (Western Vision Software Salt Lake City, UT, EUA, 1997).

As nanoesferas transportadoras de YFeAl/ZnS foram visualizadas em microscópio de epifluorescência Zeiss Axioplan com lâmpada Osram HPG 50W equipado com conjunto de filtros ópticos UV (BP 365/11 FT 395 LP 397 - 487901) e filtro HQ:CY3 (HQ 545/30, 610/75, Q570/p). As imagens foram capturadas das lâminas utilizando câmera de vídeo CCD Watec, com sensibilidade luminosa de $3,0 \cdot 10^{-4}$ lux.

Os espectros de fluorescência das nanoesferas transportadoras do nanocompósito YFeAl/ZnS foram obtidos em um espectrofluorímetro da marca Perkin Elmer modelo 204 A. A largura da fenda foi mantida em 10 nm tanto para a obtenção dos espectros de excitação como para a obtenção dos espectros de emissão. Todas as medições foram realizadas a temperatura ambiente (27°C) sob atmosfera normal (105 kPa).

Resultados

A morfologia das nanoesferas de polímeros epoxídico transportadoras do nanocompósito de YFeAl/ZnS foi analisada através da microscopia MEV. A Figura 2 mostra micrografias MEV das nanoesferas do polímero epoxídico puro e nanoesferas contendo o nanocompósito

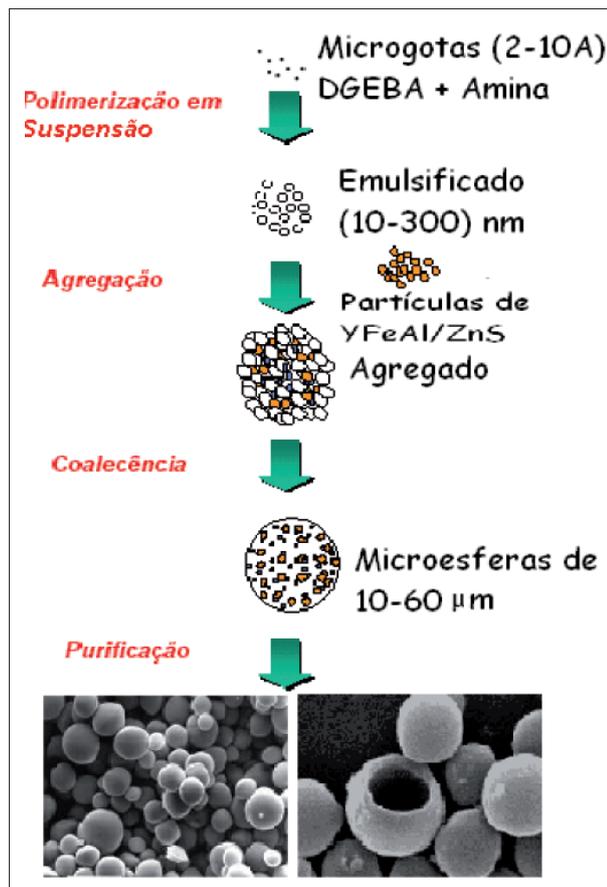


Figura 1. Ilustração do processo de obtenção do nanocompósito YFeAl/ZnS encapsulado com o polímero epoxídico DGEBA [3].

fluorescente YFeAl/ZnS. Através das análises MEV observam-se superfícies lisas e aparentemente sem a presença de poros indicando que o nanocompósito YFeAl/ZnS preenche o volume livre entre as cadeias do polímero epoxídico sem causar a deformação das nanoesferas.

Um dos fatores mais importantes para o tratamento de neoplasias através da hipertermia magnética é a distribuição dos tamanhos das partículas. Uma distribuição de tamanhos homogênea favorece a terapia por hipertermia uma vez que proporciona uma distribuição homogênea da temperatura dentro do tecido tumoral.

A Figura 3 mostra a distribuição do tamanho das nanoesferas de YFeAl/ZnS encapsuladas com o polímero epoxídico biocompatível. Observa-se uma distribuição média de tamanho de partículas no intervalo entre 50-60 nm para as nanoesferas do polímero epoxídico puro e 25-50 nm para as nanoesferas carregadas com as nanopartículas ativas magnetotóxicamente. Uma vez que o diâmetro médio dos capilares sanguíneos situa-se entre 4 a 16 μm o diâmetro das nanoesferas de polímero epoxídico transportadoras de YFeAl/ZnS obtidas neste trabalho parece ser conveniente para o diagnóstico e tratamento de processos que envolvam a angiogênese tumoral.

A Figura 4 mostra a micrografia de epifluorescência de nanoesferas do polímero epoxídico contendo YFeAl/

ZnS. As micrografias foram obtidas no estado sólido e, em solução tampão fosfato-salina (PBS) pH 7.0 simulando o fluido fisiológico humano. As amostras foram excitadas a 350 nm. Observa-se que as nanoesferas do polímero epoxídico contendo YFeAl/ZnS exibem uma intensa fluorescência (Figura 5). Uma vez que as nanoesferas do polímero epoxídico puro não são fluorescentes, as propriedades fluorescentes observadas correspondem aos pontos quânticos ZnS sobre a superfície da cerâmica ferromagnética YFeAl.

Observa-se ainda nas imagens de epifluorescência que não existe extinção significativa na luminescência das nanoesferas carregadas com a cerâmica magneto-oticamente ativa em função da constante dielétrica do meio indicando que as nanoesferas carregadas com YFeAl/ZnS podem ser utilizadas como um biomarcador efetivo para aplicações na medicina diagnóstica.

A Figura 5 apresenta a intensidade de luminescência observado à temperatura ambiente (27°C) das nanoesferas do polímero epoxídico carregadas com YFeAl/ZnS (A) e de nanoesferas do polímero epoxídico puro (B). Observa-se uma larga banda de emissão a aproximadamente 580 nm (λ_{max}). O pico de emissão observado deve-se a vacâncias de Zn^{+2} presentes nos pontos quânticos de ZnS que revestem a superfície da cerâmica ferromagnética de YFeAl. Por sua vez, a largura do pico de emissão deve-se

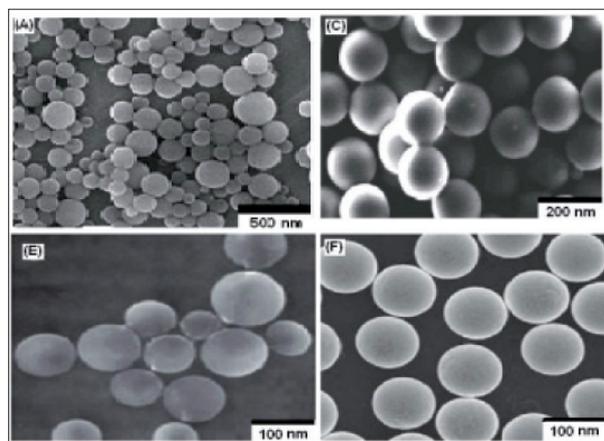


Figura 2. Micrografias MEV dos sistemas: DGEBA/YFeAl (A), DGEBA/ZnS (C), DGEBA (E, F).

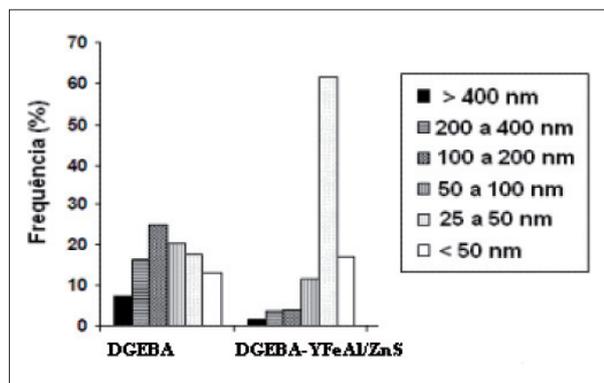


Figura 3. Distribuição de tamanhos de partículas (%) das nanoesferas do polímero epoxídico (DGEBA) carregadas com YFeAl/ZnS.

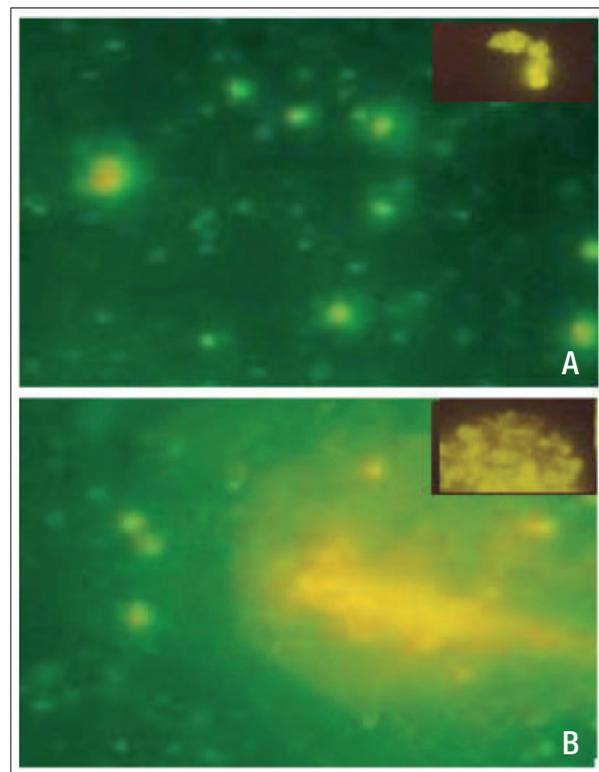


Figura 4. Micrografia de epifluorescência de nanoesferas de DGEBA-YFeAl/ZnS no estado sólido (A) e em solução fisiológica PBS (B). As micrografias de epifluorescência foram obtidas com objetivas com aumento de 1000x. As amostras foram excitadas com luz de comprimento de onda de 350 nm.

provavelmente à distribuição de tamanho de partículas de YFeAl/ZnS não monomodal.

A Figura 6 ilustra o espectro de luminescência das nanoesferas do polímero epoxídico carregado com o nanocompósito YFeAl/ZnS no estado sólido (Fig. 6-A) e em solução fisiológica pH 7.0 (Fig. 6-B). Observa-se um

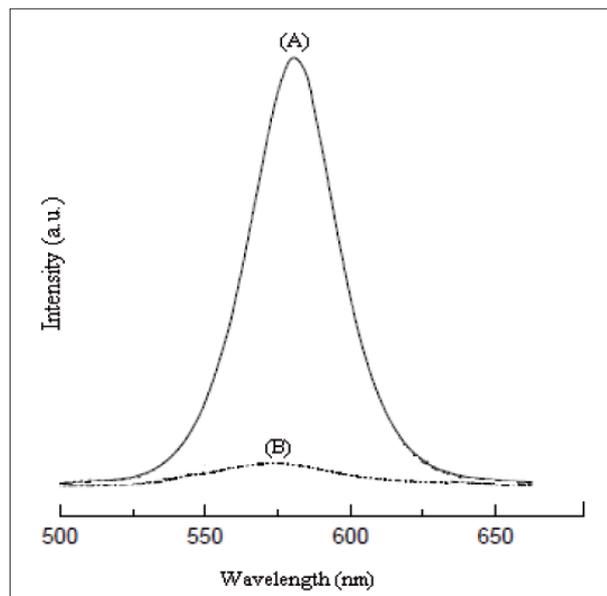


Figura 5. Espectro de fluorescência de nanoesferas transportadoras de nanopartículas YFeAl/ZnS (A) e nanoesferas do polímero epoxídico puro (B).

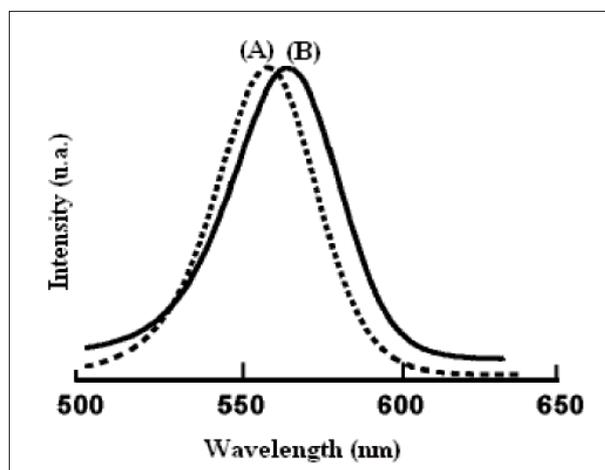


Figura 6. Espectro de fluorescência de nanoesferas transportadoras de nanopartículas YFeAl/ZnS no estado sólido (A) e em solução fisiológica PBS pH 7.0 (B). As medidas foram efetuadas à temperatura ambiente (25°C).

pequeno deslocamento para o vermelho devido possivelmente ao processo de transferência de energia entre os pontos quânticos ZnS na superfície da cerâmica YFeAl associado possivelmente à variação da constante dielétrica do meio.

Discussão e Conclusões

As nanopartículas magneto-ativas de YFeAl/ZnS podem ser utilizadas como um biomarcador efetivo para aplicações na medicina diagnóstica, sendo que suas propriedades óticas são elementos diferenciáveis na visualização do tecido neoplásico. Através das análises MEV observou-se uma distribuição de tamanhos numa faixa de 25-50 nm, com superfícies lisas e aparentemente sem a presença de poros indicando que o nanocompósito YFeAl/ZnS preenche o volume livre entre as cadeias do polímero epoxídico sem causar a deformação das nanoesferas. As nanoesferas magneto-oticamente ativas preparadas demonstraram, através dos ensaios *in-vitro* realizados, que a introdução de receptores tumorais em sua superfície possibilitará uma variedade de aplicações na medicina terapêutica e diagnóstica do câncer, relacionando sensoriamento de espécies bioquímicas, transporte de fármacos e localização das neoplasias através das características óticas do ponto quântico ZnS.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fapemig pelo apoio financeiro concedido a este trabalho (APQ 01164-08).

Referências

1. Yong KT, Qian J, Roy I, Lee HH, Bergoy EJ, Trampusch KM, et al. Prasad. Quantum Rod Bioconjugates as Targeted Probes for Confocal and Two-Photon Fluorescence Imaging of Cancer Cells Nano Lett. 2007;7(3): 761–5.
2. Queiroz AAA, Passos ED, Alves SB, Silva GS, Higa OZ, Vítolo M. Alginate-poly(vinyl alcohol) core-shell microspheres for lipase immobilization. Journal of Applied Polymer Science. 2006;102(2): 1553–60.
3. Castro VF, Celestino J, Queiroz AAA, Garcia FG. Propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanocompósitos para utilização em magneto-hipertermia. Rev Bras Fis Med. 2010;4(1):79-82.
4. Passos ED. Síntese e Caracterização de Microesferas Ferromagnéticas para Utilização em Hipertermia. [dissertação];2006.