

Nanoradiofármacos: avaliação e citotoxicidade

Roberta de Souza Prado e Ralph Santos-Oliveira
Instituto de Engenharia Nuclear - IEN

INTRODUÇÃO

Nano partículas de sílica mesoporosa, como aptâmeros, possuem boas propriedades carreadoras e de endocitose, o que resulta em aumento da substância que é carregada para as células cancerosas se comparada com a mesma substância pura na mesma dosagem e eficiência. Essas propriedades são importantes para o desenvolvimento do nano composto para alguns tipos de câncer, principalmente fígado e pulmão¹. Nano partículas de sílica mesoporosa (MSNs) são propostas como carreadoras de fármacos, bem como partículas eficientes para rastreamento por células fluorescentes. Aptâmeros contra MUC1 bem caracterizado marcador tumoral foram usados nesse estudo. Assim, os aptâmeros são utilizados neste estudo para demonstrar a incorporação das partículas de sílica e criar a possibilidade de existirem estudos em modelos de câncer, futuramente.

OBJETIVO

Avaliar a citotoxicidade de nanoradiofármacos impregnados com aptâmeros.

METODOLOGIA

Após a obtenção da sílica mesoporosa seca (SBA-15), uma solução de 10% de aptâmeros dissolvidos em solução de NaCl foi adicionada a sílica e agitada por 30 minutos para a completa impregnação dos poros de sílica. As linhagens de células utilizadas foram MDA-MB-435 (melanoma humano), HCT-8 (adenocarcinoma coloretal humano) e SF-295 (glioblastoma humano). As amostras foram cultivadas em meio adequado. 1mg/ml.

A citotoxicidade foi testada pelo método MTT. As células foram plaqueadas em 96 placas com as seguintes densidades: $0,7 \times 10^5$ (HCT-8), $0,1 \times 10^6$ (SF-295) and $0,1 \times 10^6$ (MDA-MB-435). As amostras foram incubadas com as células por 72 horas em uma única concentração de 5 mg/ml em uma incubadora com 5% de CO₂ a 37°C. No fim da incubação, elas foram centrifugadas e foi removido o sobrenadante. Em seguida, 150 µl de solução de MTT (sal de tetrazólio) foram adicionadas e as placas foram incubadas por 3 horas. Depois disso, elas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido, deixando um precipitado azul – formazan. Foi feita a ressuspensão do sedimento em 150 µl de DMSO (dimetil sulfoxido) estéril e agitado por aproximadamente 20 minutos até completar a dissolução do precipitado. A absorbância foi lida por espectrofotômetro a 595 nm de comprimento de onda. Doxorubicina (Dox) foi usada como controle positivo.

Os experimentos foram analisados de acordo com seus meios e respectivos intervalos de confiança de uma regreção não linear. As amostras foram testadas em triplicata em dois experimentos independentes. Uma escala de intensidade foi usada para checar o potencial citotóxico de uma amostra testada. As amostras foram classificadas em: sem atividade (NA), com baixa atividade (LA, inibição do crescimento celular variando de 10 a 50%), com atividade moderada (MA, inibição do crescimento celular variando de 50 a 70%) e com alta atividade (HA, inibição do crescimento celular de 75 a 100%).

Linhagem de células humanas de câncer de mama MDA-MB 468 foi cultivada em meio adequado.

Cada amostra foi feita em duplicata. Para cada amostra, 150 µg de nano esferas de silício foram adicionadas a 15 µg de cada aptâmero marcado com FITC (AptF), diluído em 150 µl de meio isento de soro e agitada por 15 minutos. 468 células MDA-MB foram lavadas duas vezes em HBSS livre de cálcio para remover células mortas e cada complexo de aptâmero/sílica mesoporosa foram adicionados às células. Após incubação com as células por 1h a 37°C em 5% de CO₂, os complexos de aptâmeros/sílica mesoporosa foram removidos e substituídos com duas lavagens com meio isento de soro.

RESULTADOS

Os resultados dos testes de cito toxicidade (tabela 1) mostram que a sílica mesoporosa não é citotóxica. Assim, nós podemos propor que podem ser usados para imagem de tumor e terapia do câncer desde que usado com isótopo de alta energia como Samarium-153.

Tabela 1 – Porcentagem de inibição de crescimento celular em três linhas de células tumorais simples testadas com concentração única de 5 µg / ml, usando sílica mesoporosa.

Sample	HCT-8	MDAMB-435	SF-295
N ^o Identification	IC% (average)	IC% (average)	IC% (average)
1 SBA-15	8,69% (LA)	NA	NA
2 SBA-15/HAP_1	8,71% (LA)	NA	NA
3 SBA-15/HPA_2	8,8% (LA)	NA	NA
2 DOX (positive control)	97,30 % (HA)	96,94 % (HA)	87,67 % (HA)

Experimentos de microscopia fluorescente de aptâmeros marcados – impregnados com sílica mesoporosa mostrou que essas nano partículas mantiveram sua capacidade de aderir e internalizar dentro das células

cancerígenas com sucesso. Isso tem sido demonstrado para sílica mesoporosa, mas a incubação com aptâmeros fluorescentes específicos para marcador de tumor MUC1 demonstrou a capacidade do complexo de aderir e internalizar para dentro das células, embora não seja claro se isso continua sendo uma propriedade das nano partículas de sílica, ou é devido à endocitose mediada pelo receptor resultante da ligação do aptâmero para seu alvo MUC1, ou uma combinação de ambos.

CONCLUSÕES

Apesar de serem preliminares, os resultados são bastante interessantes. Obteve-se sucesso na formação de MSNs e respectiva rotulagem de aptâmeros e radionuclídeos e revelaram propriedades únicas que suportam a sua utilização na concepção de agentes terapêuticos e imagens. Assim, propomos que o uso de MSNs como nanoradiofármacos podem mudar drasticamente o cenário global da oncologia e medicina nuclear.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Jain KK. Nanotechnology-based drug delivery for cancer. *Technol Cancer Res Treat* 2005, 4(4):407-16
- 2- Reuvenie T, Motie M, Romman Z et al. Targeted gold nanoparticles enable molecular CT imaging of cancer: an in vivo study. *Int J Nanomed*, 2011, 6:2859-64.
- 3- Farokhzad OC, Langer R. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano*, 2009, 27(3):16-20.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq, CNEN, FAPERJ.