

Efeitos citotóxicos de nanopartículas de ouro conjugadas a biomoléculas em leucócitos circulantes humanos

Mayara K. Uchiyama^{*1} (PG), Daiana K. Deda¹ (PG), Koiti Araki¹ (PQ), Simone M. Bolonheis² (PQ), Sandra H. P. Farsky² (PQ)

mayara.uchiyama@usp.br

¹ Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia - Instituto de Química – Universidade de São Paulo

² Laboratório de Toxicologia Experimental - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo

Palavras Chave: nanopartícula de ouro, citotoxicidade, viabilidade celular

Introdução

Nanobiomateriais (NBMs) formados por nanopartículas de ouro (AuNPs) conjugadas a biomoléculas tem sido o foco de intensa pesquisa, tendo-se em vista o desenvolvimento de novas tecnologias em diagnóstico e tratamento de doenças, entrega direcionada de fármacos, vetores de transfecção e biossensores¹.

Todavia, para viabilizar a utilização dessas novas tecnologias é imprescindível avaliar os efeitos desses NBMs no organismo, como sua toxicidade, farmacocinética, biodistribuição, depósito, possíveis interações cruzadas, degradação, etc. Tais efeitos são modulados, principalmente, pelo tamanho, potencial zeta e pelas biomoléculas presentes na superfície das nanopartículas de ouro.

Assim, neste trabalho foram avaliados os efeitos citotóxicos de AuNPs recobertas com citrato (ct-AuNP) e conjugadas a proteínas e polímeros biocompatíveis em células mono- e polimorfonucleares obtidas de sangue humano.

Resultados e Discussão

As ct-AuNPs foram sintetizadas através do tradicional método de Turkevich², no qual o H₂AuCl₄ é reduzido pelo citrato. Os NBMs foram preparados através do ancoramento espontâneo das proteínas ou polímeros sobre a superfície da AuNP. Ambos foram caracterizados por espalhamento dinâmico de luz (DLS), espectroscopia UV-Vis e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Figura 1).

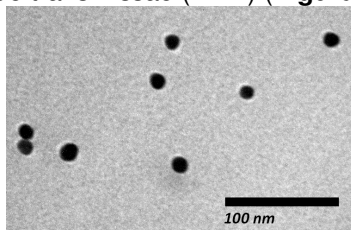


Figura 1. Imagem MET de amostra de suspensão de ct-AuNPs preparado por deposição sobre grade de cobre e película de Kapton.

Após a separação das células mononucleares e polimorfonucleares do sangue, 10⁶ células foram incubadas por 18hs em meio

RPMI com 100µL de cada suspensão dos NBMs. A viabilidade celular foi avaliada através da 1) marcação com azul de tripano e também por 2) citometria de fluxo, utilizando anexina e iodeto de propídio como indicadores de apoptose e necrose, respectivamente.

O método 1 indicou a viabilidade de cerca de 90% das células independentemente do NBM. Resultados mais interessantes foram obtidos pelo segundo método como mostrado na Figura 2. Nota-se um significativo aumento dos índices tanto de necrose quanto de apoptose induzida pelas ct-AuNPs. As BSA-AuNPs e PEG-AuNPs apresentaram citotoxicidade significativamente menores e maior tendência à indução de necrose.

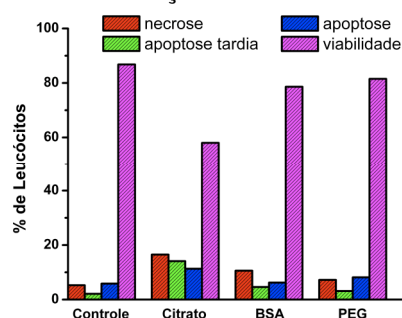


Figura 2. Percentagens de leucócitos circulantes viáveis e em processo de necrose, apoptose e apoptose tardia, obtidas por citometria de fluxo.

Conclusões

A modificação das AuNPs com BSA e o polímero biocompatível PEG diminuiu significativamente a citotoxicidade, influenciando também no mecanismo de morte celular. A maior citotoxicidade do ct-AuNP pode ser atribuída a sua maior reatividade com biomoléculas, particularmente aquelas contendo grupos tiol, imidazol e derivados N-heterocíclicos.

Agradecimentos

Agradecemos a agência financiadora FAPESP.

¹ Yen, H.-J.; Hsu, S.-h. e Tsai, C.-L. *Small J.* **2009**, 5, No. 13, 1553-1561.

² Turkevich, J; Stevenson, P. C. e Hillier, J. *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, 11, 55.