

Utilização de Nanopartículas de Ouro Associadas a Fotossensibilizadores em Terapias da Aterosclerose

Bruna Henrique Teixeira e Lilia Coronato Courrol
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

A aterosclerose é uma doença degenerativa crônica que acomete artérias de médio e grande calibre caracterizadas pela presença de lesões com aspectos de placas ou ateromas. É a causa primária de doenças cardiovasculares e infarto, que por sua vez representam a principal causa de morte por doença no mundo. A oxidação do LDL (colesterol “ruim”) impede que os macrófagos possam combater esse “corpo estranho” presente na camada íntima do vaso sanguíneo. Esse processo inflamatório e a consequente formação de placas se dá quando células como os macrófagos entram em contato com o LDL. As células espumosas são derivadas dos macrófagos (macrócitos e linfócitos sanguíneos, e células musculares lisas da parede arterial) que contêm gotículas de gordura. Por esta razão o estudo da provocação da morte celular em macrófagos é de extrema importância para tratar a aterosclerose, por meio da eliminação das placas ateroscleróticas.

OBJETIVO

Utilização destas nanopartículas de ouro de dimensões sintetizadas por uma via sintética “verde” (Curcumina), como agentes termo, foto e sonosensibilizadores, a fim de induzir a morte celular das células THP-1 diferenciadas em macrófagos, e assim, reduzir ou eliminar as placas ateroscleróticas de modo não invasivo. A droga composta por nanopartículas de ouro (que com o calor, induzem a morte celular) aliada à Curcumina (elemento natural com propriedades anti-inflamatórias e

reconhecidas como sonosensibilizador [1]) e às terapias sonodinâmica e fotodinâmica, provavelmente resultará em uma eliminação potencializada das placas que obstruem o fluxo sanguíneo. Para que o estudo em humanos futuramente seja possível, uma primeira avaliação de como essa terapia reage na escala microbiológica é de extrema importância.

METODOLOGIA

O HAuCl₄ da Sigma, água destilada Milli-Q e curcumina (açafraão) em pó obtido em lojas do comércio de São Paulo, foram utilizados. A mistura foi irradiada com lâmpada de Hg e foram determinados os seguintes parâmetros:

-melhores concentrações dos reagentes (estequiometria)

-melhores tempos de iluminação.

Depois de preparada, a amostra de nanopartículas de ouro permaneceu na geladeira e sem o contato com a luz, envolta por papel alumínio.

As células humanas THP-1 (terceira passagem-2013) foram previamente descongeladas. A troca de meio foi realizada em aproximadamente de 3 em 3 dias. Após a manutenção do meio, e alcançado um número significativo de células, elas foram cultivadas em meio RPMI 1640 contendo 20% de soro fetal bovino. As células permaneceram em estufa, a 36,7°C. As células são diferenciadas em macrófagos adicionando 75 µL de Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) para 15 mL de meio por 24 horas em placas de 96 poços, e em placas de Petri de

35 milímetros. A contagem de células será realizada após a diferenciação, por meio da Câmara de Neubauer.

RESULTADOS

Primeiramente foi analisada a melhor concentração de ouro a ser utilizada. Em todos os testes foram utilizados 50 mL de água Milli-Q como solvente (Tabela 1).

Testes	Ouro (g)	Curcumina (g)
1	0,0073	0,0387
2	0,0032	0,0406
3	0,0141	0,0384

TABELA 1- Teste de Concentração

Após a análise das amostras no espectrofotômetro Uv-Vis, na faixa de 200nm à 800 nm, foi possível concluir que a amostra do teste 1 apresentou melhores resultados.

Posteriormente, o melhor tempo de irradiação com luz Hg para a produção de nanopartículas foi estudado. As quantidades de ouro e curcumina do teste 1 foram mantidas, porém agora com a estequiometria para 100mL de água Milli-Q. Dez diferentes tempos de irradiação foram propostos: 5 segundos (s), 20s, 40s, 80s, 160s, 320s, 640s, 1280s e 7'20". Uma das amostras não foi irradiada. (Gráfico 1).

De acordo com a literatura [2], quanto mais estreita a curva e mais próximo o pico da curva está de 520 nm, mais esférica é a nanopartícula. Portanto, a curva de 640s foi escolhida como o melhor tempo para a produção de nanopartículas de ouro associadas ao fotossensibilizador (curcumina).

O próximo passo da pesquisa será avaliar a viabilidade da cultura de células humanas da linhagem THP-1 diferenciadas em macrófagos em contato com a amostra de 640s mais as terapias foto e sonodinâmicas será analisada e discutida. Espera-se que

com as drogas e as terapias, o número de células viáveis caia significativamente.

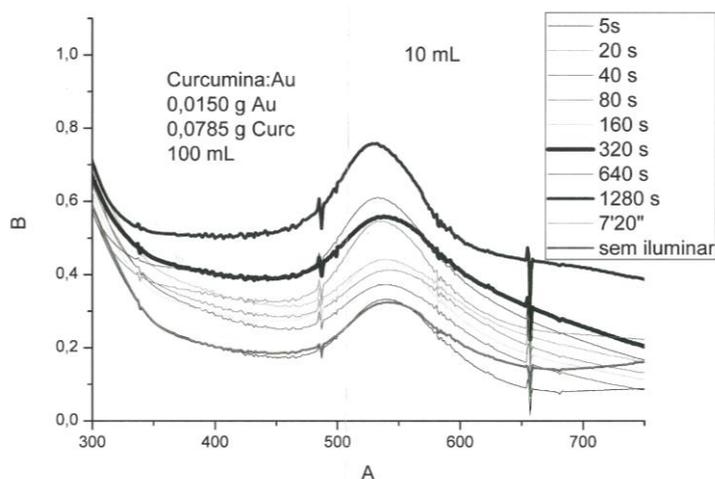


GRÁFICO 1- Teste de irradiação

CONCLUSÕES

A síntese de nanopartículas de ouro a partir de curcumina foi possível. O tempo, de fácil acesso, foi reconhecido como fotossensibilizador. A droga composta por nanopartículas de ouro e curcumina aliada às terapias foto e sonodinâmica possivelmente induzirão a morte celular dos macrófagos (próxima etapa da pesquisa).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Gao, Qianping, et al. "Sonodynamic effect of an anti-inflammatory agent—emodin on macrophages." *Ultrasound in medicine & biology* 37.9 (2011): 1478-1485
- [2] SAMAD, Ricardo Elgul; Bizeto MA; Coronato Courrol, Lilia. Participação em banca de Ricardo de Almeida Matos. Síntese Verde de Nanopartículas de Prata e de Ouro. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Química) - Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

PIBIC/PROBIC- CNPq