

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD 4, 5 y 6 de junio de 2015 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

FERRITAS MAGNÉTICAS COMO AGENTES DE CONTRASTE T2 EN IMAGENOLÓGÍA POR RESONANCIA MAGNÉTICA.

Fernando Arteaga^{a,*}, M. A. Méndez-Rojas^a, S. H. Tobón^b, P. De la Presa^c, R. Costo^d.

^aDepto. de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad de las Américas Puebla,
fernando.artegaca@udlap.mx, miguela.mendez@udlap.mx

^bDiv. de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana -Iztapalapa y
Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, shid@xanum.uam.mx

^cInstituto de Magnetismo Aplicado, Universidad Complutense de Madrid,
pm.presa@pdi.ucm.es

^dInstituto de Ciencia de Materiales de Madrid, Consejo Superior de Investigaciones
Científicas, rcosto@icmm.csic.es

RESUMEN

Se sintetizaron diferentes composiciones de materiales magnéticos blandos (ferritas magnéticas) superparamagnéticos de diferentes composiciones y tamaños, estabilizadas mediante dos rutas diferentes, cargas superficiales y por medio de un biopolímero de carboximetilcelulosa (CMC), para sus posibles aplicaciones como agentes de contraste T2 en MRI. Los materiales que se sintetizaron fueron magnetita (Fe_3O_4), ferrita de manganeso (MnFe_2O_4) y ferrita de manganeso-zinc, con un porcentaje de sustitución del Mn^{2+} por Zn^{2+} del 50% de igual forma ($\text{Zn}_{.5}\text{Mn}_{.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$). Las muestras se colocaron en un gel de agar dentro de tubos falcon y se colocaron en un phantom de 12 muestras para observar el efecto del oscurecimiento de la señal de los protones del agua a diferentes tiempos eco y como los recubrimientos, el tamaño y los dopajes afectaban en dicho oscurecimiento. Existen diversos factores que afectan la eficiencia de un material como agente de contraste, como el tamaño, polidispersividad, recubrimiento, estabilidad en medio acuoso y sus propiedades magnéticas[1].

1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de ferritas magnéticas han tenido un auge en estos tiempos, debido a sus propiedades como el superparamagnetismo, biodegradabilidad y alta área superficial [2], lo que lleva a una inmensidad de usos como bioseparadores, clasificadores de células, transportadoras de fármacos, hipertermia y agentes de contraste en MRI [3], sin embargo, el uso de las nanopartículas magnéticas para contraste en MRI e hipertermia es una de las aplicaciones de mayor interés [4]. El MRI hace uso de los núcleos de hidrógeno, de



VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

4, 5 y 6 de junio de 2015
“Generación de Nuevas Técnicas
de Diagnóstico y Tratamiento”

cualquier molécula que los tenga presentes y su interacción con fuertes campos magnéticos externos y ondas de radio, para producir imágenes del cuerpo humano muy detalladas. Cuando los núcleos de los protones están sometidos a un campo magnético muy fuerte, sus espines se alinean de forma paralela o antiparalela con el campo. Al aplicarse una radio frecuencia de 15-60 MHz, el que se usará en el hospital es de 63 MHz, los protones absorben y pasan a un estado excitado y cuando se deja de aplicar, los protones se relajan, emitiendo la misma energía que absorbieron [5].

Existen dos tipos de relajaciones, la relajación longitudinal (T1) y la relajación transversal (T2), dependiendo del tipo de relajación, los agentes de contraste se clasifican en longitudinales (T1) y transversales (T2) [6]. Los longitudinales se basan en el aumento de la magnetización por la alineación al campo magnético, complejos de gadolinio se usan para esta relajación. Los transversales se basan en el desvanecimiento de la magnetización en el plano XY, donde intervienen los materiales magnéticos [7].

2. PARTE EXPERIMENTAL

La síntesis de los materiales magnéticos se llevó a cabo mediante coprecipitación, ya que es una técnica muy sencilla, no es peligrosa y no se utilizan precursores tóxicos [8], la síntesis de la ferrita de manganeso y manganeso-zinc se llevó a cabo a 100°C, mientras que la síntesis de magnetita se llevó a cabo a temperatura ambiente. Con el objetivo de tener dos tamaños diferentes de partícula se modificó la concentración de la base (1 y 3 M).

La estabilización mediante cargas se llevó a cabo poniendo las nanopartículas en una solución de HNO₃ 2 M por 15 minutos, para después ponerle una solución de Fe(NO₃)₃ 1 M a ebullición por 30 minutos y finalmente volver a poner las nanopartículas en HNO₃ 2 M por otros 15 minutos. La estabilización con CMC se llevó a cabo dejando el material en un solución .25 M del biopolímero por 27 h. La nomenclatura de las muestras está compuesta de los metales en valencia 2+ (Fe, Mn, ZnMn), seguido de la concentración de la base que se utilizó, seguido de su forma de estabilización, AT para la estabilización mediante carga y CMC para la estabilización con el biopolímero.

Los datos de polidispersión, cristalinidad y tamaño promedio fueron obtenidos mediante TEM y difracción de rayos-X, los tamaños promedio y polidispersividad de las muestras se encuentran en la tabla 1. El tamaño promedio se obtuvo contando más de 70 partículas, en la figura 1 se observan las imágenes de TEM de las partículas junto con los picos de

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

4, 5 y 6 de junio de 2015
“Generación de Nuevas Técnicas
de Diagnóstico y Tratamiento”

difracción de rayos-X de dos muestras, claramente la estructura espinela invertida característica de las ferritas. Los tamaños de cristal fueron calculados a partir de la ecuación de Scherrer utilizando el pico más intenso (311) [9]. Los tamaños de la muestra Mn-3M aún no han sido obtenidos.

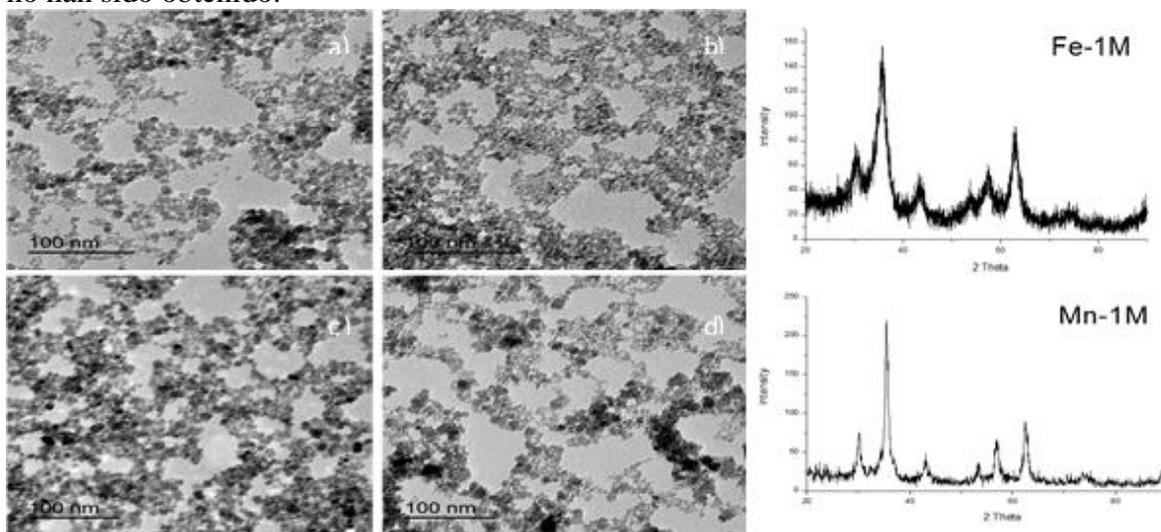


Fig.1 Imágenes de TEM a) Fe_3O_4 -1M, b) Fe_3O_4 -3M, c) $\text{Zn}_5\text{Mn}_5\text{Fe}_2\text{O}_4$ -1M, d) $\text{Zn}_5\text{Mn}_5\text{Fe}_2\text{O}_4$ -3M y patrones de difracción de rayos-X característicos de una estructura espinela inversa

Muestra	Tamaño TEM	Tamaño XRD	Polidispersividad
Mn-1M	18.67 nm	17.12 nm	.248
Mn-3M	-----	-----	-----
ZnMn-1M	16.89 nm	18.28 nm	.240
ZnMn-3M	9.75 nm	10.72 nm	.237
Fe-1M	8.53 nm	7.9 nm	.189
Fe-3M	5.66 nm	6.39 nm	.141

Tabla 1. Tamaños promedios de las muestras obtenidos a partir de TEM, de rayos-X y su polidispersividad

Como se puede apreciar en la gráfica, las muestras presentan baja polidispersividad, lo cual es bueno para aplicaciones biomédicas. Un nanomaterial para que pueda ser considerado para su aplicación en pacientes debe de tener una polidispersión alrededor de 2 [10]. En esa tabla también se puede observar como Zn reduce el tamaño de las nanopartículas.

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD 4, 5 y 6 de junio de 2015 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

Las propiedades magnéticas de las muestras es de gran importancia, entre mayor saturación magnética tenga la muestra, mejor contraste tendrá. Las curvas de histéresis de las muestras se obtuvieron mediante un PPMS DynaCool a temperatura ambiente y a 10 K, la magnetita por su tamaño tan pequeño es la que muestra menor saturación, ya que los efectos de la capa muerta son más importantes en esta. La ferrita de manganeso es la que tiene una mayor saturación, llegando hasta los 60 emu/g aproximadamente. De igual manera, se obtuvieron las curvas de ZFC-FC (zero field cool-field cool) para determinar la temperatura de bloqueo de las nanopartículas, como se puede observar en la Fig.2, todas las muestras son superparamagnéticas a temperatura ambiente, aunque la ferrita de manganeso se encuentra justo en el límite de tamaño para perder dicha propiedad.

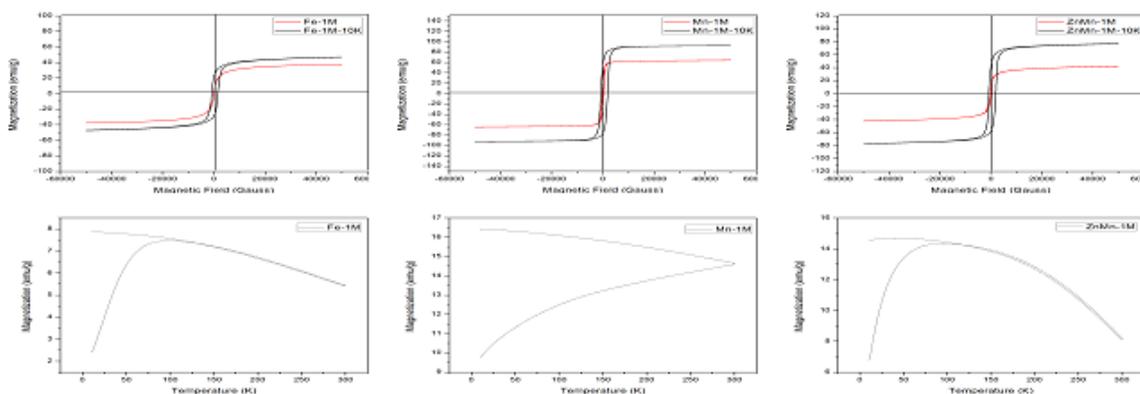


Fig.2 Curvas de histéresis a temperatura ambiente y a 10 K (arriba) y gráficas de ZFC-FC (debajo)

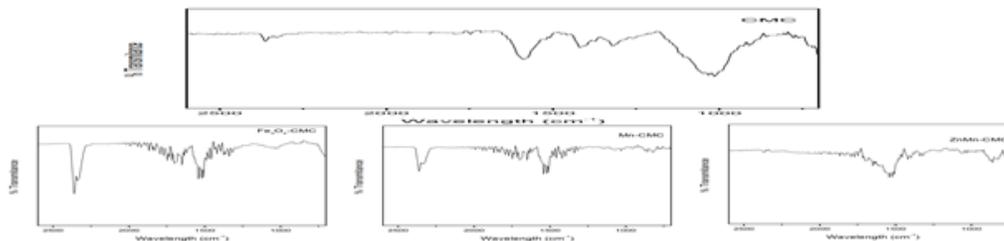


Fig.3 FTIR de la CMC pura (arriba), Fe-1M con CMC (debajo, izquierda), Mn-1M con CMC (debajo, centro) y ZnMn-1M con CMC (debajo, derecha) Se obtuvo el espectro de IR de las muestras para asegurar de que la CMC estuviera presente en las muestras. En la figura 3 se puede observar los espectros de FTIR, donde el primero corresponde a la CMC pura, el pico entre 2,450 cm⁻¹ pertenece al estiramiento C-H del metilo, el pico de 1,590 cm⁻¹ corresponde al estiramiento COO⁻, los picos entre 1,490 y

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

4, 5 y 6 de junio de 2015
 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

1,400 cm^{-1} corresponden al estiramiento simétrico de los C-H del anillo y finalmente el pico a 1,110 cm^{-1} corresponde al estiramiento C-O de los polisacáridos [11]. Como se observa en la figura, principalmente el pico de 1,110 cm^{-1} desaparece totalmente al momento de ponerlo en contacto con la muestra, esto puede indicar que la unión entre la CMC y las ferritas se da por medio del C-O, razón por la cual su vibración normal se encuentra afectada y produce la falta del pico.

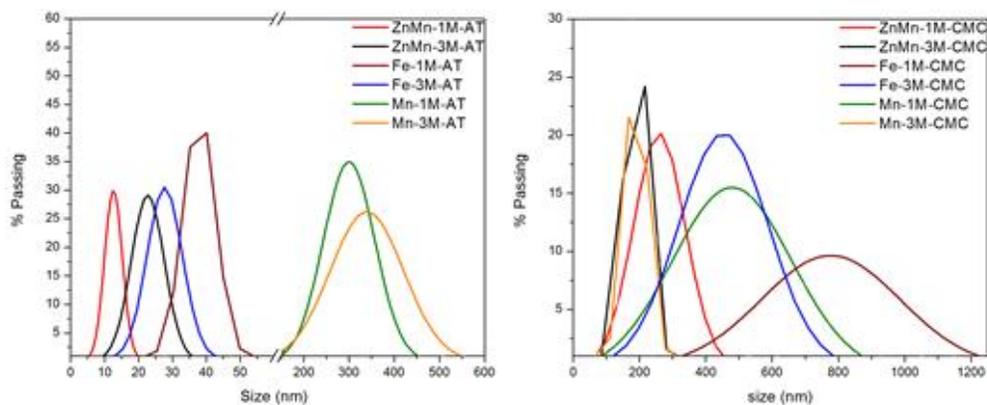


Fig.4 Distribución de tamaños de las nanopartículas en medio acuoso, estabilizadas mediante cargas (izquierda) y mediante CMC (derecha)

Para tener una idea del comportamiento de las nanopartículas en medios acuosos, como la sangre, se realizó un DLS de las muestras. En la Fig.4 se puede observar que las muestras tratadas con cargas superficiales tienen una dispersión en medio acuoso muy baja, solo las ferritas de manganeso tienen una dispersión de tamaños algo grande. En lo que respecta a las muestras de recubiertas con CMC, todas presentan una agregación mucho mayor a sus contrapartes estabilizadas con cargas.

Para determinar la eficiencia de las muestras como agentes de contraste en MRI se obtuvieron las imágenes tomadas a diferentes tiempos eco (4.6, 8.5, 14.6, 18.5, 24.6, 28.5, 33.5, 34.6, 38.5, 43.5 y 44.6 ms) mediante la secuencia *multi fast field echo* (mFFE) a 3 concentraciones diferentes por muestra. La Fig.5 muestra las gráficas de decaimiento de señal, para analizarlas se aproximaron a una curva tipo $S(TE)=S(0)e^{-TE/T2}$, los valores de T2 correspondientes fueron graficados con respecto a sus concentraciones para poder obtener los valores de r2. Los valores de r2 se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	r2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Muestra	r2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
---------	--------------------------------------	---------	--------------------------------------

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD 4, 5 y 6 de junio de 2015 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

Mn-1M-AT	58.59	Mn-1M-CMC	186.20
Mn-3M-AT	62.25	Mn-3M-CMC	179.24
ZnMn-1M-AT	137.22	ZnMn-1M-CMC	195.91
ZnMn-3M-AT	100.68	ZnMn-3M-CMC	134.38
Fe-1M-AT	107.84	Fe-1M-CMC	154.49
Fe-3M-AT	92.42	Fe-3M-CMC	114.35

Tabla 2. Valores calculados de r2 para los diferentes tipos de muestras

Como se puede observar en la tabla 2, las muestras recubiertas con CMC tuvieron un aumento en los valores de r2, esto se debe a que los protones del agua permanecen más tiempo en contacto con la muestra. Para el caso de la ferrita de manganeso, sus valores de r2 son muy bajos, pero cuando se recubren esto aumentan considerablemente, esto se puede deber a que como se vio en la Fig.2 la ferrita de manganeso está casi bloqueada a temperatura ambiente, lo que hace que no se pueda mover con facilidad en medios viscosos como es el caso del gel de agar, sin embargo al recubrirla, esta puede moverse con mayor facilidad, por lo que se observa el gran incremento. La muestra ZnMn-1M-CMC es la que mayor valor tiene entre todas, esto puede deberse a que el tamaño es el apropiado para el libre movimiento y su saturación se encuentra en un buen rango.

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

4, 5 y 6 de junio de 2015
 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

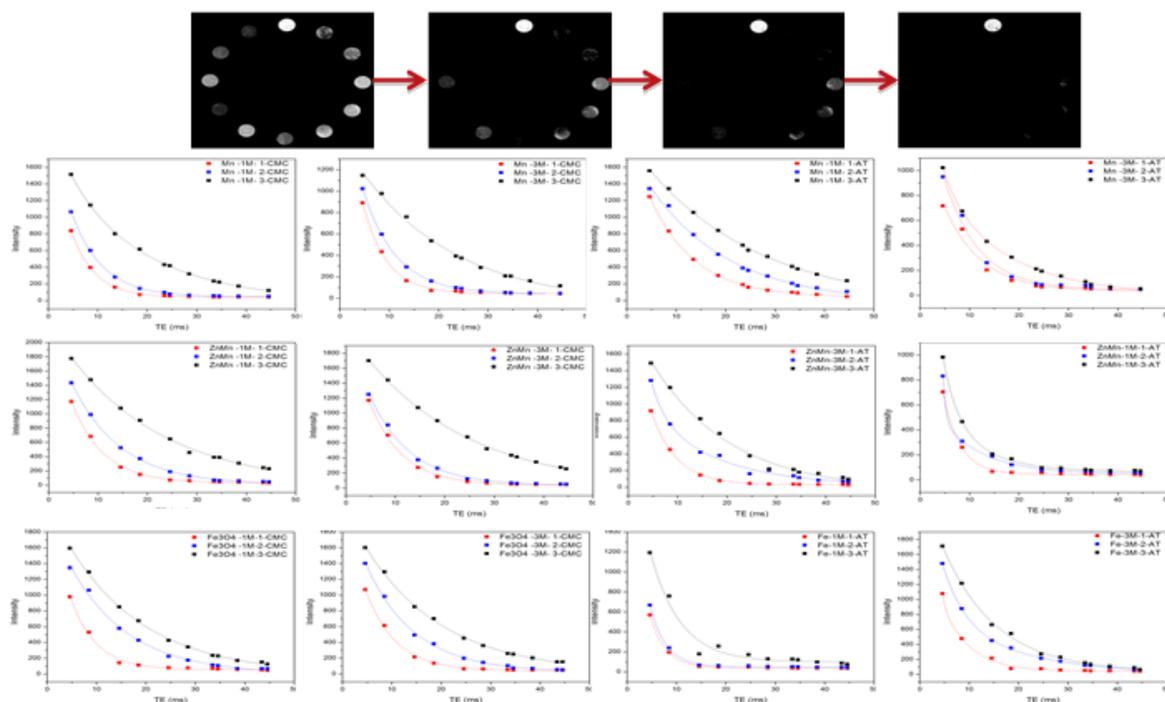


Fig.5. Ejemplo del oscurecimiento por presencia de material magnético y curvas de decaimiento exponencial de señal

3. CONCLUSIONES

El efecto del tamaño de la nanopartícula jugó un papel importante, ya que las nanopartículas con el tamaño más grande fueron las que mejor contraste tuvieron, con excepción de la ferrita de manganeso, esta disminuyó su contraste al aumentar su tamaño, por efecto de que se encontraba bloqueada, sin embargo, el efecto del dopaje de la ferrita de manganeso con Zn^{2+} influyó de manera considerable, ya que volvió al material superparamagnético y con una saturación y tamaños buenos, como era de esperarse los valores de r^2 aumentaron al momento de estabilizar la muestra con un biopolímero en comparación con las muestras “desnudas” lo cual es un aspecto demasiado importante al momento de pensar en el diseño de un material óptimo que sirva como agente de contraste T2.



VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

4, 5 y 6 de junio de 2015
“Generación de Nuevas Técnicas
de Diagnóstico y Tratamiento”

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos al Dr. Umapada Pal (IFUAP) por las mediciones de magnetometría a temperatura variable (PPMS DynaCool) de nuestras muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Branca, M., et al., *Towards MRI T2 contrast agents of increased efficiency*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2015. **377**(0): p. 348-353.
2. Stephen, Z.R., F.M. Kievit, and M. Zhang, *Magnetite nanoparticles for medical MR imaging*. Materials Today, 2011. **14**(7-8): p. 330-338.
3. Zhou, G., et al., *Ultrasound-assisted fabrication of a biocompatible magnetic hydroxyapatite*. J Biomed Mater Res A, 2014. **102**(10): p. 3704-12.
4. Lemine, O.M., et al., *γ -Fe₂O₃ by sol-gel with large nanoparticles size for magnetic hyperthermia application*. Journal of Alloys and Compounds, 2014. **607**: p. 125-131.
5. Shokrollahi, H., A. Khorramdin, and G. Isapour, *Magnetic resonance imaging by using nano-magnetic particles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2014. **369**(0): p. 176-183.
6. Jung, H., et al., *Dual MRI T1 and T2^(□) contrast with size-controlled iron oxide nanoparticles*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2014. **10**(8): p. 1679-1689.
7. Hoque, S.M., et al., *Synthesis and characterization of Fe- and Co-based ferrite nanoparticles and study of the T1 and T2 relaxivity of chitosan-coated particles*. Journal of Materials Science, 2012. **48**(2): p. 812-818.
8. Mascolo, M., Y. Pei, and T. Ring, *Room temperature co-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles in a large pH window with different bases*. Materials, 2013. **6**(12): p. 5549-5567.
9. Langford, J.I. and A.J.C. Wilson, *Scherrer after sixty years: A survey and some new results in the determination of crystallite size*. Journal of Applied Crystallography, 1978. **11**(2): p. 102-113.
10. Araújo-Neto, R.P., et al., *Monodisperse sodium oleate coated magnetite high susceptibility nanoparticles for hyperthermia applications*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2014. **364**: p. 72-79.
11. Chai, M.N. and M.I.N. Isa, *The oleic acid composition effect on the carboxymethyl cellulose based biopolymer electrolyte*. Journal of Crystallization Process and Technology, 2013. **03**(01): p. 1-4.