

Nanotecnología en Ciencias Veterinarias: Desarrollo de nanosistemas magnéticos basados en óxido de hierro funcionalizados con sílica y gelatina como agentes teranósticos

Artículo de Agotegaray, M.; Andreocci, E.; Kudra, D.; Montiel Schneider, G.; Lassalle, V.

CIENCIA VETERINARIA, Vol. 19, Nº 1, enero-junio 2017, ISSN 1515-1883 (impreso) E-ISSN 1853-8495 (en línea), pp. 14-29

DOI: <http://dx.doi.org/10.19137/cienvet-20171912>

Nanotecnología en Ciencias Veterinarias: Desarrollo de nanosistemas magnéticos basados en óxido de hierro funcionalizados con sílica y gelatina como agentes teranósticos

Agotegaray, M.^{1*}; Andreocci, E.²; Kudra, D.³; Montiel Schneider, G.¹; Lassalle, V.¹

¹Instituto de Química del Sur (INQUISUR-CONICET)-UNS, Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur. Avda. Alem 1253 - B8000CPB - Bahía Blanca - Argentina. Tel. +54 - 291 - 4595101 (3556).

²Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

³Facultad de Tecnología, Universidad de Banka Luka, Bosnia y Herzegovina.

E-mail: magotegaray@uns.edu.ar

RESUMEN

Las nanopartículas magnéticas (NPMs) a base de magnetita (Fe_3O_4) recubiertas con sílica encuentran diversas aplicaciones en el campo de la nanotecnología biomédica, debido a su estabilidad en medio acuoso. Sin embargo, la inercia de la sílica en cuanto a su reactividad limita la incorporación de funcionalizantes específicos como fármacos y otros ligandos de interés. El desafío de este trabajo se centra en obtener NPMs biocompatibles recubiertas con sílica y gelatina para ser aplicadas como agentes teranósticos en diversos campos biomédicos, incluso en medicina veterinaria. La terapia fotodinámica representa una alternativa y un complemento a la quimio y radioterapia, herramientas convencionales para el tratamiento de diferentes patologías como las oncológicas. Consiste en la utilización de moléculas fotosensibles que, al ser activadas con luz de una determinada longitud de onda, transfieren su exceso de energía a moléculas

de oxígeno vecinas. Este fenómeno genera especies reactivas de oxígeno tóxicas para las células. De este modo, la incorporación de un agente fotosensible a las NPMs de sílica funcionalizadas con gelatina facilitaría su transporte específico hacia las células afectadas a partir del efecto de un campo magnético externo. Esto resultaría en un teranóstico funcional tanto para el diagnóstico (mediante RMI) como para el tratamiento (fototerapia). En este trabajo se exploraron diversas condiciones experimentales a partir de NPMs de magnetita recubierta con ácido cítrico y sílica para la deposición de gelatina a partir del método de co-precipitación. Se obtuvo una formulación óptima que fue caracterizada integralmente desde el punto de vista fisicoquímico. Como molécula fotosensible se seleccionó al azul de metileno (AM) y se exploraron dos vías para su incorporación a las NPMs: 1-adsorción simple durante 24 horas y 2-encapsulamiento. La evaluación de ambos procedimientos reveló la incorporación exitosa del agente fotosensible, obteniéndose nanosistemas magnéticos con potenciales propiedades teranósticas aplicables en el campo veterinario.

Palabras clave: Nanopartículas magnéticas; Sílica; Gelatina; Teranósticos aplicables en Medicina Veterinaria

Nanotechnology in Veterinary Sciences: Magnetic nanosystems development based in functionalized iron oxide with silica and gelatine as theranostic agents

ABSTRACT

Magnetic nanoparticles (MNPs) based on magnetite (Fe_3O_4) coated with silica find various applications in the field of biomedical nanotechnology, due to their stability in aqueous medium. However, the inertia of the silica in terms of its reactivity limits the incorporation of specific functionalizers such as drugs and other ligands of interest. The challenge of this work focuses on obtaining biocompatible MNPs coated with silica and gelatin as theranostic agents in various biomedical fields, including veterinary medicine. Photodynamic therapy represents an alternative and a complement to chemo and radiotherapy, conventional

tools for the treatment of different pathologies such as oncology. It consists of the use of photosensitive molecules that, when activated with light of a certain wavelength, transfer their excess of energy to neighboring oxygen molecules. This phenomenon generates reactive oxygen species toxic to cells. Thus, the incorporation of a photosensitive agent to the magnetic silica nanoparticles functionalized with gelatin would facilitate their specific transport to the affected cells from the effect of an external magnetic field. This would result in a functional theranostic both for the diagnosis (by MRI) and for the treatment (phototherapy). In this work, various experimental conditions were explored from MNPs of magnetite coated with citric acid and silica for the deposition of gelatin from the co-precipitation method. An optimum formulation was obtained that was characterized integrally from the physicochemical point of view. As a photosensitive molecule, methylene blue was selected and two routes were explored for its incorporation into MNPs: 1-simple adsorption for 24 hours and 2-encapsulation. The evaluation of both procedures revealed the successful incorporation of the photosensitive agent, obtaining magnetic nanosystems with potential theranostic properties applicable in the veterinary field.

Keywords: magnetic nanoparticles; silica; gelatin; theranostic for veterinary medicine.

Fecha de recepción de originales: 08/5/2017

Fecha de aceptación para publicación: 29-06-2017

Esta obra se publica bajo licencia Creative Commons-Reconocimiento-No comercial-4.0 International (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es> ES

Introducción

La nanotecnología es una disciplina orientada al estudio, observación y manipulación de la materia a nivel atómico, molecular y supramolecular en el orden de la nano-escala. En esta escala las propiedades químicas, físicas y biológicas de los materiales difieren a las de las propiedades de los materiales a nivel de la macro-escala ofreciendo un amplio abanico de posibilidades en cuanto a sus aplicaciones. En el campo biomédico y veterinario en general, la aplicación de nanotecnología podría

resolver diversos problemas relacionados con la detección temprana de diversas patologías, tratamiento y seguimiento a partir del empleo de nano-sistemas orientados al diagnóstico y al tratamiento localizado⁽¹⁾.

Los sistemas de liberación controlada de drogas basados en nano/micropartículas presentan muchas ventajas desde el punto de vista terapéutico como la capacidad de ser dirigidas a sitios específicos del organismo, la reducción de la cantidad de droga necesaria para alcanzar cierta concentración en el órgano blanco, la disminución de la concentración en sitios no deseados, contribuyendo así a la disminución de los efectos colaterales. Existen diversas formulaciones, como dendrímeros, micelas, emulsiones, sistemas nanoparticulados y liposomas como agentes para alcanzar un sitio blanco específico en el organismo⁽²⁾. Las nanopartículas (NPs) deben presentar ciertas características para poder ser empleadas como sistemas de liberación y direccionamiento, lo que significa que debe lograrse una adecuada combinación entre el tamaño, la vía de incorporación de la droga de interés (adsorbida o encapsulada), las propiedades químicas superficiales, hidrofiliicidad/hidrofobicidad, funcionalización superficial, biodegradabilidad y propiedades físicas (tales como la respuesta frente a la temperatura, el pH, carga eléctrica, magnetismo). Muchos nanosistemas han sido descritos en numerosos trabajos, siendo el desarrollo de nanopartículas magnéticas (NPMs) un desafío muy prometedor dentro del campo de la biomedicina. Las NPMs consisten en un núcleo formado por un metal o un óxido metálico. Comúnmente este núcleo debe ser recubierto o modificado con diferentes sustratos para conseguir las propiedades antes mencionadas. Para estos fines se emplean compuestos inorgánicos o poliméricos, entre otros; que además les confiere estabilidad y biocompatibilidad, sirviendo a su vez como soporte para numerosas biomoléculas. Las propiedades magnéticas convierten a estas NPs en materiales atractivos para ser aplicados en diversos campos de la medicina, por ejemplo, como agentes de contraste en el diagnóstico por imágenes mediante resonancia magnética, agentes para hipertermia (ablación térmica en terapias antitumorales), como vectores magnéticos capaces de ser dirigidos mediante la aplicación de un campo magnético externo hacia un sitio específico, entre otros. Debido a sus particulares propiedades físicas y a la capacidad de actuar a nivel celular y molecular en sistemas biológicos, las

NPMs son activamente estudiadas, siendo consideradas como la futura generación nanotecnológica para la liberación dirigida y controlada de drogas terapéuticas⁽³⁾. De todas las sustancias magnéticas, la magnetita (Fe_3O_4) (Figura 1-a) resulta uno de los materiales de elección debido a su biocompatibilidad y a su alta sensibilidad frente a un campo magnético. La misma consiste en un óxido de hierro que presenta una estructura de tipo espinela inversa con un empaquetamiento compacto cúbico centrado en las caras donde el hierro ocupa los sitios intersticiales tetraédricos y octaédricos⁽⁴⁾. Los electrones pueden interactuar entre los cationes Fe^{2+} y Fe^{3+} en los sitios octaédricos aún a temperatura ambiente, haciendo de la magnetita un material magnético. Existen varios métodos químicos para la síntesis de NPMs: microemulsión, síntesis sol-gel, reacciones sonoquímicas, reacciones hidrotermales, hidrólisis y termólisis de precursores, síntesis mediante inyección en flujo y por electrospray⁽⁵⁾. Sin embargo, el método más utilizado para la obtención de NPs de óxido de hierro, tanto Fe_3O_4 (magnetita) como $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghemita), es el de co-precipitación de sales de hierro que consiste en la mezcla de sales ferrosas y férricas en medio acuoso de pH alcalino y bajo atmósfera inerte⁽⁶⁾. Debido a la atracción bipolar anisotrópica, las nanopartículas no-modificadas de óxido de hierro tienden a agregarse en grandes grupos perdiendo las propiedades específicas asociadas con los dominios simples. Además, la reactividad de las partículas de óxidos de hierro se incrementa significativamente al reducirse su tamaño, sufriendo una rápida degradación cuando son expuestas directamente a sistemas biológicos⁽⁷⁾. Para evitar estas limitaciones, es fundamental el recubrimiento.

Las NPMs a base de Fe_3O_4 recubiertas con sílica (Figura 1-b) encuentran diversas aplicaciones en el campo de la nanotecnología biomédica, debido a su estabilidad en medio acuoso. Sin embargo, la inercia de la sílica en cuanto a su reactividad limita la incorporación de funcionalizantes específicos como fármacos y otros ligandos de interés. El desafío de este trabajo se centra en obtener NPMs biocompatibles recubiertas con sílica y gelatina para ser aplicadas en diversos campos biomédicos incluso en veterinaria como agentes teranósticos. La gelatina (Figura 1-c) es un polímero natural derivado del colágeno, comúnmente utilizado en medicina y en farmacia por su biodegradabilidad y su biocompatibilidad. Ofrece la ventaja de ser de bajo costo y

de fácil obtención. Presenta baja antigenicidad y su degradación enzimática no genera productos dañinos. En cuanto a su estructura química, se considera un polianfolito con grupos catiónicos, aniónicos e hidrofóbicos en relación 1:1:1. Se encuentra cargada positivamente en un ~13% debido al contenido de lisina y arginina; un ~12% de la carga total es negativa por la presencia de ácido glutámico y aspártico. El contenido de leucina, isoleucina, metionina y valina es responsable de ~11% de su carácter hidrofóbico. El resto de los aminoácidos son glicina, prolina y hidroxiprolina. La secuencia $(\text{Gli-X-Pro})_n$ es la responsable que la gelatina adopte una estructura de triple hélice, donde X corresponde a los aminoácidos lisina principalmente, arginina, metionina y valina. Contiene en su estructura proteica un alto número de diferentes grupos funcionales accesibles que permiten múltiples posibilidades de modificación al unirlos con diferentes ligandos, lo cual puede ser muy útil en el desarrollo de vehículos para el direccionamiento de fármacos⁽⁸⁾.

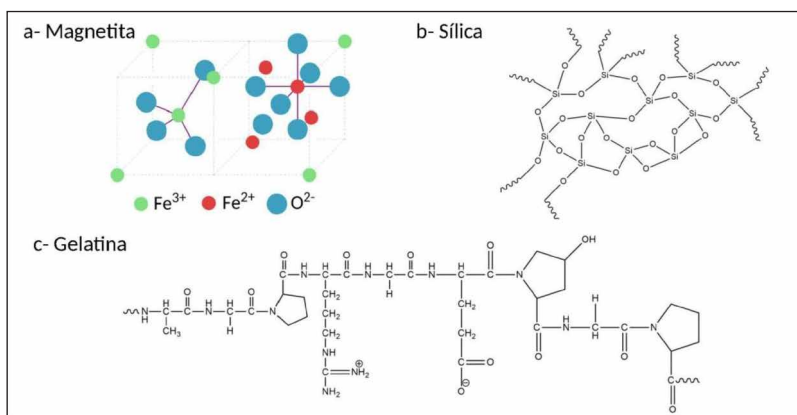


Figura 1. Estructura química de cada uno de los componentes de las nanopartículas magnéticas aquí desarrolladas.

La terapia fotodinámica representa una alternativa y un complemento a la quimio y radioterapia, herramientas convencionales para el tratamiento de diferentes patologías como las oncológicas⁽⁹⁾. Consiste en la utilización de moléculas fotosensibles que, al ser activadas con luz de una determinada longitud de onda, transfieren su exceso de energía a moléculas de oxígeno vecinas. Este fenómeno genera especies reactivas de oxígeno

tóxicas para las células. De este modo, la incorporación de un agente fotosensible, como azul de metileno⁽¹⁰⁾ (Figura 2), a las nanopartículas magnéticas de sílica funcionalizadas con gelatina facilitaría su transporte específico hacia las células afectadas a partir del efecto de un campo magnético externo. Esto resultaría en un teranóstico funcional tanto para el diagnóstico (mediante RMI) como para el tratamiento (fototerapia).

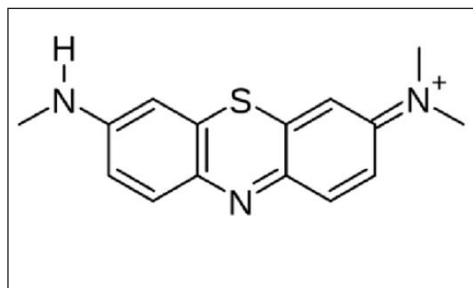


Figura 2. Estructura química del azul de metileno.

Metodología

1. Síntesis de las NPMs

Las NPMs de magnetita funcionalizadas con ácido cítrico para facilitar la posterior deposición de sílica fueron sintetizadas mediante el método de co-precipitación a partir de una solución acuosa de cationes Fe^{3+} y Fe^{2+} que se alcaliniza por agregado de una solución de NaOH, gota a gota calentando a $70^{\circ}C$ bajo atmósfera de N_2 y con agitación continua. Se utilizó ácido cítrico como estabilizante, que se incorporó desde el principio junto con las soluciones de Fe^{2+}/Fe^{3+} . La modificación con sílica se llevó a cabo empleando el denominado método Stöber⁽¹¹⁾ con modificaciones que consiste básicamente en la hidrólisis del precursor tetra-etoxi-silano (TEOS) sobre las NPMs de magnetita funcionalizadas con ácido cítrico en una mezcla de etanol y solución acuosa de hidróxido de amonio. La proporción Fe:TEOS empleada fue de 1:3. El ácido silícico es producido durante la hidrólisis y cuando su concentración sobrepasa la de su solubilidad en etanol, forma núcleos homogéneos dando lugar a sílica nanoparticulada que se deposita sobre los núcleos Fe_3O_4 . Finalmente, el recubrimiento con gelatina se llevó a cabo a partir

de la mezcla de una dispersión de las NPMs funcionalizadas con sílica con una solución de gelatina en proporción NPMs:gelatina de 1:1. La mezcla reaccionó durante 2 horas a temperatura ambiente y luego se agregó acetona para promover la precipitación de las NPs. El sólido obtenido fue separado mediante el empleo de un imán de neodimio de alta potencia. La muestra se lavó repetidas veces con agua para su purificación y se secó a 45°C. De aquí en adelante se hará referencia a la misma como MG@Si-Gel. En la figura 3 se presenta el equipamiento utilizado para la síntesis y la respuesta de las NPMs frente a la aplicación de un campo magnético, revelando sus propiedades magnéticas.

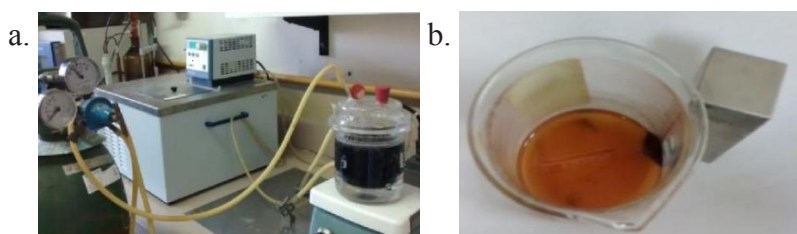


Figura 3. a-Equipamiento utilizado para la síntesis de las NPMs. b-Respuesta de MG@Si-Gel a la aplicación de un campo magnético externo. Se observa las propiedades magnéticas de las nanopartículas

2. Incorporación de azul de metileno

La carga del agente fotosensible azul de metileno (AM) se exploró mediante dos métodos: 1- *adsorción simple*, que consistió en mezclar una dispersión de 20 mg de MG@Si-Gel en 50 mL de agua con 1 mL de una solución acuosa conteniendo 5 mg de AM. La mezcla se mantuvo bajo agitación magnética a temperatura ambiente durante 24 horas. Se tomaron alícuotas en el tiempo para monitorear la adsorción del AM mediante espectrometría UV-Visible; 2- *encapsulamiento*, en el que se disolvieron 20 mg de gelatina en 39 mL de agua mediante efecto de ultrasonido a 40°C durante 10 minutos. Luego se agregó 5 mg de AM disuelto en 1 mL de agua. La mezcla se agitó durante 5 horas para promover interacciones AM-gelatina. Pasado este tiempo, se agregó 20 mL de una dispersión acuosa de MG@Si-Gel (1 mg/mL). Luego de 2 horas de reacción a temperatura ambiente, se agregaron 3 mL de acetona para favorecer la precipitación de las NPMs resultantes. La cuantificación del

AM se llevó a cabo sobre una alícuota del sobrenadante mediante espectroscopia UV-Visible al finalizar la reacción.

3. Caracterización de los nanosistemas

El análisis de la composición de las distintas NPMs obtenidas se llevó a cabo mediante espectroscopia FTIR utilizando un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700 en el rango 4000–400 cm^{-1} . Las muestras se prepararon a partir de dispersiones de la formulación correspondiente en estado sólido en KBr (1% m/v). Las medidas de diámetro hidrodinámico (Dh) y potencial zeta (ζ) fueron realizadas mediante la técnica de dispersión de luz dinámica en un equipo Malvern Zetasizer a 25°C. Para tal fin, se prepararon dispersiones acuosas de las NPMs de concentración 0,1 mg/mL. Los datos informados corresponden al promedio de tres medidas independientes. La morfología de las NPMs fue evaluada mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, JEOL100 CXII, JEOL, TOKIO, Japan, 1983 from CCT, Bahía Blanca, Argentina) a partir de dispersiones acuosas conteniendo 0,1 mg NPMs/mL. La cuantificación de AM incorporado se llevó a cabo en forma indirecta a partir de medidas mediante espectroscopia UV-Visible a 664 nm, longitud de onda de máxima absorción del AM, en alícuotas tomadas del sobrenadante de reacción. Los resultados se expresan como % de eficiencia de incorporación: $[\text{AM incorporado (mg)} / \text{AM en la suspensión inicial (mg)}] \times 100$.

Resultados y discusión

Para alcanzar los objetivos planteados, se exploraron diversas condiciones experimentales a partir de NPMs de magnetita recubierta con ácido cítrico y sílica para la deposición de gelatina en proporción NPMs:gelatina de 1:1, 1:10 y 1:50, a partir del método de co-precipitación. Se obtuvieron diversas formulaciones que fueron caracterizadas mediante diferentes técnicas para establecer su composición y características fisicoquímicas relacionadas con el diámetro hidrodinámico, la carga superficial y la morfología, siendo la proporción NPMs:gelatina 1:1 la óptima en

términos de estabilidad y propiedades físico-químicas para las aplicaciones biomédicas deseadas.

La incorporación del biopolímero se determinó a partir de espectroscopia FTIR. El espectro de la gelatina demuestra la presencia de una banda intensa en la zona de 3460 cm^{-1} atribuible a las vibraciones de tensión N-H de los grupos amida. La banda presente alrededor de 1640 cm^{-1} pertenece a las vibraciones de tensión C-O del grupo carbonilo del enlace amida; mientras que la banda en la zona de 1550 cm^{-1} es debida a las vibraciones de deformación de los enlaces N-H. los espectros (Figura 4) indica el anclaje satisfactorio de la gelatina en la estructura de las NPMs⁽¹²⁾. El análisis del espectro correspondiente a MG@Si-Gel indica la incorporación de la gelatina a las NPMs recubiertas con sílica. La banda posicionada en la zona de 3427 cm^{-1} es atribuible a las vibraciones de tensión N-H de los grupos amida de la gelatina. Las vibraciones observadas a 1635 cm^{-1} ($\nu\text{ C=O}$) y a 1555 cm^{-1} ($\delta\text{ N-H}$) corresponden a grupos amida de la gelatina, indicando la presencia del biopolímero en la estructura de MG@Si-Gel. Se observan corrimientos en la posición de las bandas de la gelatina en las NPMs en comparación con la el biopolímero. Los mismos serían indicativos de interacciones químicas con grupos expuestos en la superficie de las NPMs, como OH provenientes de la magnetita y de la sílica. En el espectro de MG@Si-Gel la señal alrededor de 1074 cm^{-1} es indicativa de la presencia de grupos Si-O-Si, demostrando la incorporación satisfactoria de la sílica mediante el método de Stöber empleado en la síntesis.

Finalmente, la banda posicionada alrededor de 570 cm^{-1} se debe a la vibración de tensión Fe-O del óxido de hierro magnético y demuestra la presencia del mismo en la composición de la estructura de las NPMs.

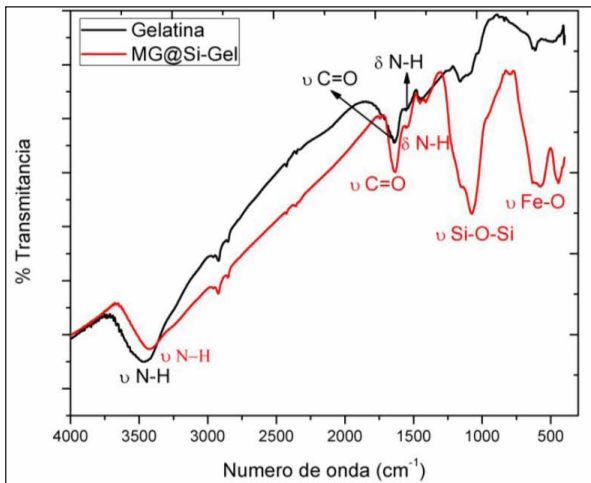


Figura 4. Espectros FTIR de las NPMs obtenidas funcionalizadas con sílica y gelatina (MG@Si-Gel) y de gelatina. La presencia de bandas características del biopolímero en la formulación de las NPMs indica la incorporación satisfactoria del mismo al nanosistema magnético

El Dh de MG@Si-Gel en medio acuoso resultó de 580 nm, presentando un índice de polidispersión de 0,252. El índice de polidispersión es un parámetro que se relaciona con la amplitud de la dispersión de la distribución del tamaño de las partículas. Para sistemas tendientes a ser monodispersos y estables en el solvente donde se dispersa la muestra para su medición, el valor es cercano a cero y menor a 0,5⁽¹⁴⁾.

La Figura 5 presenta las micrográficas obtenidas mediante microscopía electrónica de transmisión para las formulaciones MG@Si y MG@Si-Gel. Se observan diferencias en cuanto a la agregación de las NPMs atribuibles al recubrimiento con gelatina. Con respecto a MG@Si-Gel, las mismas presentan una morfología esférica, con un tamaño del carozo magnético del orden de entre 8 y 10 nm.

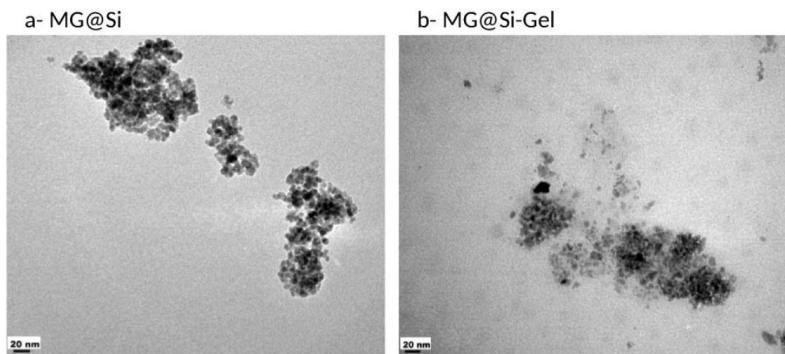


Figura 5. TEM. Micrografías electrónicas de las NPMs funcionalizadas con sílica (a) y de las recubiertas además con gelatina (b).

Con el objetivo de agregar valor a esta nano-plataforma para la carga de diversas drogas a ser direccionadas mediante la aplicación de un magnético externo, se trabajó en la incorporación de una molécula fotosensible, en este caso azul de metileno (AM), para impartir al sistema la propiedad teranóstica ⁽³⁾ mediante los métodos de adsorción y encapsulamiento. En la Figura 6-a se observa el seguimiento del procedimiento de adsorción a distintos tiempos mediante medidas espectrofotométricas UV-Visible del sobrenadante del medio de reacción. Se observa que a medida que transcurre el tiempo, una disminución en la absorbancia a 664 nm (longitud de onda máxima absorción del AM). Esta tendencia es indicativa de que la molécula se adsorbe sobre la superficie las NPMs, disminuyendo su concentración en el sobrenadante. De modo similar, en la Figura 6-b se presentan los espectros UV-Visible obtenidos de la reacción de incorporación de AM mediante el método de encapsulamiento. Al finalizar el procedimiento, se observa una disminución de la absorbancia del AM con respecto al inicio. Esta diferencia es atribuible al encapsulamiento de la molécula en la gelatina y su posterior anclaje a la superficie de las NPMs. La cuantificación reveló la incorporación exitosa del agente fotosensible.

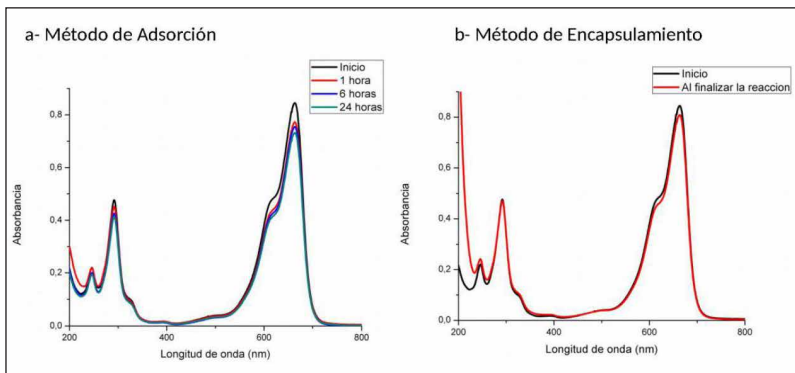


Figura 6. Espectros UV-Visible obtenidos para la evaluar la incorporación de azul de metileno en MG@Si-Gel; a-Mediante el método de adsorción; b-Mediante el método de encapsulamiento.

En ambos casos se determinó un porcentaje de incorporación del orden del 15%. La capacidad de carga resultó de 0,0375 mg/g para ambos métodos explorados. Zhang y col. evaluaron la adsorción de azul de metileno sobre nanopartículas magnéticas de magnetita recubierta con ácido húmico ⁽¹⁵⁾. Hallaron una capacidad de carga de alrededor de 0,093 mg AM/mg NPMs. De este modo, las NPMs aquí obtenidas presentan características del mismo orden en cuanto a la eficiencia de incorporación del AM.

El análisis de tamaño resulta sumamente importante para nanosistemas aplicables en biomedicina. En general, se considera que NPs más grandes son rápidamente capturadas de la circulación por el sistema reticuloendotelial del hígado, disminuyendo así su tiempo de circulación en sangre. Por otro lado, NPs muy pequeñas tienden a ser clarificadas por el sistema de filtración renal ⁽¹⁶⁾ ⁽¹⁷⁾. De este modo, el tamaño de MG@Si-Gel y el tamaño de MG@Si-Gel-AM (alrededor de 400 nm) las posiciona como potencial plataforma nanotecnológica para aplicarse en el diagnóstico y tratamiento localizado de diversas patologías. Cabe destacar que se observa una disminución del tamaño de las NPMs que incorporaron el AM (400 nm) en comparación con MG@Si-Gel (580 nm). Esta diferencia es atribuible a que la carga de AM estabilizaría la superficie, disminuyendo la agregación en medio acuoso. La carga superficial es otro parámetro importante

que tiene gran influencia en el perfil de biodistribución de las NPMs. En general, se considera que las NPs con carga neutra serían las más adecuadas porque tienden a evitar la captura por el sistema reticuloendotelial del hígado, debido que sufrirían una menor opsonización por el sistema del complemento ⁽¹⁸⁾. Por su parte, Papisov y col. ⁽¹⁹⁾ estudiaron NPMs recubiertas con poli-lisina-dextrano con carga superficial positiva y observaron que eran rápidamente capturadas por el hígado, disminuyendo el tiempo de circulación. En el mismo trabajo evaluaron el efecto de la carga negativa de NPMs recubiertas con poli-lisina-dextran succinato en el tiempo de circulación, revelando que presentaban mayor tiempo en circulación y un perfil de biodistribución similar a NPMs neutras recubiertas con dextrano. MG@Si-Gel cargada con AM presentó una carga superficial de -10 mV. Esta carga superficial negativa sería de utilidad para incrementar su tiempo de circulación en sangre.

Conclusiones

Se obtuvieron NPMs de magnetita funcionalizada con sílica y gelatina como nanosistemas para el direccionamiento de fármacos mediante la aplicación de un campo magnético externo. Esta plataforma resultó eficiente para la incorporación del agente fotosensible azul de metileno, convirtiendo a las NPMs en una potencial herramienta nanotecnológica para el diagnóstico y tratamiento localizado de diversas patologías. El desafío a futuro es el estudio de la incorporación de drogas para transformar al sistema en un agente teranóstico específico. Este trabajo sienta las bases para continuar explorando aplicaciones en el campo veterinario de modo de incorporar la nanotecnología magnética como una herramienta novedosa y efectiva para el tratamiento localizado de diversas patologías que impliquen el uso convencional de fármacos que causen severos efectos adversos a nivel sistémico.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Universidad Nacional del Sur (UNS) por su aporte para el financiamiento de este trabajo.

Bibliografía

1. Tomalia DA. Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry. *Prog Polym Sci.* 2005;30(3):294–324.
2. Kumar MNVR. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J Pharm Pharm Sci.* 2000;3(2):234–258.
3. McBain SC, Yiu HH, Dobson J. Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery. *TL - 3. Int J Nanomedicine.* 2007;3 VN-re(2):169–80.
4. Cornell R. M. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses.* New York: VCH; 1996. 28–29.
5. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., Muller RN. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem Rev.* 2008;108(6):2064–2110.
6. Jolivet, J., Chanéac, C., Tronc E. Iron oxide chemistry. From molecular clusters to extended solid networks. *Chem Commun.* 2004;5:481–483.
7. Santra, S., Tapeç, R., Theodoropoulou, N., Dobson, J., Hebard, A., Tan W. Synthesis and characterization of silica-coated iron oxide nanoparticles in microemulsion: the effect of nonionic surfactants. *Langmuir.* 2001;17(10):2900–6.
8. Elzoghby AO. Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research. *J Control Release.* 2013;172(3):1075–91.
9. Spring, B. Q., Rizvi, I., Xu, N., & Hasan T. The role of photodynamic therapy in overcoming cancer drug resistance. *Photochem Photobiol Sci.* 2015;14(8).
10. Andhariya, N., Chudasama, B., Mehta, R. V., Upadhyay R V. Nanoengineering of methylene blue loaded silica encapsulated magnetite nanospheres and nanocapsules for photodynamic therapy. *J Nanoparticle Res.* 2011;13(9).
11. Stöber, W., Fink, A., Bohn E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J Colloid Interface Sci.* 1968;26(1):62–9.
12. Gaihre B, Khil MS, Lee DR, Kim HY. Gelatin-coated magnetic iron oxide nanoparticles as carrier system: Drug loading and in vitro drug release study. *Int J Pharm.* 2009;365(1–2):180–9.
13. Hozhabr Araghi S, Entezari MH. Amino-functionalized silica magnetite nanoparticles for the simultaneous removal of pollutants from aqueous solution. *Appl Surf Sci [Internet].* 2015;333:68–77.

-
14. Villafuerte, L., García, B., Garzón, M. D. L., Hernández, A., Vázquez ML. Nanopartículas lipídica sólidas. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2008;39(1).
 15. Zhang, X., Zhang, P., Wu, Z., Zhang, L., Zeng, G., & Zhou C. Adsorption of methylene blue onto humic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 2013;435:85–90.
 16. Li, M., Al-Jamal, K. T., Kostarelos, K., Reineke J. Physiologically based pharmacokinetic modeling of nanoparticles. *ACS Nano.* 2010;4(11):6303–17.
 17. Owens E PN. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int J Pharm.* 2006;307:93–102.
 18. Aggarwal P, Hall JB, McLeland CB et al. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61:428– 437.
 19. Papisov, M. I., Bogdanov, A., Schaffer, B., Nossiff, N., Shen, T., Weissleder, R., & Brady TJ. Colloidal magnetic resonance contrast agents: effect of particle surface on biodistribution. *J Magn Magn Mater.* 1993;122(1–3):383–6