

CICLOS MAGNÉTICOS DE RADIOFRECUENCIA: CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS

Basso G. A.^{a,b}, Bruvera I. J.^{a,b}, Mendoza Zélis P.^{a,b,c}

^a Instituto de Física La Plata, CONICET-UNLP, diagonal 113 entre 63 y 64 La Plata

^b Facultad de Ciencias Exactas, UNLP 47 y 115, La Plata

^c Facultad de Ingeniería, UNLP 47 y 115, La Plata

pedro.mendoza@ing.unlp.edu.ar

Introducción

La disipación de potencia por nanopartículas magnéticas (NPM) expuestas a campos de radiofrecuencia (RF) ha permitido el desarrollo de diversas aplicaciones en biomedicina, entre las cuales podemos destacar: liberación controlada de drogas [1], hipertermia oncológica [2] y descongelamiento de tejidos criopreservados [3, 4].

La hipertermia magnética por NPM es el daño selectivo de tejido tumoral mediante un incremento localizado de temperatura utilizando NPM como fuente térmica. Las NPM se introducen en el tejido tumoral y se le transfiere energía mediante un campo de radiofrecuencia externo. En las últimas décadas, la viabilidad de la técnica ha sido demostrada mediante varios ensayos clínicos, en particular para cáncer de próstata y gliomas [5, 6].

La criopreservación por vitrificación ha funcionado con éxito en muestras pequeñas como células, ovarios y embriones. No obstante, a medida que el volumen vitrificado aumenta, la probabilidad de dañar los tejidos es mayor debido a la dificultad de lograr un descongelamiento suficientemente rápido y homogéneo [7]. Una posible solución a las dificultades mencionadas es el "nanocalentamiento" utilizando NPM expuestas a RF, basado en el mismo principio que la hipertermia oncológica. El tejido u órgano se perfunde en una solución crioprotectora con NPM, se vitrifica y se almacena a temperaturas criogénicas. Al momento de descongelar, se reemplaza el método convectivo usual por la exposición a un campo magnético RF, resultando en la generación de calor por parte de las NPM. De esta forma, se alcanzan las tasas de calentamiento necesarias para no comprometer la integridad del tejido [8].

Mecanismo de absorción de energía de NPM en campo RF

Cuando una muestra es expuesta a un campo RF, las NPM absorben energía del mismo y la disipan a su entorno. Esta transferencia puede estudiarse a partir de la variación de energía interna del sistema conformado por las NPM y el medio en que están soportadas, debido al trabajo magnético realizado por el campo [9]. Para un proceso adiabático ($\delta Q = 0$) en donde el diferencial de trabajo magnético está dado por $\delta W = \mathbf{H} d\mathbf{B}$, la variación de energía interna es

$$dU = \mathbf{H} d\mathbf{B} \quad (1)$$

donde \mathbf{H} es la intensidad de campo magnético, $\mathbf{B} = \mu_0(\mathbf{H} + \mathbf{M})$ es la inducción magnética, \mathbf{M} la magnetización y μ_0 la permeabilidad del vacío. Para el caso en el que los campos son colineales, reemplazando en (1) e integrando por partes obtenemos

$$\Delta U = -\mu_0 \oint M dH \quad (2)$$

Así, la energía absorbida por las NPM en un período es el área del ciclo M vs. H . Cuando la magnetización se retrasa respecto al campo, la integral es positiva indicando la conversión de trabajo magnético en energía interna. Este retraso está determinado por el tiempo de

relajación del sistema τ , el cual es generado por dos procesos: el mecanismo de Néel y el mecanismo de Brown. El mecanismo de Néel se refiere a la fluctuación del momento magnético entre orientaciones de fácil magnetización de la partícula, y su tiempo de relajación está determinado por el volumen magnético de la NPM y su constante de anisotropía [10]. Por otro lado, el mecanismo de Brown se refiere a la rotación del momento magnético junto con la propia partícula cuando esta se suspende en un medio de viscosidad finita y su tiempo de relajación depende de la viscosidad del medio junto con el volumen hidrodinámico de la NPM [11]. Si ambos mecanismos son accesibles, el tiempo efectivo de relajación es una suma paralela de ambos. La dependencia temporal de la magnetización, y por lo tanto, la forma del ciclo de magnetización, depende del tiempo efectivo de relajación y, a través de él, de la interacción entre las NPM y el medio.

SAR: Tasa de absorción específica

El parámetro que cuantifica la transferencia de potencia del campo al medio por parte de las NPM es la Tasa de Absorción Específica (*Specific Absorption Rate*) que típicamente se reporta en watts por gramo de NPM [12].

Experimentalmente el SAR se puede determinar a través de medidas calorimétricas o electromagnéticas. En la metodología calorimétrica se registra la temperatura de la muestra mientras es expuesta al campo RF en un recipiente adiabático [13]. Así, el valor de SAR se obtiene a partir de la pendiente de la curva de calentamiento dT/dt , la concentración de partículas $[NPM]$ y el calor específico c de la muestra

$$SAR_C = \frac{c}{[NPM]} \frac{dT}{dt} \quad (3)$$

Por su parte, en la metodología electromagnética el valor de SAR es proporcional a la frecuencia del campo f y al área del ciclo de magnetización de la muestra [14]:

$$SAR_{EM} = \frac{\mu_0 f}{[NPM]} \oint M dH \quad (4)$$

Técnica ESAR

La técnica ESAR (*Electromagnetic Specific Absorption Rate*) se basa en la medición inductiva del ciclo magnético de RF de la muestra [12]. Permite realizar mediciones muy rápidas (~ 2 s) en todo tipo de muestras, y proporciona, junto con los valores de SAR, el ciclo de magnetización. Este método presenta un gran potencial de aplicación debido a que permite el estudio de muestras sólidas y biológicas de difícil –a veces imposible– caracterización por el método calorimétrico convencional. Además, se presenta como la técnica idónea para caracterizar la evolución de la respuesta magnética de las NPM durante el descongelamiento de su medio portador (4).

Generalidades del equipo

Dispositivo de relevamiento magnético

El relevamiento del ciclo magnético M vs. H se realiza mediante un dispositivo desarrollado consiste en un arreglo de bobinas captoras en serie oposición separadas una distancia fija y montadas sobre un posicionador vertical de alta precisión.

El funcionamiento del dispositivo se basa en la ley de inducción electromagnética de Faraday: la diferencia de potencial ε inducida por un campo magnético variable $B(t)$ en una bobina conductora de N vueltas y área transversal A es la tasa de cambio del flujo magnético a través de ella ϕ

$$\varepsilon(t) = -\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\frac{\partial NAB(t)}{\partial t} = -NA \frac{\partial B(t)}{\partial t}$$

Para un campo alterno de frecuencia angular ω y amplitud B_0

$$B(t) = B_0 \cos \omega t \quad \Rightarrow \quad \varepsilon(t) = -NAB_0 \omega \sin(\omega t)$$

De esta manera, la diferencia de potencial entre los extremos del arreglo será la suma de las FEM inducidas en cada una de las bobinas captoras C_m y C_c (fig. 1), que al estar en serie oposición, tendrán signos opuestos

$$\varepsilon = \varepsilon_c + \varepsilon_m = -NA \left(\frac{\partial B_c}{\partial t} - \frac{\partial B_m}{\partial t} \right) = -NA\mu_0 \frac{\partial(H_c - H_m)}{\partial t}$$

Si las bobinas son iguales y no se coloca un material de magnetización apreciable como núcleo, $B = \mu_0 H$ y valdrá

$$\varepsilon_i = -NA\omega B_0^{(i)} \sin(\omega t) = -NA\omega\mu_0 H_0^{(i)} \sin(\omega t)$$

recordando que $\varepsilon = \varepsilon_1 - \varepsilon_2$.

La posición de cancelación es aquella en la que ambas bobinas son atravesadas por el mismo flujo magnético. Se cumple entonces que $H_0^{(c)} = H_0^{(m)}$, por lo que la diferencia de potencial ε será nula.

Si se coloca una muestra de magnetización M en C_m :

$$\varepsilon_m = -NA\mu_0 \frac{\partial(H + M)}{\partial t} = -NA\mu_0 \left(\omega H_0 \sin(\omega t) + \frac{\partial M}{\partial t} \right)$$

$$\Rightarrow \varepsilon = \varepsilon_c + \varepsilon_m = NA\mu_0 \frac{\partial M}{\partial t}$$

por lo que la diferencia de potencial entre los extremos del arreglo será proporcional a la derivada temporal de la magnetización de la muestra. De esta manera, se puede determinar la magnetización de la muestra como la integral temporal de la diferencia de potencial entre los extremos del par de bobinas captoras

$$M = \frac{1}{NA\mu_0} \int \varepsilon dt \quad (5)$$

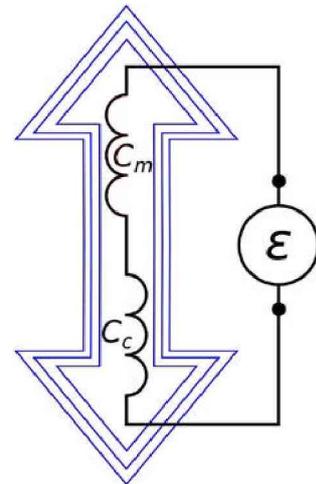


Figura 1: Esquema del par captor en serie oposición con el que se genera ε debido al campo magnético alterno indicado por las flechas azules.

Tratamiento y análisis de las señales

Durante el análisis de las señales se advirtió la presencia de una interferencia de alta frecuencia ocasionada por la conmutación de la fuente del generador RF (fig. 2). Con el objetivo de eliminar dicha interferencia se procedió a hacer un tratamiento espectral de la señal vía transformada de Fourier. Por otro lado, las propiedades magnéticas de las NPM estudiadas les dotan de una respuesta magnética impar, tanto en equilibrio como fuera de él. Esto implica que la respuesta de la muestra está conformada por los múltiplos impares de la frecuencia del campo aplicado (fig. 3). Con esta consideración, podemos reconstruir la señal de muestra y, a partir de ella, obtener la magnetización.

Calibración de la magnetización

Según la ecuación (5), la geometría de las bobinas captoras define la relación entre M y $\int \varepsilon dt$, pero debido al tamaño del sistema y las frecuencias implicadas, los parámetros geométricos no están definidos con total precisión. Para sortear estos inconvenientes se opta por medir la respuesta al campo magnético de una muestra paramagnética de susceptibilidad conocida. Utilizamos un patrón de óxido de disprosio III (Dy_2O_3), cuya respuesta lineal nos permite encontrar la proporcionalidad entre la integral temporal de la señal y el valor de la magnetización. En la figura 3 se muestran los ciclos de magnetización de un ferrofluido (FF) y del patrón paramagnético. Nótese que este último ciclo exhibe un área no nula, en vez de ser una recta como se espera. Esto se debe a un desfase espurio entre la señal de H y la de M , propio de la electrónica del equipo.

Resultados y discusión

Ferrofluido base acuosa y evolución durante el descongelamiento

Se midieron los ciclos magnéticos de RF para un ferrofluido (FF) en base acuosa barriendo temperaturas en el rango $[-40; 20]$ °C, con el objetivo de estudiar la evolución de la respuesta en la transición sólido-líquido (fig. 4). Se utilizaron nanoclústers magnéticos similares a nanoflores (NF) con un diámetro medio de 200(9) nm, compuestas por nanopartículas de magnetita de 18(2) nm de diámetro. Fueron sintetizadas por coprecipitación térmica y resuspendidas en agua destilada a una concentración de Fe de $5,72 \text{ g L}^{-1}$.

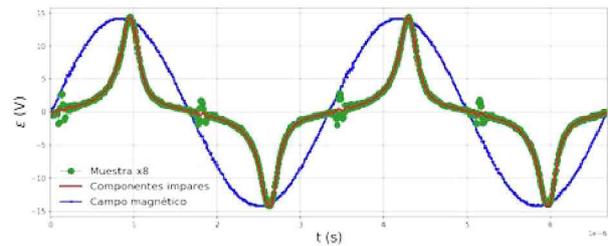


Figura 2: Señales de campo (azul), muestra (verde) y muestra luego del filtrado en armónicos impares (rojo). Nótese la interferencia que aparece en la señal de muestra debido al cambio de signo del campo.

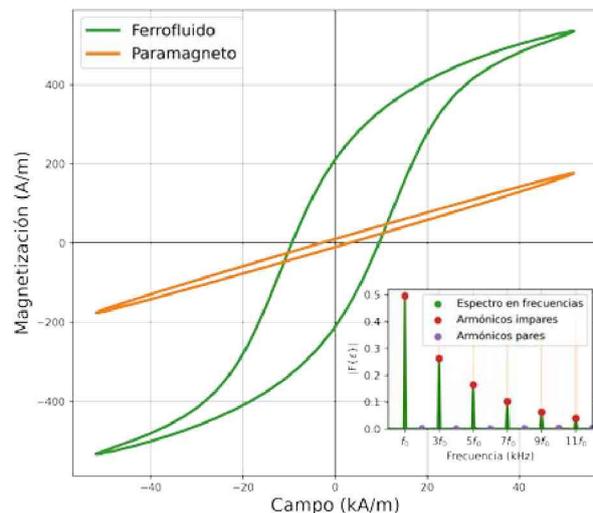


Figura 3: Ciclo de magnético de un FF típico y del patrón paramagnético.

Inserto: Espectro de frecuencias de la muestra. Se puede notar que los únicos armónicos relevantes son los múltiplos impares de la frecuencia fundamental de excitación.

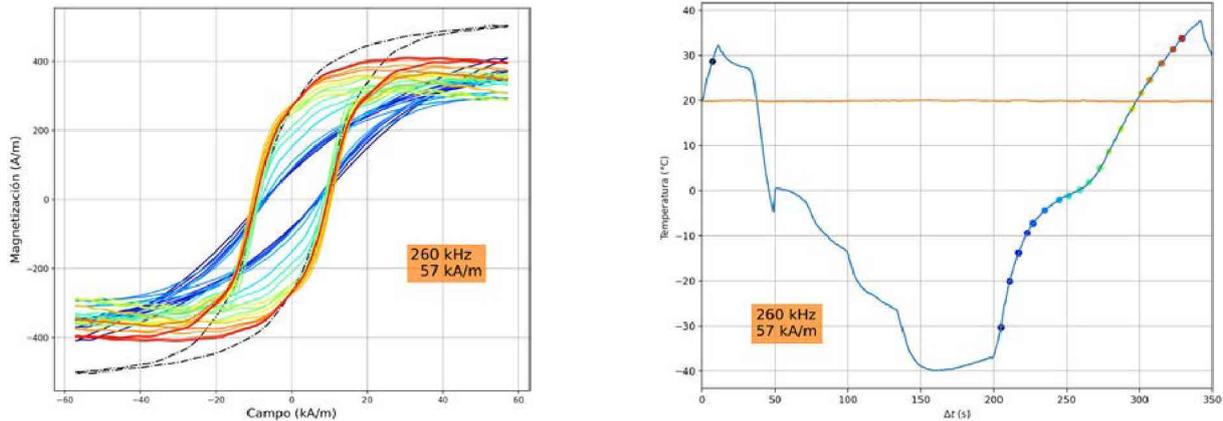


Figura 4: Ciclos magnéticos de un FF para un barrido en temperaturas (izquierda) y registro de temperaturas durante la medida (derecha). El primer ciclo se registró temperatura ambiente, luego de lo cual se procedió a enfriar el FF. A partir de los 200 s se le aplica un campo magnético alterno de amplitud 57 kA m^{-1} , frecuencia 260 kHz ocasionando el aumento de temperatura de la muestra.

Nanoflores magnéticas incorporadas en tejido tumoral *ex vivo*

Se midieron los ciclos magnéticos de RF en tejido tumoral de melanoma *ex vivo* (TT) inoculado *in vivo* con NF, para luego comparar con los ciclos medidos en ferrogel de agarosa con NF distribuidas homogéneamente (FG). Las NF utilizadas en este caso tienen un diámetro medio de $34(4) \text{ nm}$, y están formadas por nanopartículas de magnetita cristalográficamente alineadas de $8(2) \text{ nm}$ diámetro. Se sintetizaron por coprecipitación térmica y se resuspendieron en agua destilada a una concentración de Fe de $3,6 \text{ g L}^{-1}$.

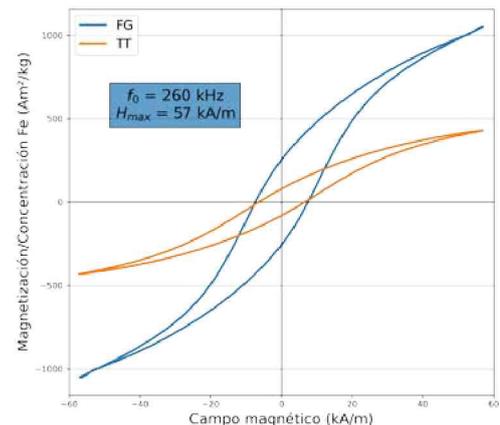


Figura 5: Ciclos de magnetización de FG (azul) y TT (naranja) para un campo de frecuencia 260 kHz y amplitud 57 kA m^{-1} .

Conclusiones

El equipo ESAR permite obtener los ciclos magnéticos de RF para muestras en estado sólido o líquido, con registro simultáneo de la temperatura en el seno de la muestra. Las medidas pueden realizarse con campos en el rango de frecuencias [30 ; 300] kHz y con una amplitud máxima de $57,7 \text{ kA m}^{-1}$.

La posibilidad de obtener los ciclos magnéticos de RF reales de las partículas dentro de cualquier tipo de medio permite una caracterización mucho más amplia que la simple evaluación de la potencia disipada. La evaluación de los componentes armónicos de la magnetización dependiente del tiempo y la determinación del tiempo efectivo de relajación son herramientas útiles para obtener una comprensión más profunda del comportamiento de las partículas en un entorno de aplicación dado.

La medición inductiva de los ciclos magnéticos RF permitió comparar la respuesta de las NF en un modelo típico de medio sólido (FG) y en un medio de aplicación real (TT). Los resultados revelan una disminución de SAR de hasta el 50% en el TT y sugieren que la movilidad de las NF en el FG es distinta a la movilidad en TT debido a las diferentes interacciones entre las partículas y el medio. Estos hallazgos demuestran que el FG tiene una utilidad limitada como fantoma de tejido biológico.

Referencias

- [1] Ignacio Javier Bruvera, R Hernández, Carmen Mijangos, and GF Goya. An integrated device for magnetically-driven drug release and in situ quantitative measurements: Design, fabrication and testing. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 377:446–451, 2015.
- [2] Zachary R Stephen and Miqin Zhang. Recent progress in the synergistic combination of nanoparticle-mediated hyperthermia and immunotherapy for treatment of cancer. *Advanced healthcare materials*, 10(2):2001415, 2021.
- [3] Navid Manuchehrabadi, Zhe Gao, Jinjin Zhang, Hattie L Ring, Qi Shao, Feng Liu, Michael McDermott, Alex Fok, Yoed Rabin, Kelvin GM Brockbank, et al. Improved tissue cryopreservation using inductive heating of magnetic nanoparticles. *Science translational medicine*, 9(379), 2017.
- [4] Andreina Chiu-Lam, Edward Staples, Carl J Pepine, and Carlos Rinaldi. Perfusion, cryopreservation, and nanowarming of whole hearts using colloiddally stable magnetic cryopreservation agent solutions. *Science Advances*, 7(2):eabe3005, 2021.
- [5] U Gneveckow, A Jordan, R Scholz, L Eckelt, K Maier-Hauff, M Johannsen, and P Wust. Magnetic force nanotherapy. *Biomed. Tech*, 50:92–3, 2005.
- [6] Manfred Johannsen, Uwe Gneveckow, Burghard Thiesen, Kasra Taymoorian, Chie Hee Cho, Norbert Waldöfner, Regina Scholz, Andreas Jordan, Stefan A Loening, and Peter Wust. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribution. *European urology*, 52(6):1653–1662, 2007.
- [7] Willem F Wolkers and Harriëtte Oldenhof. *Cryopreservation and freeze-drying protocols*. Springer, 2015.
- [8] Michael L Etheridge, Yi Xu, Leoni Rott, Jeunghwan Choi, Birgit Glasmacher, and John C Bischof. Rf heating of magnetic nanoparticles improves the thawing of cryopreserved biomaterials. *Technology*, 2(03):229–242, 2014.
- [9] Ronald E Rosensweig. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 252:370–374, 2002.
- [10] Louis Néel. Influence des fluctuations thermiques sur l'aimantation de grains ferromagnétiques très fins. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences*, 228(8):664–666, 1949.
- [11] William Fuller Brown Jr. Thermal fluctuations of a single-domain particle. *Physical review*, 130(5):1677, 1963.
- [12] SA Gudoshnikov, B Ya Liubimov, Yu S Sitnov, VS Skomarovsky, and NA Usov. Ac magnetic technique to measure specific absorption rate of magnetic nanoparticles. *Journal of superconductivity and novel magnetism*, 26:857–860, 2013.
- [13] Miloš Beković, Mladen Trlep, Marko Jesenik, Viktor Goričan, and Anton Hamler. An experimental study of magnetic-field and temperature dependence on magnetic fluid's heating power. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 331:264–268, 2013.
- [14] Isaak D Mayergoz. *Mathematical models of hysteresis and their applications*. Academic Press, 2003.