

## **AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E TOXICOLÓGICA DE NANOTUBOS DE CARBONO<sup>1</sup>**

### *TOXICOLOGICAL AND BIOLOGICAL EVALUATION OF CARBON NANOTUBES*

**Samuel Davies<sup>2</sup>, José Alcides Viçosa<sup>2</sup> e Solange Cristina Hoelzel<sup>3</sup>**

#### **RESUMO**

Os nanotubos de carbono são materiais que constituem uma nova tecnologia com diversas expectativas. Para um uso consciente e seguro é necessário a realização de testes avaliando sua toxicidade *in vitro* e *in vivo*, para uma segurança em sua utilização em organismos vivos. A toxicidade desses nanotubos de carbono ainda gera muitas dúvidas quanto à absorção, distribuição, acúmulo e eliminação desse material. Neste trabalho, avaliou-se a toxicidade de nanotubos de carbono de parede múltiplas (NCPM) na concentração de 0,5µg/ml por via intraperitoneal em camundongos. Os animais foram observados por 30 dias quanto as alterações no peso, órgãos e alterações comportamentais dos camundongos. Observou-se uma diminuição da massa pulmonar, escurecimento do fígado e perda de peso nas primeiras 24 horas. A descoberta da biocompatibilidade de nanotubos é fundamental para que venham ser utilizados em organismos vivos com segurança.

**Palavras-chave:** nanotecnologia, toxicidade, biocompatibilidade.

#### ***ABSTRACT***

*Carbon nanotubes are materials that constitute a new technology with different expectations. For a conscious use and safe is necessary to conduct trials evaluating its toxicity in vitro and in vivo, for a safety in its use in living organisms. The toxicity of carbon nanotubes also raises many doubts about the absorption, distribution, accumulation and disposal of this material. In this study we used 8 mice and injected 0.5 mg / ml to evaluate their results. For confirmation of changes in the body of mice were analyzed, their bodies and their weight monitored. Thus*

<sup>1</sup> Trabalho de Iniciação Científica - UNIFRA.

<sup>2</sup> Acadêmicos do Curso de Farmácia - UNIFRA.

<sup>3</sup> Orientadora - UNIFRA.

*observing decreased lung mass, darkening of the liver and weight loss in the first 24 hours. The discovery of the biocompatibility of nanotubes is key to that will be used in living organisms safely.*

**Keywords:** *nanotechnology, toxicology, biocompatibility.*

## INTRODUÇÃO

O carbono é o elemento químico mais abundante e interessante conhecido pelo homem. É um elemento que pode apresentar diferentes formas alotrópicas, sendo uma delas a mais frágil e barata (grafite) e uma das mais duras e caras (diamante). Quando os átomos de carbono se ligam entre si, podem gerar compostos com propriedades, inteiramente, distintas entre si.

Em 1985, foram sintetizados os fulerenos, mais conhecidos como C60, (KROTO et al., 1985), a partir dessa síntese houve um incentivo na busca de novas estruturas. Em 1991, Sumio Iijima, demonstrou pela primeira vez a existência de estruturas tubulares de carbono que denominou nanotubos de carbono (NTC). Essas descobertas deram origem aos estudos que, hoje, denominamos nanociência. Estes apresentam grande número de possibilidades em aplicações tecnológicas, devido as suas propriedades magnéticas, ópticas, mecânicas e alta condutividade elétrica (HUCZKO, 2002).

A diversidade das aplicações, reais ou potenciais, dos NTC, assim como a necessidade de controlar as morfologias apropriadas para sua utilização, fazem da pesquisa, nesta área do conhecimento, um trabalho de característica, eminentemente, multidisciplinar, envolvendo fatores que definem o sucesso de suas aplicações, como rota de síntese, processamento em formas variadas e qualidade dos NTC (HERBS et al., 2004).

Entretanto, é necessário um acompanhamento preliminar para avaliar qualquer risco de toxicidade em organismos vivos. Por esse motivo, são necessários testes de toxicidade e compatibilidade para avaliar os riscos e comportamento frente a materiais biológicos.

A biocompatibilidade é um termo que abrange vários aspectos do material, incluindo desde suas propriedades físicas, mecânicas e químicas até seu potencial citotóxico, alergênico e mutagênico, não apresentando efeitos tóxicos ou causando injúrias na função biológica (SCHMALZ, 2002). Os testes de biocompatibilidade *in vitro* vão mimetizar as condições biológicas para testar materiais, simulando sua implantação nos tecidos do organismo ou sobre eles.

Esses métodos visam a promover a redução de custos na produção de novos materiais (HANKS et al., 1996). A realização de ensaios *in vitro* ainda permite redução no número de animais utilizados na avaliação da biocompatibilidade de um biomaterial (ISO, 1992).

Já nas áreas biomédicas, os nanotubos de carbono apresentam um outro grande desafio, a biocompatibilidade (SMART, 2006). Para os nanotubos serem usados com sucesso para implantes biomédicos, biosensores, veiculação de drogas e vacinas é necessário conhecer sua compatibilidade biológica. Diversos biomateriais compostos de carbono têm demonstrado excelente biocompatibilidade e grandes vantagens em aplicações em dispositivos biomédicos. Entretanto, no caso dos nanotubos de carbono e fulerenos, tem sido agregada uma alta toxicidade em testes *in vivo* (CHLOPET, 2006). Porém, poucos estudos foram realizados até o momento nesses tópicos, e os trabalhos já existentes mostram-se não conclusivos e até mesmo contraditórios.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar as possíveis reações de toxicidades de nanotubos de carbono em camundongos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NCPM) foram adquiridos comercialmente da Sigma-Aldrich. Para a administração dos nanotubos de carbono, foram dispersos em uma solução de PBS/Tween 80 na concentração de 0,5µg/ml.

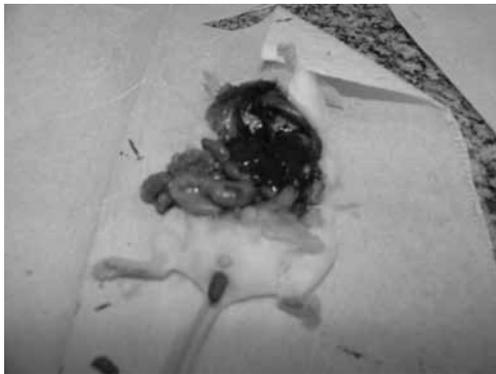
Foram utilizados 8 camundongos fêmeas Swiss com idade entre 50 e 60 dias, com peso entre 28,93 a 37,88 gramas, provenientes do Biotério Central, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os animais foram alojados em gaiolas de plásticos contendo maravalha e receberam água e ração *ad libitum*. O local de estudo, no qual os animais estavam alojados era de, aproximadamente, 22°C e umidade relativa de 70%. Após 2 dias de adaptação, os animais foram pesados e divididos em 2 grupos (n=8). 100mL da solução de NCPM foi administrada por via intraperitoneal. Os animais foram observados, diariamente, por 30 dias. Os animais do grupo controle foram mantidos nas mesmas condições do grupo que receberam amostras de NCPM.

## **RESULTADOS**

A administração dos nanotubos de carbono, nos camundongos, provocou uma leve agitação e, logo após, fortes espasmos musculares. Ainda, os mesmos se aglomeraram em um canto da gaiola de plástico.

Durante 30 dias, acompanhou-se o peso dos camundongos que, na primeira pesagem, 24hs após a administração dos nanotubos de carbono, mostraram um comportamento de agitação mais acentuado que o grupo controle. Avaliando o peso anterior a administração e após 24 horas de administrado os nanotubos de carbono, constatou-se perda de 4,78% do peso dos camundongos do grupo administrado em relação a 2,4% de perda do grupo controle. Mas, após essa perda de peso, pode-se observar a manutenção do peso dos camundongos administrados com nanotubos de carbono.

No final do período de 30 dias, os animais foram sacrificados e os órgãos foram analisados morfológicamente. Na análise dos órgãos dos camundongos pode-se observar a presença de petequias no fígado dos camundongos, em que foram administrados os nanotubos de carbono em relação ao grupo controle, conforme as figuras 1 e 2. Também observou-se a diminuição da massa pulmonar.



**Figura 1** - Órgãos do camundongo do grupo controle (solução salina).



**Figura 2** - Presença de petequias no fígado do camundongo após administração de NTCP(0,5ug/ml).

## DISCUSSÃO

Nanotubos de carbono na concentração de 0,5µg/ml alterou o estado normal dos camundongos. Por esse motivo, é interessante notar que, segundo alguns trabalhos preliminares, os nanotubos puros apresentam toxicidade *in vivo* e *in vitro*, enquanto os nanotubos de carbono quimicamente funcionalizados apresentam uma boa compatibilidade biológica (CHLOPET, 2006).

Pode-se observar uma perda de peso nas primeiras 24 horas, assim como Lam et al. (2004) detectaram perda de peso corporal, sendo estas caracterizadas por desenvolverem granulomas intestinais, fibrose e estresse oxidativo, independentemente, do nanotubo de carbono e da quantidade de impureza contida no tubo.

Quanto aos efeitos causados por exposição via respiratória, alguns pesquisadores (LAM et al., 2004; KAGAN et al., 2005; WANG et al., 2004), mostraram estudos realizados *in vivo*, no qual ratos foram expostos a nanotubos de parede múltipla que continham em sua estrutura contaminantes como Ni, Al, Cu, Mo, Zn e Co. Como resultado, respostas inflamatórias nos pulmões, diminuição na função pulmonar e aumento susceptível a infecções foram observados (KAGAN et al., 2005). A redução da massa pulmonar dos camundongos também tem sido observada por vários autores. Lam et al. (2003), realizaram estudos com nanotubos de carbono de parede simples *in vivo* em camundongos, por via inalatória e demonstraram que os nanotubos de carbono induziram injúria pulmonar, com granulomas multifocais.

No estudo realizado por Poland et al. (2008) utilizaram nanotubos de carbono puros e demonstraram que há efeito carcinogênico em camundongos quando administrados na cavidade abdominal dos animais. A amostra de NCPM foi homogeneizada em solução salina e albumina sérica e 50mg foi administrada na cavidade intraperitoneal de camundongos. Os autores observaram um acúmulo dos NCPM no mesentério diafragmático e formação de granulomas, principalmente, com amostras superior a 20mm de comprimento.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que os nanotubos de carbono de parede múltiplas alteraram o comportamento dos animais após 24 horas da administração de 5mg/ml. Os animais do grupo tratado apresentaram perda de peso (4,78%) em relação ao grupo controle.

Em relação às alterações dos órgãos, observou-se diminuição da massa pulmonar e a presença de petequias.

Nesses resultados evidencia-se sinais de toxicidade, sendo necessário realizar mais pesquisas que possibilite estabelecer os riscos, tanto à saúde quanto ambiental, para uma adequada comercialização e, desta forma, evitar danos à população com o uso desses materiais em aplicações na medicina.

## REFERÊNCIAS

CHLOPET, J. et al. In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility. **Carbon**, v. 44, n. 6, p. 1106-1111, 2006.

HANKS, C. T.; WATAHA, J. C.; SUN, Z. In Vitro Models of Biocompatibility: A Review. **Dent. Mater.**, may, v.12, n.3, p.186-93, 1996.

HERBS, M. H.; MACEDO, M. I.; ROCCO, A. N. Tecnologia dos Nanotubos de Carbono: Tendências e Perspectivas de uma Área Multidisciplinar. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 986-992, 2004.

HUCZKO, A. Synthesis of aligned carbon nanotubes. **Applied. Physic A**, v. 74, p. 617-638, 2002.

IJIMA, S. Helical microtubes of graphitic carbon. *Nature*, v. 354. p. 56-58, 1991.

ISO 10993-1. **Biological evaluation of medical devices. Part 1:** guidance on selection of tests. International organization for standardization. Geneva, 1992.

KROTO, H. W., et al. C60 Buckminsterfullerene. **Nature**, v. 318, n. 14, p. 62-163, 1985.

KAGAN, V. E.; BAYER, H. B.; SHVEDOVA, A. A. Nanomedicine and Nanotoxicology: two sides of the same coin. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 1, p. 313-316, 2005.

LAM, C. et al. Pulmonary toxicity of carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. **Toxicological Sciences**. v. 72, n. 1, p. 44, 2003.

LAM, C. et al. Pulmonary Toxicity of Single-Wall Carbon Nanotubes in Mice 7 and 90 Days After Intratracheal Instillation. **Toxicological Sciences**. v. 77, p. 126-134, 2004.

POLAND C. A. et al. Carbon nanotubes introduced into the addominal cavity of mice show asbestos-ike pathogenicity in a pilot study. **Nat. Nanotechnol.** v. 3, p. 423-428, 2008.

SMART, S. et al. The Biocompatibility of Carbon Nanotubes. **Carbon**, v. 44, p. 1034-1047, 2006.

SCHMALZ, G. Material science: biological aspects. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v. 81, n. 10, p. 660-663, 2002.

WANG, H. et al. Biodistribution of carbon single-wall carbon nanotubes in mice. **Journal Nanotechnology**. v. 4, n. 8, p. 1019-1023, 2004.

