2 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

2.1. Introdução

Partículas magnéticas têm uma grande variedade de uso. Quando se apresentam muito concentradas em um líquido, este conjunto recebe o nome de ferrofluido [11]. Elas podem, por exemplo, ser usadas para separação e limpeza de óleos nas indústrias de petróleo.

Soluções de nanopartículas magnéticas com concentrações bem menores que nos ferrofluidos estão sendo usadas atualmente em biologia e medicina. Este uso tem aumentado muito nos últimos anos, tanto em procedimentos “in vivo” (transporte de drogas, destruição de células cancerígenas etc.) como em procedimentos “in vitro” (ensaios imunológicos) [12]. Nesta tese a ênfase será nas aplicações de nanopartículas magnéticas em ensaios imunológicos, mais precisamente em como quantificá-las usando SQUID (“Superconductor Quantum Interference Device” – Dispositivo Supercondutor de Interferência Quântica). Mas será apresentado a seguir, de forma muito resumida, algumas das possibilidades de uso de nanopartículas magnéticas “in vivo”.

2.2. Aplicações de nanopartículas “in vivo”

Não é possível descrever todas as aplicações das nanopartículas no auxílio da cura de doenças, pois as alternativas são muitas e estão sempre aparecendo novas aplicações nesta área [12]. Serão apresentadas então algumas delas. Para uso “in vivo” é necessário recobrir primeiramente as nanopartículas magnéticas com um material biocompatível para minimizar efeitos de rejeição pelos anticorpos do organismo. Por cima desta, elas podem receber outra camada de

cobertura que pode ser um medicamento para atacar alguma célula específica ou cobertura que tenha por finalidade favorecer o acoplamento às células alvo para as quais elas são projetadas. O procedimento de colocação desta cobertura externa é comumente chamado de funcionalização.

2.2.1. Transportadores de drogas

As nanopartículas magnéticas podem ser funcionalizadas com drogas específicas para combater algum problema em uma determinada região do organismo (células cancerígenas, por exemplo). É necessário então concentrar estas nanopartículas magnéticas ligadas às moléculas da droga na região das células alvo. Isto é feito colocando-se um imã externamente ao corpo, próximo da região alvo e injetando a solução com as nanopartículas magnéticas funcionalizadas no sangue. Ao passarem próximas ao imã, logo, próximas a células alvo, as nanopartículas funcionalizadas vão ficando retidas nesta região. Então a droga pode ser liberada pelo aumento de temperatura gerado por modulação do campo magnético (veja 2.2.2), por ação de enzimas específicas que quebram as ligações entre as nanopartículas e a droga ou por mudanças nas condições do meio (pH, temperatura ou osmolalidade*) [13].

2.2.2. Magnetohipertermia

A magnetohipertermia consiste em aquecer as células cancerígenas ligadas às nanopartículas magnéticas por meio de campos magnéticos alternados. É um método que tem bons resultados no tratamento de câncer. Funciona quando os tipos de células cancerígenas a serem atacadas são mais suscetíveis à temperatura que as células normais. Neste procedimento, as nanopartículas magnéticas não precisam estar funcionalizadas com drogas, porém não dispensam o revestimento com a

* Osmolalidade refere-se ao número de partículas osmoticamente ativas de soluto por massa do solvente.

camada de material biocompatível uma vez que serão usadas dentro do corpo humano. A concentração numa região próxima das células cancerígenas pode ser obtida pela colocação de um ímã externamente ao corpo. Depois, outro campo é aplicado, neste caso, um campo alternado numa determinada frequência e amplitude que, ao entrar em ressonância com as nanopartículas, fazem com que elas absorvam energia e aqueçam a região destruindo assim as células cancerígenas. Como alternativa à colocação inicial do ímã externo, as nanopartículas magnéticas podem ser funcionalizadas com os anticorpos específicos para o tipo de célula cancerígena desejado. Desta forma elas vão se ligar ao câncer e a destruição por aumento de temperatura será mais eficiente [14, 15].

2.2.3. Ressonância magnética

O uso de solução com nanopartículas magnéticas como contraste para o exame de Imagem por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (Nuclear Magnetic Resonance - NMR) maximiza a resolução deste método. Este procedimento pode ser feito em conjunto com o método terapêutico de magnetohipertermia descrito acima da seguinte forma: Uma solução contendo nanopartículas magnéticas biocompatíveis e funcionalizadas com anticorpos para o câncer é injetada no organismo, estas partículas ficarão ligadas às células cancerígenas devido aos anticorpos. O procedimento de imagem por RMN mostrará em que partes do corpo estão localizadas estas nanopartículas e, conseqüentemente, as células cancerígenas. Depois, o procedimento da magnetohipertermia descrito acima pode ser aplicado nas regiões determinadas pela imagem obtida [15].

2.3. Ensaio imunológico com nanopartículas

O ensaio imunológico é uma importante ferramenta no diagnóstico clínico e na pesquisa básica, por causa de sua sensibilidade, especificidade, e ampla aplicabilidade.

O procedimento mais usual em ensaios imunológicos para detectar moléculas biológicas se baseia em promover, de alguma forma, a ligação entre estas moléculas e elementos marcadores capazes de gerar um sinal observável. As nanopartículas magnéticas, ligadas a anticorpos, são cada vez mais aplicadas em ensaios imunológicos. Inicialmente elas eram usadas com o objetivo de facilitar a manipulação de elementos biológicos como, por exemplo, a separação de antígenos. Depois, elas começaram a ser usadas como marcadores, ou seja, para indicarem a quantidade de um determinado elemento biológico. Estes marcadores estão sendo usados durante pelo menos quatro décadas. As primeiras técnicas para a medição de marcadores biológicos em ensaios imunológicos são descritas em [16], onde são analisadas técnicas não magnéticas mostrando as vantagens e desvantagens de cada uma. Os marcadores usados eram radioativos, fluorescentes ou uma combinação entre marcadores enzimáticos com detecção por fluorescência (ELISA).

2.3.1. Caracterização por Técnica Radioativa

Na técnica radioativa, antígenos em quantidades previamente conhecidas contendo átomos radioativos de iodo ou hidrogênio (^{125}I , ^3H) “competem” com antígenos não marcados de quantidade a ser determinada no processo de ligação a anticorpos de quantidade também conhecida. A radioatividade dos antígenos que sobraram é então comparada com o uma medida obtida numa experiência de controle realizada anteriormente quando só havia os antígenos radioativos e os anticorpos. A diferença de radioatividade, entre as medições sem e com os antígenos não marcados, é proporcional a quantidade destes antígenos.

2.3.2. Caracterização por Fluorescência

Nesta técnica, as nanopartículas magnéticas recebem mais uma cobertura de materiais fluorescentes além das anteriores. Estas nanopartículas são ligadas aos anticorpos específicos para o antígeno a ser quantificado. O procedimento para a ligação entre nanopartículas e antígeno é o usual. A quantificação é feita medindo a fluorescência da amostra.

Outro método que usa a fluorescência para detecção é o ELISA, onde anticorpos primários são ligados aos antígenos de interesse e, depois, anticorpos secundários contendo enzimas são acoplados aos primários, sem mudar as propriedades funcionais destes. Posteriormente estas enzimas produzem efeitos de fluorescência na presença de outra substância que é adicionada ao ensaio.

2.3.3. Caracterização por Magnetismo

No início, o magnetismo era usado apenas para facilitar o transporte e separação nos ensaios imunológicos que usavam as outras técnicas descritas anteriormente. A detecção magnética destas nanopartículas era extremamente difícil, pois o campo magnético gerado por elas é muito pequeno para ser detectado por sensores magnéticos convencionais.

Com o desenvolvimento de sensores magnéticos mais eficientes, capazes de medir campos muito fracos (como o SQUID, por exemplo), começou a ficar possível a detecção destas nanopartículas magnéticas diretamente por sua propriedade magnética sem ser necessária a colocação de material fluorescente ou radioativo.

Existem três modos de se explorar as propriedades magnéticas das nanopartículas. A escolha do mais adequado depende das características específicas das nanopartículas e do sensor utilizado. São eles: (i) medição de remanência, onde um campo magnético é previamente aplicado para magnetizar as nanopartículas e depois retirado antes da

medição [1, 17, 2]; (ii) medição de relaxação, onde o decaimento da magnetização é medido assim que o campo aplicado é desligado [3, 4, 5] e (iii) medição de suscetibilidade, onde a resposta magnética das nanopartículas é detectada com campo aplicado [6, 7]. Em toda a bibliografia citada, as amostras com nanopartículas magnéticas estão à temperatura ambiente e, na maioria, a medição é feita dentro de uma câmara blindada para eliminar influência de campo magnético externo.