

ATAS DO
5º CONGRESSO NACIONAL DE BIOMECÂNICA
*PROCEEDINGS OF THE
5TH PORTUGUESE CONGRESS ON BIOMECHANICS*



COMISSÃO ORGANIZADORA / *ORGANIZING COMMITTEE*

Renato M. Natal Jorge, FEUP
João Manuel R.S. Tavares, FEUP
Jorge Américo de Oliveira Pinto Belinha, IDMEC-FEUP
Marco Paulo Lages Parente, IDMEC-FEUP
Pedro Alexandre Lopes de Sousa Martins, IDMEC-FEUP

PATROCÍNIOS E APOIOS INSTITUCIONAIS / *SPONSORSHIP AND INSTITUTIONAL SUPPORT*



A INFLUÊNCIA DE UM CAMPO MAGNÉTICO ESTÁTICO NO ESCOAMENTO SANGUÍNEO COM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

N. Pereira¹, M. Mujika², S. Arana², T. Correia^{1,3}, A. M. T. Silva⁴, H. T. Gomes^{1,4}, P. J. Rodrigues¹, R. Lima^{1,5}

¹ Instituto Politécnico de Bragança (IPB); nuno_7_pereira@hotmail.com, {htgomes, pjsr, ruimec}@ipb.pt

² CEIT, Universidade de Navarra, Parque Tecnológico de San Sebastian; {mmujika, sarana}@ceit.es

³ CIMO, Instituto Politécnico de Bragança (IPB); tcorreia@ipb.pt

⁴ LCM – Laboratório de Catálise e Materiais – Laboratório Associado LSRE/LCM, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto; adrian@fe.up.pt, htgomes@ipb.pt

⁵ CEFT, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP); ruimec@ipb.pt

PALAVRAS CHAVE: Nanopartículas magnéticas, Camada de Plasma, Biomicrofluídica, Células sanguíneas.

RESUMO: De forma a realizar estudos de escoamentos em microcanais e avaliar a influência das nanopartículas, sob a ação de um campo magnético estático, na espessura da camada de plasma, foram produzidas nanopartículas de óxido de ferro por síntese solvotérmica, sendo posteriormente colocadas em suspensão num fluido fisiológico constituído por eritrócitos. Verificou-se que as nanopartículas com características magnéticas proporcionam a diminuição da espessura da camada de plasma, um comportamento contrário ao observado com nanopartículas sem características magnéticas.

1 INTRODUÇÃO

A camada de plasma (CP), ou camada livre de células, é um fenómeno fisiológico que ocorre em microvasos e microcanais, ou seja, existe em microsistemas *in vivo* e *in vitro*. Este fenómeno deve-se à tendência dos glóbulos vermelhos (GVs) migrarem para o centro do microvaso/microcanal (migração axial), sendo a CP uma zona com concentração bastante reduzida de células [1-4]. Neste estudo pretende-se verificar se este fenómeno sofre alguma alteração com a introdução de nanopartículas de óxido de ferro, que para tal foram colocadas em suspensão num fluido fisiológico constituído por GVs e soro fisiológico, sob ação de um campo magnético estático. Como objetivo futuro pretende-se avaliar se as nanopartículas que apresentam propriedades magnéticas podem ser utilizadas para destruir células cancerígenas

por meio dum processo de hipertermia magnética [5].

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Numa primeira fase deste estudo foram produzidas, por um método solvotérmico, vários tipos de nanopartículas de óxido de ferro: (i) magnéticas - NP1 e NP6 (constituídas por Fe_3O_4); (ii) NP2 e NP5 (compostas por uma mistura de Fe_3O_4 e $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e (iii) não magnéticas - NP3 e NP4 (óxidos de ferro sem características magnéticas). As principais condições de síntese de cada amostra encontram-se resumidas na Tabela 1. Para comparação foram também utilizados dois tipos de nanopartículas comerciais, nomeadamente NPC (constituídas por $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e NPCE (contendo nanopartículas de Fe_3O_4

encapsuladas por ácido cítrico e um sal de sódio).

Tab. 1 - Condições de síntese das nanopartículas.

Amostra	FeCl ₃ (mmol)	NaOH (mmol)	Tempo (h)	T (°C)
NP1	5	20	6	180
NP2	2.5	20	6	180
NP3	10	20	6	180
NP4	5	10	6	180
NP5	5	30	6	180
NP6	5	20	6	180

As experiências de escoamento realizaram-se em microcanais de vidro (300 µm) em borosilicato (*Vitrocom*, EUA). Inicialmente estudou-se o comportamento da CP num fluido fisiológico com um hematócrito (Hct) de 5%, misturando-se de seguida vários tipos de nanopartículas magnéticas (NP6, NPC e NPCE) e não magnéticas (NP4) suspensas em soro (1% de concentração), sob a ação de um campo magnético estático e na ausência deste. Na Figura 1 pode ser observado o sistema de microscopia utilizado neste estudo, constituído por um microscópio invertido (*IX71, Olympus*), uma câmara de alta velocidade (*i-SPEE LT, Olympus*) e uma bomba de seringa (*Harvard Apparatus PHD ULTRA*). Informação adicional sobre este sistema pode ser consultada em Pereira 2012 [6] e Lima et al. 2012 [7].

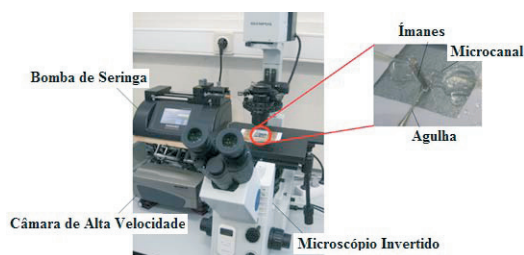


Fig. 1 Sistema para a visualização do escoamento no microscópio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 2 pode ser observada a área demarcada da CP após tratamento de imagem utilizando o software *Image J*. A Figura 2a corresponde a uma imagem do escoamento de um fluido fisiológico com

5% Hct, na ausência de campo magnético, enquanto que a Figura 2b corresponde a uma imagem do escoamento de um fluido fisiológico com 5% de Hct e 1% de NP4.

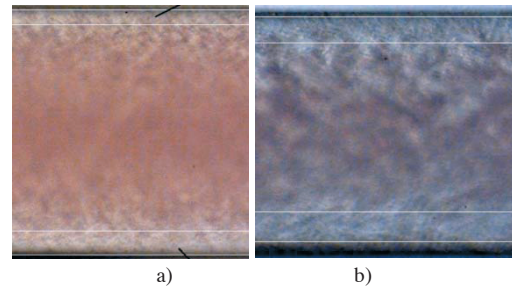


Fig. 2 Visualização da zona correspondente à CP para a) um fluido fisiológico com 5% Hct; b) um fluido fisiológico com 5% de Hct e com 1% de concentração de NP4.

Na Figura 3 são apresentados os valores correspondentes à espessura da CP do sangue com 5% Hct e para o sangue com 5% Hct misturado com as nanopartículas NP4, NP6, NPC e NPCE.

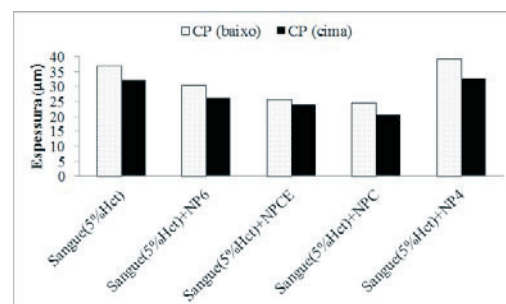


Fig. 3 Espessura da CP para sangue com 5% Hct e para sangue com 5% Hct misturado com 4 tipos distintos de nanopartículas. CP (baixo) corresponde à análise da área inferior da imagem; CP (cima) corresponde à análise da área superior da imagem.

Os resultados da Figura 3 evidenciam que a presença de nanopartículas magnéticas proporciona a diminuição da espessura da CP, sugerindo que as nanopartículas no plasma diminuem a tendência dos GVs em migrarem axialmente. Por outro lado, a presença de nanopartículas não magnéticas (NP4) proporciona um ligeiro aumento da espessura da CP, podendo dever-se ao facto das nanopartículas NP4 formarem aglomerados de GVs e de nanopartículas.

Nos ensaios realizados sob a ação de um campo magnético estático estudaram-se 4 zonas distintas dos microcanais. Na figura 4 identificam-se essas 4 zonas, correspondendo a uma zona onde é aplicado o campo magnético - “meio central (C)”, uma zona imediatamente anterior e posterior a este campo - “antes montante (M)” e “depois jusante (J)”, respetivamente, e uma zona a montante mais afastada do campo magnético, cerca de 650 μm para trás - “mais montante (MM)”. Foram aplicadas diferentes intensidades de campo magnético (61.5, 123.1 e 138.5 G) e estudado o escoamento de 3 tipos de nanopartículas (NP6, NPC e NPCE), verificando assim o efeito destas condições na CP. Em todos os casos capturaram-se imagens minuto a minuto à medida que se aumentava a intensidade do campo magnético, exceto para o caso do estudo realizado com as nanopartículas NPCE, na zona central, para a situação em que foi aplicado um campo magnético de 138.5 G (verificou-se um fenómeno interessante, visível mais à frente, optando-se por esperar mais algum tempo para capturar o vídeo).

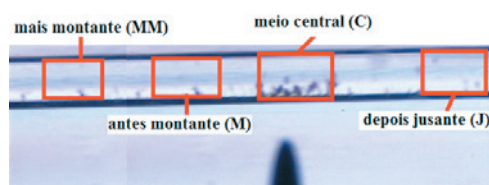


Fig. 4 Diferentes zonas do microcanal estudadas nos ensaios realizados sob a ação de um campo magnético estático.

Na Figura 5 apresentam-se os valores da camada de plasma para as nanopartículas NPCE, tendo em consideração a zona estudada e o campo magnético aplicado. Verifica-se a existência de camada de plasma na parte de baixo na zona “MM”, diminuindo a sua espessura na zona seguinte (“M”) para desaparecer por completo nas zonas a seguir (“C” e “J”), verificando-se esta sequência independentemente da intensidade do campo magnético aplicado. Por sua vez,

para a camada de plasma existente na parede de cima e na zona “C”, observa-se que quanto maior o campo magnético maior a tendência da camada de plasma aumentar na parte superior, podendo dever-se ao facto de os GVs conterem Fe na sua composição, fazendo com que os GVs também se aproximem da zona do campo magnético. Com as nanopartículas NPCE foi ainda observado um fenómeno interessante na zona “C”, quando aplicado o campo magnético de 138.5 G (Figura 6).

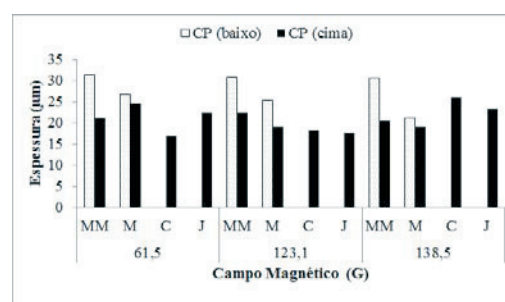


Fig. 5 Espessura da CP observada nos estudos com as nanopartículas NPCE, tendo em conta as distintas zonas estudadas e o campo magnético aplicado.

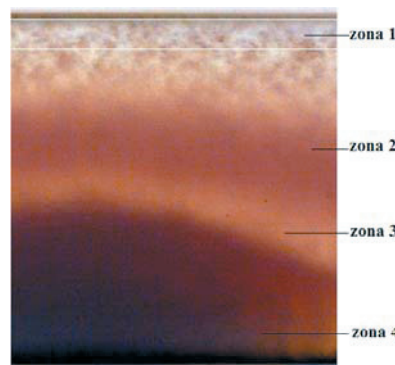


Fig. 6 Imagem obtida no escoamento de nanopartículas da amostra NPCE, na zona “C”, quando sujeitas a um campo magnético de 138.5 G.

Observa-se que as nanopartículas começam a aglomerar, ocorrendo um fenómeno fluido bastante interessante, sendo evidente a existência de um escoamento trifásico. A primeira fase é uma parte com zonas praticamente sem células (zona 1) e corresponde à camada de plasma, a fase seguinte é uma zona mais evidente (zona 2) e corresponde à zona central (cor avermelhada) onde se pode observar uma elevada concentração de GVs devido à

tendência destas células migrarem para o centro do microcanal. Uma terceira fase (zona 3) corresponde a uma zona com uma menor concentração de células sanguíneas, verificando-se uma mistura do “plasma” (soro fisiológico e Dx40) juntamente com as nanopartículas magnéticas que estão a migrar na direção do campo magnético situado na parede inferior. Adicionalmente existe uma outra zona mais escura (zona 4) que diz respeito à aglomeração das nanopartículas devido às forças magnéticas geradas pelo campo magnético aplicado exteriormente.

Por sua vez, nas Figuras 7 e 8 apresentam-se os valores da camada de plasma para as nanopartículas NP6 e NPC, respectivamente.

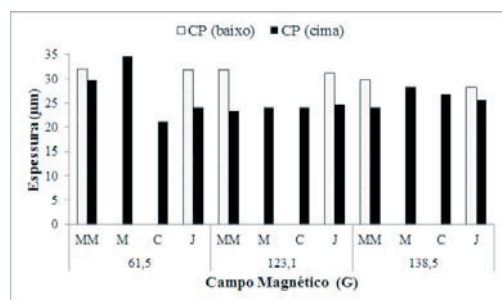


Fig. 7 Espessura da CP observada nos estudos com as nanopartículas NP6, tendo em conta as distintas zonas estudadas e o campo magnético aplicado.

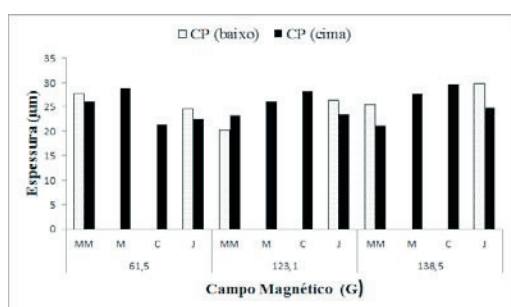


Fig. 8 Espessura da CP observada nos estudos com as nanopartículas NPC, tendo em conta as distintas zonas estudadas e o campo magnético aplicado.

Analisando as Figuras 7 e 8, verifica-se que, contrariamente ao observado nos estudos com as nanopartículas NPCE, a camada de plasma existente na parte de baixo da zona “MM” tem tendência a desaparecer nas duas zonas seguintes (“M” e “C”), pois as partículas NP6 e NPC

começam rapidamente a aglomerar-se na zona anterior onde é aplicado o campo magnético (“M”). Contudo, a CP reaparece novamente depois da zona onde se aplica o campo magnético (“J”), uma vez que, contrariamente às NPCE, não existem, possivelmente, micro-turbulências que proporcionam o aumento da mistura dos vários elementos que constituem o fluido. Na região “J”, a mistura das nanopartículas NPCE com os GVs promove a formação de uma zona com uma baixa concentração de GVs quando comparada com a zona axial do microcanal.

Relativamente à camada de plasma na parte de cima, também aqui, como no caso dos estudos conduzidos com as nanopartículas NPCE, quanto maior a intensidade do campo magnético maior a camada de plasma na zona “C”.

4. CONCLUSÕES

Nos estudos de escoamento realizados verificou-se que as nanopartículas, magnéticas e não magnéticas, têm influência na espessura da camada de plasma do sangue, sendo que as nanopartículas magnéticas promovem a diminuição dessa espessura enquanto as nanopartículas não magnéticas promovem o aumento dessa espessura. Conclui-se também que, dependendo do tipo de nanopartículas e das zonas que se analisa, se obtém distintos comportamentos. No caso das nanopartículas NPCE a camada de plasma após a zona “M” deixa de existir, enquanto que com as nanopartículas NP6 e NPC a camada de plasma desaparece na zona “M” e “C”, mas reaparece na zona “J”.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FCT, COMPETE, QREN e União Europeia (FEDER) pelo financiamento através dos seguintes projetos: PTDC/SAU-BEB/105650/2008, PTDC/SAU-BEB/108728/2008, PTDC/EME-MFE/099109/2008, PEst-C/EQB/LA0020/2011 e PTDC/SAU-ENB/116929/2010.

REFERÊNCIAS

- [1] Lima R., et al., Blood flow behavior in microchannels: advances and future trends, In: Dias et al. (Eds), *Single and two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering*, BSP, 513-547 (2012).
- [2] Garcia V., et al., In Vitro Blood Flow Behaviour in Microchannels with Simple and Complex Geometries, *Applied Biological Engineering – Principles and Practice*, Ganesh R. N.(ed.), InTech, 393-416 (2012).
- [3] Lima, R., et al, Radial dispersion of red blood cells in blood flowing through glass capillaries: role of hematocrit and geometry, *Journal of Biomechanics*, 2188-2196, 2008.
- [4] Kim, S., et al., A computer-based method for determination of the cell-free layer width in microcirculation. *Microcirculation*, 199-207 (2006).
- [5] Tartaj, P., Morales, M. P., Veintemillas-Verdaguer, S., Gonzales-Carreño, T. and Serna, J. C., “*The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*”, *J Phys D Appl Phys*. 36, page 182-197, 2003.
- [6] Pereira, N., Desenvolvimento de Nanopartículas Magnéticas para Aplicações Biomédicas, Mestrado Tecnologia Biomédica, IPB, Bragança (2012).
- [7] Lima, R., et al., Micro-flow visualization of magnetic nanoparticles for biomedical applications, In: Dias et al. (Eds), *Single and two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering*, BSP, 600-612 (2012).