

Despre utilizarea unor mijloace nano-terapeutice în medicină About the use of nano-therapeutic means in medicine

Andraia Bianca Chirilă, Romeo T. Cristina

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Cuvinte cheie: *mijloace nano-terapeutice, fluide magnetice, review*

Key words: *nano-therapeutic means, magnetic fluids, review*

Rezumat

Nanobiotehnologia este un câmp relativ nou de cercetare, constituind interfața dintre științele vieții și nanotehnologie. În acest domeniu unde dimensiunile cu care se lucrează sunt cuprinse între 1 nm și 100 nm se propune exploatarea calității biomoleculilor și a proceselor pe care le implică pentru dezvoltarea unor materiale sau dispozitive cu activitate certă în medicină. Prezenta abordare bibliografică propune o primă incursiune în utilizarea unor mijloace nano-terapeutice în medicină. Sunt prezentate sintetic principalele nanomateriale, proprietățile și posibilele lor utilizări în nanomedicină, fluidele magnetice, sinteza și stabilizarea lor precum și progresele recente în acest topic.

Abstract

Nanobiotechnology is a relatively new field of research, being the interface between the life sciences and nanotechnology. In this area where the work dimensions are between 1 nm and 100 nm the recovery of biomolecules' quality and the processes involved it is proposed, in the development of materials or devices with certain medical activity. This bibliographic approach proposes a first foray into nano-therapeutic resources use in the medical field. Are presented synthetically the main nanomaterials, their properties and potential applications in nanomedicine, magnetic fluids, their synthesis and stabilization as well as recent advances in this topic.

Nanobiotehnologia este un câmp nou de cercetare, constituind interfața dintre științele vieții și nanotehnologie. În acest domeniu unde dimensiunile cu care se lucrează sunt cuprinse între: 1 nm și 100 nm (1).

Acest domeniu propune exploatarea calității biomoleculilor și a proceselor pe care le implică pentru dezvoltarea unor materiale sau dispozitive cu activitate certă în medicină. Medicamentele substanțe care, în general determină modificări favorabile în organism dar pot de asemenea fi nocive datorită mai ales a:

- ▶ efectelor nedorite,
- ▶ reziduurilor,
- ▶ fenomenelor de rezistență.

De exemplu, peste 70% dintre bacteriile care determină infecții intra-spitalicești sunt rezistente la cel puțin un antibiotic!

Cel mai cunoscut exemplu este cel al tulpinilor meticilino-rezistente (fig. 1) (1).

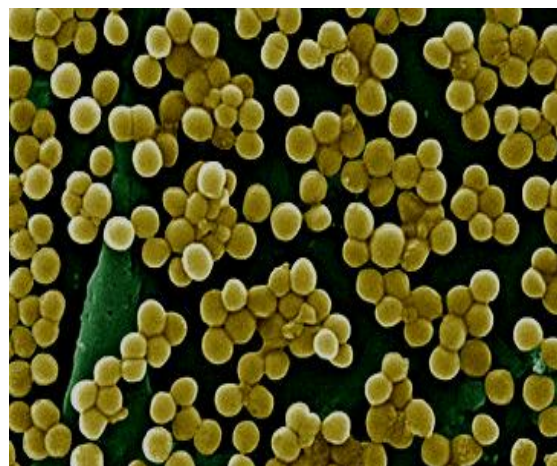


Figura 1. Tulpini Methicillin-Rezistente de *Staphylococcus aureus* (MRSA) evidențiate prin Scanning Electron Micrograph (SEM) Sursa: [http://img.timeinc.net/time/daily/2007/0706/a_lantibiotics_0618.jpg\(1\)](http://img.timeinc.net/time/daily/2007/0706/a_lantibiotics_0618.jpg(1))

Un alt mecanism de supraviețuire bacteriană este: „*Ply Sly mechanism*”, în

care bacteriile pot evita și mai apoi elimina antibioticul, pompându-l extracelular (fig. 2).

Deci microorganismele care pot genera rezistență, posedă forme de „inteligentă”, așa că noile tipuri de substanțe active trebuie să

„identifice” acele căi care le fac „și mai inteligente”!

Acesta a fost începutul acestei științe (1).



How Bacteria Fight Back

Antibiotics kill bacteria by blocking necessary enzymes (see 1, above). But bacteria ply sly mechanisms for evading attack. They spew out enzymes to slice apart the antibiotic (2). They close off the cell wall to prevent penetration (3). They pump out the antibiotic before it can kill (4) or change the targeted enzyme to disable the drug (5). And they easily pass on the best tools to still other bugs.

Figura 2. mecanismul PlySly bacterian

(Sursa: http://s3.amazonaws.com/readers/healthmad/2007/07/22/43701_0.jpg) (1)

În acest context nanotehnologia terapeutică caută să ofere caracteristici specifice care pot reduce morbiditatea și mortalitatea la om și animale:

- ▶ o terapie invazivă minimală,
- ▶ funcții cu densitate înaltă,
- ▶ concentrarea în volume foarte mici.

FDA- definește un sistem de eliberare al farmaconilor ca fiind: „... un produs destinat diagnosticului, tratamentului, prevenirii, sau diminuării unei boli sau a condițiilor ei de apariție, sau care interferează o funcție sau structura organismului și care nu-și atinge efectul său primar ca urmarea unei interacțiuni chimice și care nu este metabolizat...” (1).

Aplicațiile inițiale, de pionierat ale nanobiotehnologiei au dat posibilitatea reformulării unor condiționări, considerate până atunci a fi toxice în formule sigure și mult mai eficiente (1).

Astfel nano-formulările din prima generație au inclus:

- ▶ nanoparticulele de tip albumin-bound,
- ▶ chelații (gadolinu),
- ▶ particulele oxido-feroase,
- ▶ nanoparticulele din argint,
- ▶ restorativele (în stomatologie) și

▶ lipozomii (ca primi reprezentanți ai celei de a doua generații).

Dintre numeroasele studii „on the topic” fluidele magnetice sunt considerate a fi printre primele aplicații verificate ale nanoștiințelor. Un bun exemplu este folosirea cu succes al fluidelor magnetice în SIDA (1).

Totuși aceste prime încercări au au demonstrat în timp numeroase neajunsuri, dintre care cele mai importante au fost:

- ▶ biodisponibilizarea nesatisfăcătoare,
- ▶ efectul limitat,
- ▶ potențiala citotoxicitate,
- ▶ tratamente de lungă durată, frecvente

Nanodispozitivele ^(sin. nanocarriers) au depășit aceste limitări. Acestea sunt capabile să:

- ▶ maximizeze activitatea terapeutică,
- ▶ minimizeze efectele toxice secundare,
- ▶ țintească celule specifice și nu țesuturile,
- ▶ permită mișcarea ușoară de suprafață

Numeroase grupări funcționale pot fi plasate pe nanodispozitive pentru:

- ▶ a crește / descrește solubilitatea,
- ▶ penetrația mai ușoară a membranelor
- ▶ creșterea imunocompatibilității,
- ▶ favorizarea asimilării celulare,

► stabilirea cu certitudine a destinației finale a farmaconului.

Astfel, a doua generație de nano-dispozitive a devenit mult mai sofisticată datorită studiilor la nivel molecular acest fapt permițând nano-dispozitivelor să:

1. țintească,
2. identifice,
3. elibereze precis substanța activă,
4. monitorizeze eficacitatea terapeutică

în timp real (1).

1.1. Nanotehnologia în biologie

Cele mai promițătoare tehnologii ale secolului 21 sunt biotehnologia și nanotehnologia.

Aceasta din urmă este știința structurilor nanometrice se ocupă cu crearea, investigarea și utilizarea sistemelor care sunt de 1000 de ori mai mici decât componentele utilizate în prezent în domeniul microelectronicii (3).

Convergența acestor două tehnologii rezultă în dezvoltarea nanobiotehnologiei, această combinație interdisciplinară poate crea multe echipamente inovatoare (3).

Nano-biotehnologia reprezintă unirea biotehnologiei și a nanotehnologiei.

Această disciplină hibridă, înseamnă deasemenea, producerea de dispozitive de dimensiuni atomice prin imitarea sau încorporarea sistemelor biologice la nivel molecular, sau construirea de instrumente minuscule pentru a studia sau modifica proprietățile structurale atom cu atom (3).

Nanobiotehnologia poate avea o combinație de microtehnologie clasică cu o abordare a biologiei moleculare.

Biotehnologia utilizează cunoștințele și tehnica din biologie pentru a manipula procese moleculare, genetice și celulare, ca să dezvolte produse și servicii; este utilizat în diverse domenii, de la medicină la agricultură (2).

Nanotehnologia este un nou domeniu al științei care implică lucrul cu materiale

(substanțe) sau dispozitive la nivel nanometric¹.

Nanotehnologia manipulează proprietățile chimice și fizice ale unei substanțe la nivel molecular.

Ea schimbă modul de gândire, estompează granițele dintre fizică, chimie și biologie, eliminarea acestei granițe ridică multe provocări și noi direcții pentru organizarea educației și cercetării (3).

Richard Feynman, în discursul din 1959, intitulat *"There is plenty of room at the bottom"* scoate în evidență următorul concept: *"Dacă mințile voastre înguste, pentru confort, divid acest univers în bucăți, fizică, biologie, geologie, astronomie, psihologie ș.a.m.d. amintiți-vă că natura nu știe asta!"* (2, 3).

1.1.1. Nanomedicina

Primele origini ale noțiunii de nano-medicină provin din ideea vizionară a lui Feynman a unor nanoroboți și a unor mecanisme asemănătoare care ar putea fi proiectate, construite, și introduse în organism pentru a efectua reparații celulare la nivel molecular (2, 3).

Odată cu cristalizarea priorităților medicinei secolului XX și mai ales XXI, și nanomedicina a luat avânt (Tabelul 1).

Tabelul 1.

Prioritățile medicinei de azi (Sinteză Cristina, 2009)(1)

Umană	Veterinară
Diabet ◀	► Procesul infecțios
Cancer ◀	► Zoonozele
Atacul de cord ◀	► Disfuncția hormonală
Disfuncția hormonală ◀	► Diabetul la câine
Modularea SNC ◀	► Celulele Stem (os)
Celulele Stem ◀	► Supresia imună
Supresia imună ◀	► Monitoring
Alergie ◀	
Deficiențele ochiului ◀	
Angioplastia ◀	
Monitoring ◀	

¹ Un nanometru este o miliardime dintr-un metru; este aproximativ 1/80.000 din diametrul firului de păr, sau de 10 ori diametrul unui atom de hidrogen.

În general miniaturizarea instrumentelor medicale va asigura abordări mai precise, mai controlabile, mai multilaterale, mai sigure, mai rapide pentru creșterea calității vieții.

Aceste idei au fost studiate și de către Drexler (cit. Freitas Jr.) în anii 1980-1990, în scrierile tehnice ale lui Freitas în 1990-2000, dar primul om de știință care a exprimat posibilitățile a fost fizicianul Richard P. Feynman laureat al premiului Nobel (2, 3).

Aplicațiile biomedicale ale nanotehnologiei sunt rezultate directe a astfel de convergențe; totuși provocările, cu care se confruntă cercetătorii și inginerii care lucrează în domeniul nanotehnologiei sunt, enorme și extraordinar de complexe.

Interesul crescut al nanotehnologiei în aplicații medicale a dus la apariția unei noi discipline cunoscute ca nanomedicină.

Pe larg, nanomedicina cuprinde procesul de diagnosticare, tratare și prevenire a bolilor și traumatismelor, eliminarea durerii, păstrarea și întărirea sănătății utilizând „unelte” moleculare și cunoștințe moleculare ale organismului.

Deci nanomedicina este de fapt aplicarea nanotehnologiei în medicină (2, 10).

Utilitatea nanotehnologiei în științele biomedicale impune crearea de materiale și dispozitive proiectate să interacționeze cu corpul la nivel subcelular, cu înalt grad de specificitate.

Utilizarea nanotehnologiei în științele biomedicale prezintă multe oportunități revoluționare în lupta împotriva cancerului, tulburărilor cardiace și neurovegetative, infecțiilor și altor boli.

Se așteaptă ca tehnologia să creeze inovații și să aibă rol vital în varii aplicații biomedicale, nu doar în transportul de substanțe medicamentoase și în terapia genică, dar și în imagistica moleculară, biomarkeri și biosenzori (11).

Nanotehnologia ar avea un rol mare în domeniul cercetărilor din terapia medicamentoasă cu specificitate de țintă și

în metodele de diagnostic timpuriu a patologiilor.

Simpozionul intitulat "Nanoscience and Technology: Shaping Biomedical Research" care a avut loc la Loyola College, Virginia, în 2000, s-a adresat în special nanoștiinței și nanotehnologiei din domeniile cercetării din biomedicină:

- Sinteza și utilizarea nanostructurilor
- Aplicarea nanotehnologiei în terapie
- Nanostructuri biomimetice și biologice
- Interfețe biologice electronice
- Dispozitive pentru detectarea precoce a bolilor
- Instrumente pentru studierea unei singure molecule
- Nanotehnologia și ingineria țesuturilor (3).

Nanomedicina variază de la aplicații medicale ale nanomaterialelor, la biosenzori nanoelectronici, și ca posibile aplicații viitoare ale nanotehnologiei moleculare.

Probleme curente ale nanomedicinii implică înțelegerea problemelor legate de toxicitatea și impactul asupra mediului a materialelor nanometrice.

1.2. Nano-materialele utilizate în biomedicină

Nanoparticulele sunt comparabile, ca dimensiune, cu proteinele.

Organismele vii sunt alcătuite din celule care au în general dimensiunea de 10 μm , componentele celulare sunt, ca dimensiune, din domeniul sub-micronic, iar proteinele sunt și mai mici, având, în general, în jur de 5 nm (6).

În figura 3 este redat gradul de mărime comparativ al nano-moleculilor.

Se cunosc deja numeroase materiale cu abilități în eliberarea medicamentelor.

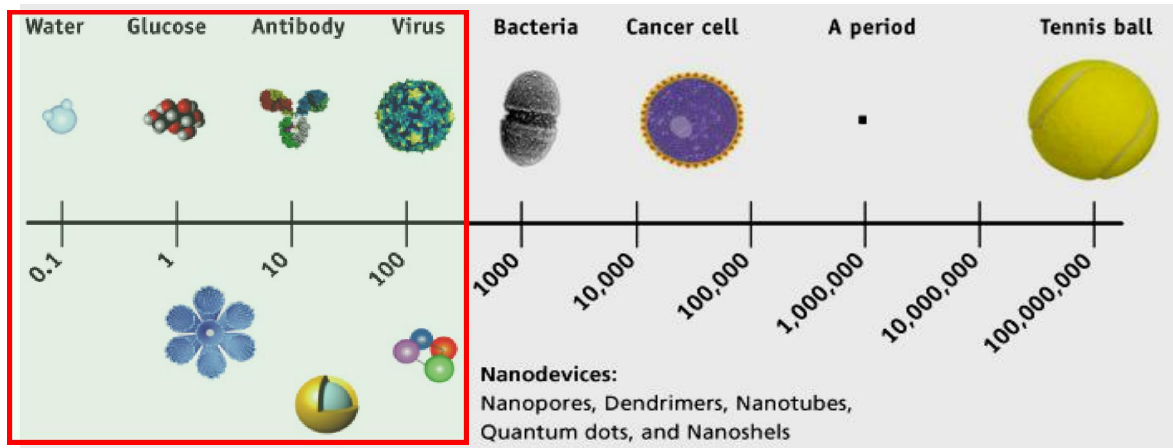


Figura 3. Gradul de mărime comparativ al nano-moleculor
(Sursa: www.fda.gov/consumer/updates/nanotech072507.html) (1)

Dintre acestea, primele substanțe cunoscute au fost polimerii care inițial aveau utilizări non-biologice, dar care au fost selectate și în medicină datorită numeroaselor proprietăți dezirabile, de exemplu (1):

- ▶ inert chimic,
- ▶ liber de impurități filtrabile,
- ▶ cu îmbătrânire minimă,
- ▶ ușor procesabil,
- ▶ cu structură adecvată.

Factorii care pot influența biodegradarea polimerilor pot fi (1):

Tipul polimerului	Caracteristica principală
Poliuretanii	- elasticitate
Polisiloxanii	- abilități de izolare
Polimetil-metacrilatii	- rezistență și transparență
Polivinil alcoolii	- hidrofile și rezistență
Polietilenele	- duritate și lipsa gonflării
Polivinil-pirolidonele	- suspensia

a. Specifici

- structura chimică,
- compoziția chimică,
- prezența grupărilor ionice,
- prezența formațiunilor (sau lanțurilor defecte),
- greutatea moleculară sau distribuția greutății moleculare,
- morfologia (amorfa / semi cristalină, microstructura etc.),
- prezența compușilor cu greutate moleculară mică.

b. Tehnologici

- condițiile de prelucrare
- procesele termice
- procesele de sterilizare
- stocaj
- formă

c. Medicali

- locul implantării
- compuși absorbiți și adsorbiți (apa, lipidele, ionii etc.),
- factori fizico-chimici (schimbul ionic, energia ionică, pH-ul)
- factori fizici (schimbări de formă și mărime, variații ale coeficienților de difuziune, stress-ul mecanic etc.),
- hidrolizele (enzime vs. apă).

Materialele biocompatibile care prezintă răspuns la câmpul magnetic extern și-au găsit multe aplicații interesante în arii variate ale bioștiințelor și biotehnologiei, incluzând diferite discipline medicale (10,11).

Pentru a interacționa cu o țintă biologică, este necesară atașarea unui strat biologic sau molecular care acționează ca o interfață bioanorganică; exemple de strat bio: anticorpi, biopolimeri (colagenul, diferite monostraturi de molecule care fac nanoparticula biocompatibilă).

Tehnicile de detectare optică sunt foarte răspândite în biologie, astfel că nanoparticulele ar trebui să aibe în plus un strat fluorescent sau unul care își schimbă proprietățile optice. Un material de succes folosit pentru nano-formulări trebuie să fie:

Comparația nanoparticulelor cu proteinele, dă o idee a utilizării acestor „sonde” foarte mici care ne permit spionarea

funcționării celulare, fără a produce prea multe interferențe.

Înțelegerea proceselor biologice la nivel nanometric, este o forță motrică puternică în spatele dezvoltării nanotehnologiei (6).

Pentru aplicații biologice, cele mai utilizate proprietăți sunt efectele optice și magnetice, pe lângă cele fizice.

Nanoparticulele formează de obicei centrul (mijlocul) nanobiomaterialelor.

Pot fi utilizate ca suprafețe pentru asamblare moleculară, și pot fi formați din material anorganic sau polimeric.

Se mai găsesc sub forma unor nano-vezicule înconjurată de o membrană sau un strat. Forma este de obicei sferică, dar poate fi și cilindrică, plată (discoidală), sau alte forme.

Dimensiunea și distribuția dimensiunii poate fi importantă, de exemplu atunci când este necesară traversarea unei membrane celulare.

Un control strict al dimensiunilor medii ale particulelor și o distribuție limitată a dimensiunilor a permis crearea unor sonde fluorescente care emit lumină, într-o gamă largă de lungimi de undă.

Acest lucru permite crearea unor biomarkeri cu multe culori bine definite (4).

Mijlocul însuși poate avea mai multe straturi și poate fi multifuncțional, de exemplu combinând straturi magnetice și luminescente, se pot detecta și manipula particulele.

Particula centrală este adesea protejată de mai multe monostraturi de materiale inerte, de exemplu siliciu, sau molecule organice care sunt adsorbite sau chemisorbite la suprafața particulei.

Peste se mai adaugă un strat adițional de molecule de legare pentru a fi funcțional.

Aceste molecule de legare sunt liniare și au grupări reactive la ambele capete, unul pentru a se atașa de particulă iar celălalt pentru atașarea diverselor grupări biocompatibile (anticorpi, fluorofori în funcție de aplicație) (6).

1.2.1. Materialele magnetice

Familia largă a materialelor controlabile prin câmp magnetic, includ atât nano-, cât și microparticule, structuri (nano-tuburi, nano-fire), pelicule subțiri etc. Pot servi ca exemple:

- ferofluidelor (fluidele magnetice),
- fluidele magnetoreologice,
- polimerii magnetici,
- materiale anorganice magnetice,
- structuri biologice modificate magnetic,
- particule magnetice cu biomolecule legate (5, 7).

În multe cazuri materialele composite sensibile magnetic, constau din particule magnetice mici (cel mai adesea formate din magnetită, maghemită sau diverși feriti), de la scară nanometrică la cea micrometrică, dispersați în polimeri, biopolimeri sau matrice anorganică; ca metodă alternativă particulele magnetice pot fi adsorbite pe suprafața externă a unei particule diamagnetice (nu conține electroni desperecheați și deci nu este atras de câmpul magnetic) (4, 5, 7).

În majoritatea cazurilor s-au dezvoltat nano-/microparticule sintetice sensibile magnetic, dar s-au produs cu succes și particule magnetice biologice (magnetozomi produși de o bacterie magnetotactică) care au fost utilizați cu succes în bio-aplicații (4, 5, 10).

Sinteza nanoparticulelor magnetice

Multe proceduri chimice s-au utilizat pentru a sintetiza nano-/ microparticule magnetice pentru bioaplicații, de exemplu:

- co-precipitarea clasică,
- reacții în medii constrânse (micro-emulsii),
- sintezele sol-gel,
- reacțiile sono-chimice,
- microunde,
- reacții hidro-termale,
- hidroliză și
- termoliza precursorilor (4, 5, 8).

Cea mai simplă și eficientă cale chimică de a obține particule magnetice este tehnica co-precipitării. Oxizii de fier, sub forma magnetitei (Fe_3O_4) sau maghemitei ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), sunt preparați prin „îmbătrânirea” mixturilor stoichiometrice de săruri feroase și ferice în mediu apos alcalin (*stoichiometria = ramură a chimiei care studiază raporturile cantitative dintre elemente, în combinații sau în reacții*)(4).



Magnetita (Fe_3O_4) nu este foarte stabilă și este sensibilă la oxidare ceea ce duce la formarea maghemitei ($\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Principalul avantaj al procesului de coprecipitare este că se pot sintetiza o cantitate mare de nanoparticule; totuși controlul distribuției dimensiunilor particulelor este limitat (4,5).

Adăugarea de anioni organici chelatanți (carboxilați, ioni de -hidroxicarboxilați, acid citric, a.gluconic sau oleic) sau agenți de suprafață complexanți (dextran, carboxidextran, amidon, polivinilalcol), în timpul formării magnetitei, poate ajuta controlul dimensiunii nanoparticulelor (4).

Potrivit raportului molar dintre ionii organici și sărurile de fier, chelația acestor ioni organici pe suprafața ionilor de oxid de fier, poate preveni nucleația și duce la formarea nanoparticulelor mai mari, sau inhibă creșterea nucleilor de cristal și duce la formarea nanoparticulelor mici.

Metoda de co-precipitare clasică generează o distribuție largă a dimensiunilor.

Sinteza unor nanoparticule de oxid de fier cu dimensiuni uniforme se poate face în nanoreactori sintetici și biologici, ca structuri micelare în solvenți non-polari, cuști de proteine de apoferritină, dendrimere, ciclodextrine și lipozomi (4, 9, 10).

Sinteza hidrotermală a nanoparticulelor de magnetită este efectuată în medii apoase în reactoare sau autoclave, unde presiunea poate fi mai mare de 2,000 psi (cca 13,8 Mpa), iar temperatura mai mare de 200°C. În acest proces, condițiile de reacție, cum ar fi

solventul, temperatura și timpul de obicei au efect asupra produsului. Dimensiunea, particulelor din pudrele de magnetită, a crescut odată cu prelungirea timpului de reacție și o cantitate mai mare de apă a rezultat în urma reacției de precipitare a particulelor mari de magnetită (4).

Procesul sol - gel este o cale umedă adecvată pentru sinteza oxizilor metalici nanostructurați. Acest proces se bazează pe hidroxilarea și condensarea precursorilor moleculari în soluții rezultând o soluție de particule nanometrice mai departe condensarea și polimerizarea anorganică duce la o rețea tridimensională de oxizi metalici de gel umed. Pentru că aceste reacții se efectuează la temperatura camerei, sunt necesare viitoare tratamente termice pentru a dobândi forma finală cristalină.

Principalii parametri care afectează cinetica, reacția de creștere, hidroliza, reacțiile de condensare și prin urmare, structura și proprietățile gelului sunt: solventul, temperatura, natura și concentrația sărurilor precursore folosite, pH-ul și agitația (4, 8).

Procesul polioli este o abordare chimică versatilă pentru sinteza nanoparticulelor și microparticulelor cu forme bine determinate și dimensiuni controlate. Polioli selectați (polietilen glicol) folosiți ca solvenți prezintă constante dielectrice mari și pot dizolva compuși anorganici. Datorită punctului de fierbere relativ înalt, oferă o gamă largă de temperaturi de operare pentru prepararea compușilor anorganici.

Polioli pot servi ca agenți reducători și deasemenea ca stabilizatori pentru controlul creșterii particulelor și preveneria agregării interparticulare.

Nanoparticulele de magnetită neagregate (7 nm diametru) au fost sintetizate în timpul reacției trietilenglicolului cu Fe, la o temperatură ridicată (4, 8).

Recent a fost dezvoltată o nouă metodă de sinteză a nanoparticulelor de magnetită – sinteza prin injectare în flux (FIS = *Flow Injection Syntesis*). Tehnica constă în

amestecarea continuă sau segmentară a reagenților în regim de flux laminar într-un reactor capilar. Tehnica prezintă avantajele: reproductibilitate mare și cauza curgerii în bloc și condițiilor laminare, omogenitate mare și oportunitate pentru un control extern precis al procesului (4).

Nanoparticulele de magnetită obținute au dimensiuni cuprinse între 2-7 nm.

Pirolizele (gr. *pyrolysis*) cu spray și laser sunt reprezentanți tipici ai tehnologiei cu aerosoli, sunt procese chimice continue care permit rata mare de producție a nanoparticulelor. Prin piroliza cu spray, o soluție de săruri ferice și un agent reducător în solvent organic este spray-at într-o serie de reactori, unde soluția de aerosoli condensează și solventul se evaporă. Erezidul uscat rezultat este format din particule ale căror dimensiuni depinde de mărimea inițială a picăturilor originale (4).

Particulele de magnetită cu dimensiuni între 5 - 60 nm cu diferite forme au fost obținute utilizând diferiți precursori de săruri de fier în soluții alcoolice.

S-au studiat o gamă largă de reacții chimice accelerate prin iradiere cu microunde a reactanților. Recent s-a dezvoltat o metodă cu microunde, simplă, rapidă și eficientă pentru prepararea nanoparticulelor de magnetită relativ uniforme (80 ± 5 nm) direct din săruri de Fe^{2+} , formarea acestora necesită de la câteva secunde la câteva minute. Deasemenea utilizând această procedură se pot obține nanoparticule de magnetită „umplute” cu nanoparticule de argint.

Pulberi de nanoparticule de magnetită se mai pot sintetiza pe cale mecano-chimică.

Măcinarea cu ajutorul morii cu bile a cloridului feros și feric cu hidroxid de sodiu a dus la o mixtură de magnetită și clorură de sodiu. Pentru a evita aglomerarea excesul de NaCl este adăugat precursorului înainte de moară. Pentru obținerea particulelor de diferite dimensiuni, pulberile măcinate au fost reîncălzite la temperaturi de la 100°C la 800°C timp de o oră (4, 5, 12).

Stabilizarea particulelor magnetice

Pentru a obține materiale sensibile magnetic biocompatibile de obicei este necesar să se stabilizeze nanoparticulele de oxid de fier prin modificarea suprafeței lor sau prin încorporarea în matrici biocompatibile corespunzătoare (4, 5).

Nanoparticulele magnetice modificate ar trebui să fie stabile contra agregării în mediul biologic și în câmpul magnetic. Mai mulți compuși cu grupări funcționale de carboxil, fosfat și sulfat sunt cunoscute că se leagă de particulele de magnetită și le stabilizează.

Acidul citric poate fi utilizat cu succes pentru stabilizarea fluidelor magnetice pe bază de apă prin coordonarea prin una sau două grupări reziduuri de carboxil; acesta lasă cel puțin o grupare de acid carboxilic să fie expus solventului, care ar trebui să fie responsabil pentru a face suprafața cu încărcarea negativă și hidrofilică. Altele ferifluidelor pot stabilizate prin interacțiuni ionice, utilizând de exemplu acid percloric sau hidroxid de tetrametilamoniu.

În majoritatea cazurilor biopolimeri biocompatibili sunt utilizați pentru stabilizarea și modificarea particulelor magnetice. Materialele polimerice naturale sau sintetice utilizate pentru stabilizarea particulelor ar trebui să aibe proprietățile:

- să fie biocompatibile,
- biodegradabile,
- netoxice,
- netrombogene,
- non-imunogenice și
- ieftine (4, 5).

Nanoparticulele ideale, compozite polimer biocompatibile sensibile magnetic trebuie să aibe următoarele proprietăți:

- diametrul particulelor sub 100 nm,
- stabilitate în sânge,
- să nu activeze neutrofilele,
- să nu agregheze trombocitele,
- să evite sistemul reticuloendotelial,
- comportament neinflamator,
- timp de circulație prelungit,

- posibila imobilizare a compușilor biologici corespunzători (anticorpi) și
- producție ieftină.

Dextranul este un polimer de polizaharid compus exclusiv din unități de D-glucopironil cu diverse lungimi de lanț și ramificații; a fost utilizat ca înveliș de polimer mai ales pentru biocompatibilitatea excelentă (4, 5).

Formarea magnetitei în prezența dextranului 40.000 a fost raportată pentru prima dată în 1982. Această procedură s-a utilizat pentru prepararea agentului de contrast pentru MRI Ferumoxtran-10; acest material are un diametru hidrodinamic de dimensiuni mici, 15-30 nm și prezintă rezistență în sânge, ceea ce permite acestor particule foarte mici să acceseze macrofagele localizate adânc în țesuturile patologice.

Alți biopolimeri care servesc ca înveliș sunt formați din dextran carboximetilat, carboxidextran, amidon, arabinogalactan sau glicozaminogalactan, iar ca polimeri sintetici biocompatibili avem polietilen glicolul (PEG) și polivinil alcoolul (PVA).

Nanoparticulele magnetice adesea formează o parte magnetică dintr-un compozit de microparticule sensibile magnetic format din diferiți polimeri sintetici, biopolimeri, materiale anorganice, celule microbiale sau materiale vegetale.

Microparticulele superparamagnetice monodisperse compuse dintr-o matrice de polistiren cu nanoparticule de maghemită (cca. 8 nm diametru), cunoscute ca Dynabeads (Invitrogen), au fost utilizate la un număr mare de bioaplicații, mai ales în biologia moleculară, biologia celulară, microbiologie și izolarea proteinelor (4,5).

Progrese recente

Particulele sensibile magnetic au deja multe aplicații stabilite sau potențiale în variate domenii din bioștiințe, biotehnologie și tehnologiile mediului înconjurător (4,5).

Aplicațiile referitoare la biomedicină sunt bazate în special pe utilizarea unor proprietăți selectate, cum ar fi separarea

magnetică, țintirea magnetică, producerea de căldură, creșterea contrastului MRI.

Proprietățile magnetice a asemenea materiale au permis utilizarea lor în numeroase domenii.

Nano-/microparticulele pot fi separate din probele complexe utilizând un câmp magnetic extern (un separator magnetic, magnet permanent sau un electromagnet). Această proprietate este importantă pentru că majoritatea materialelor biologice au proprietăți diamagnetice care permit separarea selectivă eficientă a materialelor magnetice.

Particulele magnetice pot fi conduse și menținute la un loc anume utilizând un câmp magnetic extern. Supuse unui câmp magnetic alternativ cu frecvență înaltă, particulele magnetice, sunt capabile să genereze căldură. Acest fenomen este utilizat în special în timpul hipertermiei pe bază de fluide magnetice în tratamentul cancerului (de exemplu).

Nanoparticulele de oxid de fier magnetic generează un contrast T_2 negativ în timpul RMN-ului, au rol de agent de contrast. Acestea pot fi utilizate pentru modificarea diamagnetică a materialelor biologice (materiale derivate din celule sau plante), polimeri organici și materiale organice, pentru etichetarea magnetică a compușilor biologici activi (anticorpi, enzime, aptameri) (4, 5).

Diagnoza medicală și transportul adecvat și eficient al medicației sunt domeniile medicale unde particulele nanometrice și-au găsit aplicația practică.

Până în prezent sunt multe alte propuneri interesante pentru utilizarea instrumentelor nanomecanice în domeniul cercetărilor medicale și practică clinică (3).

Nanodispozitivele din științele medicale ar putea înlocui celule, care funcționează defectiv sau necorespunzător, de exemplu respiricile propuse de Freitas (2).

Aceste eritrocite artificiale teoretic sunt capabile să furnizeze (asigure) oxigen mai eficient decât un eritrocit natural. Ar putea

înlocui celulele roșii defecte din circulația sanguină. Aplicațiile respiratorilor ar putea include înlocuitori de transfuzii de sânge, tratamentul parțial al anemiei, probleme neonatale/prenatale și tulburările pulmonare (3). Nanodispozitivele ar putea administra medicamente direct în corpul pacientului. Asemenea nanostructuri ar putea transporta medicamente în locuri bine determinate, realizând un tratament mai precis.

Mecanisme similare cu „arme” specifice ar putea fi utilizate pentru îndepărtarea obstacolelor din sistemul circulator sau în identificarea și distrugerea celulelor tumorale.

Nanoroboții care funcționează în corp, ar putea monitoriza nivelul diferiților compuși și înregistra informația într-o memorie internă. Pot fi utilizați rapid în examinarea unui anumit țesut, prin controlarea caracteristicilor biochimice, biomecanice și histometrice ale acestuia (2, 3). Biotehnologia își extinde sfera și eficacitatea privind opțiunile tratamentelor disponibile din nanomateriale. Nanotehnologia moleculară va dezvolta eficacitatea, confortul și viteza viitoarelor tratamente medicale și în același timp le va scădea semnificativ riscul, costul și invazivitatea (3).

Biotehnologia permite fabricarea personalizată, biofarmaceutică și biotehnologică a medicamentelor pentru a învinge problemele asociate cum ar fi solubilitatea slabă, stabilitate chimică slabă după administrare in vivo și in vitro (perioada de înjumătățire scurtă), biodisponibilitate slabă și potențiale efecte secundare (3).

Nanoparticulele transportoare au fost dezvoltate ca o soluție pentru a depăși problemele de transport – nanocristale de substanțe medicamentoase, nanoparticule solide de lipide (SLN), transportoare lipidice nanostructurate (NLC), nanoparticule din conjugate medicament-lipid (LDC) (3).

Transportorii (cărăușii), după cum a arătat Muller și col.(cit.de Herbert Ernest și Shetty Rahul), sunt adecvați pentru a rezolva

problemele de livrare a medicamentelor cu solubilitate diferită (3).

Quantum Dot (punctul cuantic) cu nanoparticule de o culoare specifică, poate oferi o verificare ieftină și ușoară, a unei probe de sânge, pentru prezența în același timp a diferte virusuri. În ceea ce privește cercetarea, capacitatea de a eticheta mai multe biomolecule, atât în exteriorul cât și în interiorul celulei, ar putea permite cercetătorilor să vadă schimbări celulare complexe și evenimente asociate cu boala, furnizând indicii valoroase pentru dezvoltarea viitoarelor produse farmaceutice și terapeutice (3).

Prima nanosită artificială cu porți voltaice a fost fabricată de Martin și col. la Colorado State University în 1995 (2, 3). Membrana lui Martin conține o matrice din nanotubi cilindrici de aur cu diametrul de 1,6 nm. Când tubii sunt încărcăți pozitiv, sunt excluși ionii pozitivi și pot trece cei negativi, iar când membrana primește voltaj negativ, pot trece doar cei pozitivi. Pentru a obține un nanodispozitiv similar, dar cu specificitate moleculară semnificativă, ar putea combina porțile voltaice cu dimensiunile și forma porilor pentru a obține control asupra ionilor transportați (2, 5).

Domeniul multidisciplinar al aplicațiilor nanotehnologice pentru descoperirea de noi molecule și manipularea celor disponibile în mod natural, ar putea fi orbitoare în potențialul său de a îmbunătăți îngrijirea sănătății. Pe viitor, ne putem imagina o lume în care nanodispozitivele medicale sunt implantate în mod curent sau chiar injecta în circulația sanguină pentru a monitoriza sănătatea și a participa automat în repararea sistemelor care au deviat de la funcționarea normală.

Avansarea continuă în domeniul nanobiotehnologiei biomedicale este stabilirea și colaborarea grupurilor de cercetare din domeniile complementare. Asemenea colaborări trebuie menținute nu doar la nivelul domeniilor de specialitate ci și la nivel internațional. Ar trebui menționat

faptul că nanotehnologia însăși nu este o disciplină unică în curs de dezvoltare ci mai degrabă un punct de întâlnire a științelor tradiționale cum ar fi chimia, fizica, biologia pentru a aduce împreună cunoștințe colective și expertiza necesară dezvoltării acestei noi tehnologii.

În **tabelul 2** se regăsesc câteva domenii de aplicare ale nanotehnologiei (3).

Abilitatea de a structura materiale și dispozitive la nivel molecular aduce beneficii imediate și va revoluționa cercetarea și practica medicală. S-au început experimente teoretice și practice asupra biocompatibilității nanomaterialelor și nanodispozitivelor (2).

Tabelul 3 oferă o privire de ansamblu asupra acestui domeniu cu expansiune rapidă (2).

Tabelul 2
Aplicabilitatea nanotehnologiei (după: Herbert Ernest și Rahul Shetty, 2005) (3)

Nanomateriale brute	Simulare și diagnostic celular	Cercetare biologică
Învelișul nanoparticulelor	Chip-uri celulare	Nanobiologie
Materiale nanocristaline	Simulatoare celulare	Nanoștiința în științele vieții
Materiale nanostructurate	Manipulare ADN, secvențializare, diagnostic	Transportul medicamentelor
Peptide ciclice	Testări genetice	Descoperirea de medicamente
Dendrimere	Micro-matrice ADN	Biofarmaceutice
Agenți detoxifianți	Secvențiere ADN ultra-rapidă	Încapsularea de medicamente
Fulerene	Manipulare și control ADN	Medicamente "inteligente"
Transportori de medicamente		
Nanoparticule pt. Scanare MRI	Instrumente și diagnosticare	Medicină moleculară
Nano-coduri de bare	Sisteme de detectare bacteriană	Terapie genetică
Nano-emulsii	Bio-chip-uri	Farmacogenomice
Nano-fibre	Imagistică biomoleculară	
Nano-particule	Biosenzori și biodetectare	Enzime artificiale și controlul lor
Nanoshell	Aplicații de diagnostic și apărare	Manipularea și controlul enzimelor
Nano-tubi de carbon	Roboți de endoscopie / microscopie	
Nano-tubi noncarbon	Senzori bazați pe fulerene	Nanoterapeutice
"puncte cuantice" (quantum dots)	Imagistică	Nanoparticule antibacteriene și antivirale
	Laborator pe un chip	Farmaceutice bazate pe fulerene
Locuri artificiale de fixare	Monitorizare	Terapie fotodinamică
Anticorpi artificiali	Nanosenzori	Radiofarmaceutice
Enzime artificiale		
Receptori artificiali	Micro-matricea proteinelor	Biologie sintetică și nano-dispozitive primitive
Polimeri imprimați molecular	Scanare microscopică prin sondare	Tecto-dendrimere
		Nanoplatforme dinamice "nanozomi"
Controlul suprafețelor	Dispozitive intracelulare	Celule și lipozomi artificiali
Adezivi de suprafață artificiali	Analize (teste) intracelulare	Micelii polimerice
	Biocomputere intracelulare	
	Senzori/reporteri intracelulari	
Suprafețe biocompatibile	Implante în celule	Biotehnologie și biorobotică
Suprimarea biofilmului	BioMEMS (micro-electro-mechanical systems)	Hibridi bazați pe viruși
Suprafețe prelucrate	Materiale și instrumente implantabile	Celule stem și clonarea
Suprafețe model		
Înveliș filmat	Protetică MEMS /nanomateriale	Organe artificiale
	Ajutoare senzoriale (retină artificială)	Nanobiotehnologia
	Micromatrice	Biorobotică și bioboți
Senzori bazați pe micro-structuri		
Nanopori	Microfluide	Nanorobotică
Imunoizolare	Micro-ace	Nanoroboți și dispozitive ADN
Site și canale moleculare	MEMS medical	Nanoroboți bazați pe diamante
Membrane nanofiltrante	Instrumente chirurgicale MEMS	Dispozitive de reparare a celulei
Nanopori		
Separare		

Tabelul 3
Lista aplicabilitatea nanotehnologiei în științele
biomedicale (după Freitas Jr., 2004)(2)

Nano-aplicații
Biodetectarea patogenilor
Detectarea proteinelor
Cercetarea structurii ADN-ului
Ingineria țesuturilor
Distrugerea prin căldură a tumorilor (hipertermia)
Studii fagocinetice
Intensificarea contrastului MRI
Separarea și purificarea biomoleculelor și celulelor
Markeri biologici fluorescenți
Transportul de medicamente și gene
Celule artificiale
Construcția de proteine pentru transportul eficient de electroni, sau cu proprietăți mecanice
Biosenzori
Nanobiomotori
Biomineralizare
Nanorobotică
Nanocomputere

- asupra pielii în condiții de expunere prelungită la UVR, Lucrare de diplomă, 2003
10. **Șincai M, Lupescu RC.** – Efectul UV protector al unor compuși cu nanoparticule, Lucrare de diplomă, 2007
 11. ***Nanomedicine – Wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanomedicine>, 2013
 12. ***Nanofluidics – Wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanofluidics>, 2013
 13. ****http://img.timeinc.net/time/daily/2007/0706/a_antibiotics_0618.jpg
 14. ***http://s3.amazonaws.com/readers/healthmad/2007/07/22/43701_0.jpg
 15. ***<http://www.fda.gov/consumer/updates/nanotech072507.html>

Bibliografie

1. **Cristina R T.** – Noutăți în nanomedicină, <http://www.veterinarypharmacon.com/docs/585-NANOMEDICINA.pdf>, 2009
2. **Freitas RA. Jr.** – What is nanomedicine. 1(1) 2-9, 2004
3. **Herbert E., Shetty R** (2005). Impact of Nanotechnology on Biomedical Sciences: Review of Current Concepts on Convergences of Nanotechnology with Biology.
4. **Safaric I, Hiska K, Safarikova M** (2011). Magnetic Nanoparticles for Biomedicine, in: Intracellular delivery: Fundamentals and Applications, Fundamental Biomedical Technologies, Ed. Prokop.Springer Bv, 363-372
5. **Safaric I, Safarikova M** (2009). Magnetic nanobiocomposites and their possible applications, NanoCon 20.-22.10.2009, Rožnov pod Radhoštěm, Česká Republika
6. **Salata OV** (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine, Journal of Nanobiotechnology, 2 (3).
7. **Sayed ZM, Telang SD, Ramchand CN** (2003). Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedicine, *BioMagnetic Research and Technology*, :<http://www.biomagres.com/content/1/1/2>
8. **Silva A, Silva-Freitas E et al.** (2012). Magnetic particles in biotechnology: from drug targeting to tissue engineering, *Advances in Applied Biotechnology*, Ed. InTech, 237-258
9. **Șincai M, Vulpe AI** (2003). Observații asupra efectului protector al unor nanocompuși magnetici