

## DESENVOLVIMENTO DE NANOMARCADORES PARA SINALIZAÇÃO DE HEMOGLOBINA S (ANEMIA FALCIFORME)

Elen G. Santos<sup>1\*</sup>, Felipe G. Albero<sup>1</sup>, Debora C. Salum<sup>1</sup>, Hercules. E.S. Teotonio<sup>2</sup>, Denise M. Zezell<sup>1</sup>, Maria C.F.C. Felinto<sup>1</sup>, Hermi F. Brito<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN),

<sup>2</sup>Laboratório de Compostos de Coordenação e Química de Superfície-Departamento de Química—UFPB,

<sup>3</sup>Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ/USP)

\*eleng@usp.br

Palavras chave: Terras Raras; Anemia falciforme, biomarcação, hemoglobina S, FIA; FTIR.

### INTRODUÇÃO

A cada ano, 250 mil crianças nascem com Anemia Falciforme (AF) em todo o mundo e no Brasil, provavelmente, é a doença hereditária mais prevalente [1,2]. Complexos de Terras Raras, especialmente aqueles com  $\text{Eu}^{3+}$  e  $\text{Tb}^{3+}$ , têm sido usados como sondas fluorescentes em ensaios fluoroimunológicos (FIAs) [3] e são promissores, devido sua atuação como biomarcadores luminescentes [4]. Por outro lado a Espectroscopia de Absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) utiliza a região do infravermelho do espectro eletromagnético para caracterizar moléculas e biomoléculas [6,5]. A espectroscopia Raman fornece informações sobre níveis de energia vibracionais e sobre a estrutura molecular. Devido ao potencial de aplicação no mercado, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver materiais luminescentes para detecção de Anemia Falciforme (HbS) e a implementação do FTIR e do RAMAN com o papel de validação do FIA.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram sintetizados e caracterizados seis marcadores luminescentes a base de Terras Raras:  $[\text{Eu}(\text{tta})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$ ;  $[\text{Eu}(\text{acac})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$ ;  $[\text{Tb}(\text{acac})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$ ;  $[\text{Eu}(\text{tta})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$  @ acetato calix[8]areno ( $1762,9 \text{ cm}^{-1}$ );  $[\text{Eu}(\text{ACAC})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$  @ acetato calix[8]areno ( $1763 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $[\text{Tb}(\text{acac})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$  @ acetato calix[8]areno ( $1762 \text{ cm}^{-1}$ ).

Na Figura 1 tem-se os espectros de excitação e emissão do marcador  $[\text{Eu}(\text{tta})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$  @ acetato calix[8]areno. O espectro de excitação mostram uma banda larga com máximo em  $\sim 396 \text{ nm}$  intensa e o espectro de emissão apresenta bandas estreitas características das transições  $4f-4f$ . Observa-se que a transição  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  é a mais proeminente devido esta ser hipersensível ao ambiente químico.

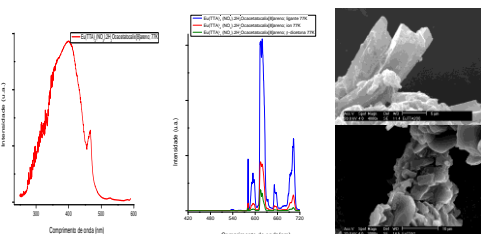


Figura 1 Espectros de excitação (a) e de emissão (b) e MEV(c) do marcador  $[\text{Eu}(\text{tta})_2(\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]_2$  @ acetato calix[8]areno

Os marcadores estudados mostraram-se efetivos no reconhecimento de biomateriais marcados com  $\text{Eu}^{3+}$  e por sua vez a conjugação dos materiais biológicos com o marcador mostrou-se eficiente.

Com o FIA observou-se a diferenciação entre os grupos controle (HbA) e grupo falciforme (HbS) Fig 2-a). A análise da HbS por FTIR mostrou que a diferenciação está essencialmente entre as relações

de amida I, amida II e fosfolípidos, separando portanto, os grupos portadores de AF de acordo com as percentagens da HbS (Fig 2-b). As análises por Raman estão se mostrando efetivas e caminham para resultados inéditos assim como para o FTIR para produção do diagnóstico da Anemia Falciforme e terão impacto nas Políticas Públicas do Estado de São Paulo e conseqüentemente do Brasil.

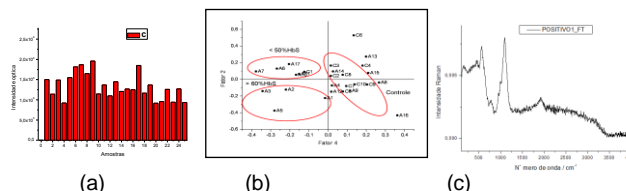


Figura 2. A) FIA, 0 e 25 Controle Negativo. 1-24 HbS em diferentes percentagens. B). FTIR. Separação entre as amostras (abaixo de 50% e acima de 60% de HbS) em relação ao grupo controle. C) Raman. Espectro HbS.

### CONCLUSÕES

Comparando os resultados obtidos com as metodologias já existentes, concluiu-se que são métodos viáveis para detecção da HbS e quando totalmente desenvolvidos, contribuirão originalmente para produção do diagnóstico da Anemia Falciforme e terão impacto nas Políticas Públicas do Estado de São Paulo e conseqüentemente do Brasil.

### AGRADECIMENTOS

CNEN, LabPol-IPEN, LCM-IPEN; IQ-USP; inct-INAMI; EPM e HU- USP .

### REFERÊNCIAS

- Modell B., Khan M., Darlison M., et al.; *Bull World Health Organ.* **2001**, 79, 1006.
- Bandeira F. M. G. C., Leal M. C., Souza R. R., et al. Características de recém nascidos portadores de hemoglobina S detec. *J Pediatr* (Rio de J). **1999**, 75, 167.
- Hall, E. A. H. *Biosensors in context. In Biosensors*, Buckingham: Open University Press, **1990**, 3.
- Hemmilä I.,

Harju R. Time-Resolved Fluorometry. In I. Hemmilä, T Ståhlberg and P. Mottram (eds). *Bioanalytical Applications of Labelling Technologies*, EG&G Wallac, Turku, **1994**, 83. 5) Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan J. A. *Introduction to Spectroscopy*. Brooks/Cole Pub Co: **2000**, 3. 6) Faria, D. L. A. de; Santos, L. G. C.; Gonçalves, N. S.; *Quim. Nova* **1997**, *20*, 319.