

CÓDIGO N° 311900 - \$250 // N° 312900 x 11 = \$ 110

REPÚBLICA ARGENTINA
(AR)



I.N.P.I.

SOLICITUD DE:

PATENTE DE INVENCION: ☒

CERTIFICADO DE MODELO DE UTILIDAD: ☐

TOTAL = \$ 360

Fecha de presentación:

I. SOLICITANTE(S):

Acta N°

1) Apellido y Nombre/Denominación o Razón Social:

A) Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA)

B) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

2) Documento de Identidad:

Estado Civil

Nupcias:

Nombre del Cónyuge:

INPI Exp.: **20100102217**



Trámite: 10119800 PATENTES Importe: \$360.-

Fecha/Hora: 23/06/2010 13:54:9.530

Agente: FERNANDEZ JORGE ANIBAL

3) Caja de Jubilación o AFJP:.....

N° de CUIL o CUIT:.....IVA:

4) Inscripto en el Registro Industrial de la Nación (Decreto-Ley 19.971/72) N°

5) Domicilio Real: A) Av. del Libertador N° 8250, Capital Federal, República Argentina

B) Av. Rivadavia 1917, Capital Federal, República Argentina

Legal: Av. del Libertador N° 8250, Capital Federal, República Argentina

II. Objeto:

6) Título de la Invención: "MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LA ABSORCIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN TEJIDOS ANIMALES Y EQUIPO PARA REALIZARLO"

7) Carácter de la Patente / Modelo de Utilidad:

Definitiva, por el Terminio de: **20** años

Adicional a la Solicitud N° / Patente N°

Divisional de la Solicitud N°

8) Ley 17.011 Fecha de Prioridad:

País

N°

III. Documentación acompañada

9) Se acompaña:

a) Comprobante pago de servicio requerido

b) Formulario (ANEXO II) hoja técnica

c) Carátula



- d) Memoria descriptiva
- e) Reivindicaciones firmadas
- f) Dibujos (Anexo III)
- g) Numero de figuras reducidas
- h) Resumen (Anexo I)
- i) Copia Certificada (Ley 17.011)
- j) Documento de Cesión
- k) Dibujos informales



10



IV Sociedades

10) Sociedad, representada por: Ing. Jorge Aníbal FERNÁNDEZ

.....
quien declara bajo juramento que inviste el carácter de Representante

que su mandato se encuentra vigente y que la Sociedad se halla inscrita en.....

Fecha.....N°.....F°.....LibT°.....

V Mandato

11) Poder inscripto en Resolución CNEA N° 60/96.... Registrado en el INPI bajo N°.....

..... Otro Registro:..... N°.....

12) En este acto, se autoriza a : Carla Priano

para todas aquellas gestiones de mero tramite tales como practicar desgloses, retirar testimonios, certificados, títulos, copias y notificaciones en el expediente.

13) Se acompaña poder: Resolución CNEA N° 60/96 y Autorización INPI ☒

14) Caja jubilación o AFJP..... N° CUIL o CUIT.....20-8442307-7.....

15) Agente Nro. 1812

VI Observaciones: Inventores: Roberto Zysler, Enio Lima Jr., Marcelo Vasquez Mansilla, Pablo Gurman,
Alberto Lamagna



(Firma del autorizado)

Ing. Jorge Aníbal FERNÁNDEZ
Agente PI N° 1812
Representante CNEA
Gestor de Negocios CONICET

(Firma del(los) Solicitante(s) y/o apoderado)

CNEA

HOJA TECNICA



(19)

I.N.P.I.

REPUBLICA ARGENTINA

(10)

PUBLICACION N°: AR

(21)

SOLICITUD N°:

(51)

INT. CL.:

(12)



PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD

(22) FECHA PRESENTACION:

(30) DATOS PRIORIDAD:

(41) FECHA PUBLICACION SOLICITUD:
BOLETIN N°:

(61) ADICIONAL A:

(62) DIVISIONAL DE:

(71) SOLICITANTE(S): **COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA , CONICET**

(72) INVENTOR(ES): Roberto Zysler, Enio Lima Jr., Marcelo Vasquez Mansilla, Pablo Gurman, Alberto Lamagna

(74) AGENTE: 1812

(83) DEPOS. MICROORGANISMOS:

(54) TITULO DE LA INVENCION: MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LA ABSORCIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN TEJIDOS. ANIMALES, Y EQUIPO PARA REALIZARLO

(57) RESUMEN:

La invención se refiere a un método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, que consiste en la determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas (utilizadas en distintas aplicaciones en medicina) embebidas en tejidos de animales por medio de mediciones de magnetización.

El método se basa en la medición de la magnetización en función del campo magnético aplicado de la muestra de tejido embebida con las nanopartículas obteniendo su magnetización de saturación. Esta magnitud es comparada con la magnetización de saturación de las mismas nanopartículas que se encuentran dentro del tejido para la determinación de la cantidad absoluta de nanopartículas magnéticas en el tejido animal de estudio.

El método comprende la preparación de las muestras para el portamuestras, la medición de la magnetización vs. campo magnético aplicado de una cantidad conocida de nanopartículas magnéticas (sea en estado sólido o en suspensión líquida), la determinación de su magnetización de saturación (medición de calibración), la determinación de la magnetización de saturación de la muestra a estudiar por medio de mediciones de magnetización y el cálculo de la masa de nanopartículas en los tejidos a partir de los datos medidos (magnetización de saturación de la muestra y de calibración de las nanopartículas).

Otro objeto de la invención es el equipo para desarrollar el método de cuantificación de nanopartículas magnéticas, que consiste en una unidad de excitación y detección de la señal magnética de la muestra, conectada a una unidad de control y el procesamiento de los datos obtenidos.

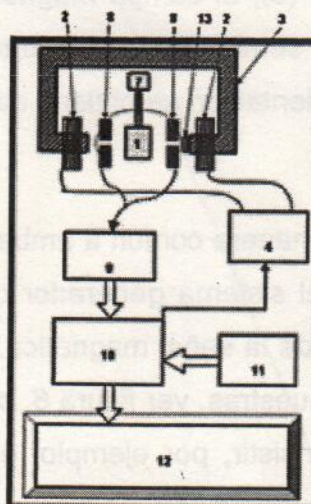


FIGURA MAS REPRESENTATIVA N°: 6

AR

Memoria Descriptiva de la Patente de Invención

denominada

**“MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LA
ABSORCIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS
EN TEJIDOS ANIMALES, Y EQUIPO PARA
REALIZARLO”**

Solicitada por

Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), residente en
Av. del Libertador 8250, Capital Federal, República Argentina.

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), residente
en Avda. Rivadavia 1917, Capital Federal, República Argentina.

Inventores: Roberto Zysler

Enio Lima Jr.

Marcelo Vasquez Mansilla

Pablo Gurman

Alberto Lamagna

Por el plazo de 20 años

La presente invención se refiere a un método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, y al equipo para realizarlo. El método consiste en la determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas (utilizadas para tratamientos médicos, protocolos y diagnósticos) embebidas en tejidos de animales por medio de mediciones de magnetización.

La aplicación del método de la invención es principalmente en medicina, para la determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas presentes en los tejidos y con este dato realizar la investigación, desarrollo y correspondiente elaboración de los protocolos; para la administración y empleo de las nanopartículas; para transporte de medicación u otro material biológicamente activo para un tratamiento médico, para tratamiento de hipertermia con partículas magnéticas, para diagnóstico, o en otra aplicación que pudiese surgir a partir de la utilización de nanopartículas magnéticas.

El uso de nanopartículas magnéticas en medicina ha despertado gran interés en la comunidad científica por varias razones como la posibilidad de utilizarlas para transportar fármacos de manera específica a un sitio del organismo evitando toxicidades, muchas veces inaceptables, como en la quimioterapia del cáncer. Además existe la potencialidad de utilizarlas como herramientas terapéuticas en sí mismas, mediante el método conocido como hipertermia y termoablación, donde las propiedades mecánicas de las partículas sometidas a un campo magnético alterno se aprovechan para generar calor local y de esta forma destruir un tumor, sin requerir el uso de drogas. Esto último ha alentado su creciente estudio y ya existen productos comerciales basados en las mismas. Las nanopartículas también pueden utilizarse como agentes de contraste al mismo tiempo que se realiza un tratamiento, para lo cual ya se cuenta con productos comerciales basados en las nanopartículas. Todas estas constituyen pruebas inequívocas del potencial de este tipo de partículas.

La cuantificación de nanopartículas en tejidos tiene el objeto de determinar la biodistribución de las mismas en orden de perfeccionar la llegada de las

partículas a tejidos enfermos del organismo como puede ser un tejido tumoral. La cuantificación de las nanopartículas en este tipo de tejidos es clave, por ejemplo, en los tratamientos basados en estas nanopartículas, como en los protocolos de hipertermia y en el transporte específico de medicamentos mediado por estas partículas, donde es necesario cuantificar la cantidad de nanopartículas en el tejido blanco y en el resto de los tejidos sanos. Por ejemplo, en hipertermia es fundamental controlar el calor generado tanto en el tejido enfermo como en el sano, mientras que en el transporte de medicamentos basados en nanopartículas es necesario conocer la cantidad de droga que alcanza el tumor y los tejidos sanos para minimizar las reacciones adversas de las mismas. En definitiva cuantificar los niveles de nanopartículas magnéticas en tejidos resulta ser una valiosa herramienta para perfeccionar los tratamientos basados en las mismas en términos de mayor eficacia y menor toxicidad y determinar los protocolos necesarios para la utilización de las mismas en los pacientes.

Diferentes métodos han sido desarrollados para la identificación de nanopartículas de magnetita en muestras de tejido animal. Es posible dividir a estos métodos en cualitativos y cuantitativos.

En cuanto a los métodos cualitativos, los procedimientos colorimétricos han sido muy utilizados. El método de ferrozina, que utiliza un quelante específico de hierro para modificar el estado de oxidación del hierro y es capaz de liberar el hierro de la estructura cristalina de la magnetita. Esto resulta ser una desventaja ya que también se libera el hierro que forma parte de la hemoglobina y el método pierde especificidad al no poder distinguir el origen del hierro en la muestra. El método de azul de Prusia utiliza un colorante basado en ferrocianuro de potasio que al acomplejar iones Fe^{+2} y Fe^{+3} en su estructura cristalina genera un color azul debido a un proceso de transferencia de energía entre estas dos especies. El problema del método además de ser cualitativo es que no permite distinguir el origen del hierro y además la exposición a luz puede modificar el color del reactivo.

Dentro de los métodos empleados hasta ahora para la determinación cuantitativa de nanopartículas, podemos mencionar el uso de hierro marcado radiactivamente, la Espectrometría por Absorción Atómica, ICP (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy), ESR (Electron Spin Resonance Spectroscopy), Microscopia Electronica de Transmisión (TEM), Resonancia Magnética Nuclear (NMR) y recientemente se ha presentado un método de determinación en forma absoluta de la cantidad de nanopartículas en un tejido por medio de resonancia ferromagnética (FMR).

La Espectrometría de absorción Atómica es una técnica capaz de detectar la presencia de prácticamente cualquier elemento, al ser atomizado mediante una fuente de energía como una llama o un método electrotérmico. El método es muy sensible, pero es incapaz de determinar si el hierro proviene de la muestra (hierro endógeno) o de las partículas magnéticas, generando así un enmascaramiento del resultado.

La Espectroscopia por inducción de plasma si bien es una técnica cuantitativa, adolece de los mismos problemas que la Espectrometría de Absorción Atómica, ya que no puede distinguir el hierro endógeno (presente en proteínas como hemoglobina, ferritina, etc.) del hierro exógeno (proveniente de las nanopartículas).

La marcación radioactiva de hierro (Ej. ^{59}Fe) si bien puede ser detectable con un contador de centelleo requiere la manipulación de material radioactivo, potencialmente riesgoso para la salud y el ambiente, además de incurrir en una serie de protocolos que incrementan el tiempo e insumos necesarios para su uso.

La técnica de ESR si bien es capaz de distinguir el hierro endógeno del exógeno, requiere de una preparación de la muestra debido a las características del recipiente donde se introduce la misma, haciendo la preparación de la misma un proceso complejo.

La microscopia electrónica de transmisión es una herramienta sumamente costosa y que implica una serie de pasos que la hacen incompatible con la medición de rutina de muestras y no se encuentra siempre disponible. Asimismo la visualización de las partículas puede estar sujeta a errores, dado que algunas estructuras subcelulares pueden dar imágenes muy similares a la de las nanopartículas magnéticas. Además, obtener un resultado cuantitativo por esta técnica es muy difícil y trabajoso.

El método de Resonancia Magnética Nuclear ha sido recientemente empleado para intentar cuantificar nanopartículas magnéticas. Esta técnica se basa en la relación existente entre la intensidad de la señal y los tiempos de relajación de los espines de los protones utilizados para el armado de las imágenes de tomografía de RMN. La relación de proporcionalidad entre la señal obtenida por RMN y la concentración de nanopartículas existiría sólo en determinadas situaciones, lo que torna al método poco confiable.

Recientemente se ha presentado un método de determinación en forma absoluta de la cantidad de nanopartículas en un tejido por medio de resonancia ferromagnética (FMR) [International Journal of Nanomedicine 2010:5 203–211]. Este método es muy sensible pero requiere de equipamiento muy específico de resonancia magnética y personal entrenado para interpretar los espectros que se obtienen para poder obtener el dato buscado.

Se observa que en la mayoría de los trabajos científicos donde utilizan nanopartículas en tejidos animales, no se resuelve el dato de la cantidad de nanopartículas en los diferentes tejidos sino, a lo sumo, la dosis inyectada en el animal de estudio. Es necesario resolver esta cuantificación de la forma más simple y precisa posible, debido a que la absorción de las nanopartículas magnéticas por parte de los diferentes tejidos del animal, con sus diferentes funciones, es un dato fundamental para desarrollar la investigación en el tema de los tratamientos médicos con nanopartículas magnéticas y diseñar los protocolos

necesarios de aplicación en los pacientes para su tratamiento, pudiendo incluso ser una etapa en éstos para mejorar la eficiencia y la especificidad del tratamiento.

El método de la invención trata la determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas, embebidas en tejidos de animales, por medio de mediciones de magnetización de una cantidad conocida de las mismas y los tejidos a determinar.

Una de las ventajas de la invención es que la medición da una cuantificación del número de nanopartículas sin interferencia del hierro proveniente de la hemoglobina y requiriendo muy pequeñas cantidades de tejido para tal fin.

Otra de las ventajas del método de la invención es su fácil implementación e interpretación encontrando su principal aplicación en mediciones de rutina médica. Cualquier unidad de excitación y detección de la señal magnética (magnetómetro) permitiría este proceso y en el caso del equipo de la invención de medición de magnetización "ad hoc" resulta muy sencillo ya que consiste en un pequeño magnetómetro funcionando a campos magnéticos moderados (puede ser con imanes permanentes o electroimán) y además resaltando como otra característica ventajosa que las mediciones se realizarían a temperatura ambiente.

En una aplicación en particular esta determinación de cantidad de nanopartículas se puede normalizar con la masa total de la muestra dando así una característica intensiva del material. Esta característica intensiva permitiría determinar varias características en cuanto a la relación de las nanopartículas y los tejidos, siendo un dato fundamental para desarrollar la investigación en el tema de los tratamientos médicos.

El método de la invención se basa en los siguientes conceptos:

Las nanopartículas superparamagnéticas consisten en un único dominio cuyos momentos magnéticos pueden invertirse rápidamente como consecuencia

de la energía térmica sin la aplicación de un campo magnético. Si se aplica un campo magnético externo, el momento magnético de las partículas tiende a alinearse en la dirección del campo dando una magnetización neta para el sistema. La magnetización del sistema de nanopartículas no sólo depende de la aplicación del campo magnético H , sino también de la temperatura T . La magnetización en función del campo magnético y la temperatura $M(H, T)$ viene dada por la función de Langevin, $L(x)$:

$$M(H, T) = M_s L(H, T) \quad ; L(x) = \coth(x) - \frac{1}{x} \quad ;$$

donde M_s es la magnetización de saturación, $x = \frac{\mu H}{k_B T}$, μ es el momento

magnético de la nanopartícula y k_B es la constante de Boltzmann. Las curvas de magnetización a diferentes temperaturas, típicas de un sistema superparamagnético, se grafican en la figura 1. La universalidad de estas curvas es evidente ya que todas las curvas superponen cuando se las grafican en función de H/T (inserto de la figura 1). Los parámetros pertinentes de la curva $M(H, T)$ son la magnetización de saturación y el momento magnético de la nanopartícula, que modifica su curvatura. La magnetización de saturación M_s es una propiedad intrínseca del material, generalmente normalizado en masa (emu/g) o volumen (emu/cm³), siendo 1000 emu = 1 Am². La medición del valor de M_s de una muestra da precisamente la cantidad de la fase magnética en toda la muestra. La magnetización de saturación de los sistemas de nanopartículas tiene valores más bajos que el valor de M_s del material masivo con la misma composición. Se debe considerar que la caracterización previa de las nanopartículas magnéticas es necesaria para el método de cuantificación de la invención.

Por otro lado, los materiales orgánicos presentes en los tejidos animales por lo general presentan comportamiento diamagnético o, en ocasiones, comportamiento paramagnético. Se sabe que, aplicando el campo magnético, el comportamiento de la hemoglobina es diamagnético o paramagnético en función

del grado de oxigenación de la misma. La curva característica $M(H)$ de materiales diamagnéticos (paramagnético) ante la aplicación de campos magnéticos moderados corresponden a un comportamiento lineal con pendiente negativa (positiva) como está representado en la figura 2(a). Esta pendiente es la susceptibilidad magnética (χ) del material. La diferencia entre las curvas de magnetización de las nanopartículas magnéticas y el tejido animal nos permite separar fácilmente las contribuciones de cada componente de un sistema compuesto de tejido orgánico + partículas magnéticas. En la figura. 2(b) se ha representado, como ejemplo, la curva de magnetización esperada para un sistema compuesto por una dispersión de nanopartículas superparamagnéticas diluidas en un tejido diamagnético, donde se obtiene claramente la magnetización de saturación de la fase superparamagnética por la extrapolación de la magnetización de altos campos magnéticos a campo cero. Del cociente del valor de la M_S de la muestra y el valor normalizado de M_S de las partículas se extrae la cantidad de las nanopartículas magnéticas en la muestra a partir de la siguiente ecuación

$$m_{\text{nanop.magnetita}} = \frac{M_S(\text{tejido emu})}{M_S(\text{normalizado emu/g})}$$

Se realiza a continuación una breve descripción del método para la cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, de la invención.

1. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO.

Se mide la magnetización variando el campo magnético a temperatura ambiente resultando un gráfico magnetización vs. campo magnético de donde se obtiene la magnetización de saturación ($M_{S \text{ medido}}$) por la extrapolación de la magnetización de altos campos magnéticos a campo cero. Ésta se divide por la masa de nanopartículas conocida para obtener el valor de la magnetización de saturación por unidad de masa ($M_{S \text{ normalizado}}$):

$$M_{S \text{ normalizado}} (\text{emu/g}) = M_{S \text{ medido}} (\text{emu}) / m_{\text{partículas}}$$

2. DETERMINACIÓN DE LA MAGNETIZACIÓN DE LA MUESTRA BIOLÓGICA.

Se mide la magnetización de la muestra de tejido a analizar, que se encuentra embebida con las nanopartículas a campos magnéticos donde la magnetización es lineal con el campo aplicado (usualmente mayores a 3000 Oe). La magnetización de saturación ($M_{S \text{ tejido}}$) de la muestra se determina extrapolando la ordenada al origen de la magnetización lineal a altos campos magnéticos.

3. CUANTIFICACIÓN.

Se calcula la cantidad de nanopartículas a partir del cociente entre la magnetización de saturación de la muestra y la magnetización de saturación normalizada de las nanopartículas:

$$m_{\text{nanopartículas}} \text{ (g)} = M_{S \text{ tejido}} \text{ (emu)} / M_{S \text{ normalizado}} \text{ (emu/g)}$$

El equipo para desarrollar el método de cuantificación de nanopartículas magnéticas, de la invención, consiste sucintamente en una unidad de excitación y detección de la señal magnética de la muestra, conectada a una unidad de control y procesamiento de los valores obtenidos donde, luego de interactuar entre ambas, se procesa y se obtiene el valor de la cuantificación de nanopartículas buscado, que luego se visualizará.

A fin de una mejor comprensión de la presente invención se explican a continuación los dibujos adjuntos a los cuales se hacen referencia y ejemplos de aplicación de la invención.

La Figura 1 presenta las Curvas de magnetización (M) vs. Campo magnético aplicado (H) a diferentes temperaturas (T) de un sistema de nanopartículas superparamagnético con un recuadro que visualiza la Magnetización vs. H/T, donde se evidencia la superposición de todas las curvas.

La Figura 2(a) representa las Curvas características de magnetización de materiales diamagnéticos y paramagnéticos, $M(H)$. La Figura 2(b) muestra la curva de magnetización de un sistema compuesto por un material diamagnético + nanopartículas superparamagnéticas, indicando la magnetización de saturación de las nanopartículas, M_s , en la extrapolación de la magnetización a campo magnético nulo.

En la Figura 3(a) se observa la Curva de magnetización, $M(H)$, de nanopartículas de magnetita de 13 nm de diámetro utilizadas en este trabajo medido a temperatura ambiente. La Figura 3(b) grafica la curva $M(H)$ de tejido muscular bovino (muestra M0), que presenta un comportamiento diamagnético característico.

La Figura 4(a) y 4(b) representa las Curvas $M(H)$ medidas a temperatura ambiente de las muestras M1 (a) y M2 (b). La superposición de las contribuciones diamagnéticas (tejido) y superparamagnéticas (nanopartículas) se pone de manifiesto en las curvas. Las líneas de puntos corresponden a la extrapolación de la magnetización medida a altos campos magnéticos sobre el eje de campo cero, indicando la magnetización de saturación.

En la Figura 5(a), 5(b), 5(c) y 5(d) se observa la Magnetización de hígado y pulmón de ratón inyectado con una suspensión de nanopartículas de magnetita recubiertos con dextrano donde es visible la contribución de magnetización superparamagnética (b) - (d), y las mediciones $M(H)$ de los mismos tipos de tejidos de un ratón no inyectado (a) - (c) mostrando sólo el comportamiento diamagnético. Las líneas continuas son sólo una guía para la interpretación y las líneas de puntos son la extrapolación de los campos de alta magnetización a campo cero, indicando la magnetización de saturación.

La Figura 6 es una representación de un ejemplo de realización del equipo de la invención consistiendo en una unidad de excitación y detección de la señal magnética de la muestra, conectada a una unidad de control y el procesamiento de los datos obtenidos.

La Figura 7 es un esquema del generador de campo magnético variable del equipo de la invención que permite la cuantificación de las nanopartículas utilizando en este caso un electroimán como generador.

La Figura 8 es un esquema del generador de campo magnético variable del equipo de la invención que permite la cuantificación de las nanopartículas utilizando en este caso un imán permanente como generador.

La Figura 9, en la Tabla I, presenta un resumen de la determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas en los diferentes tejidos.

A fin de una mejor comprensión de la presente invención y mayor entendimiento de las ventajas comentadas, más las que los entendidos en la especialidad podrán agregar, se realiza a continuación la descripción detallada del método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales de la presente invención, que comprende las siguientes etapas:

1. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO.

Se coloca una cantidad conocida de nanopartículas en el portamuestra del magnetómetro, el cual debe consistir en un material diamagnético (por ejemplo, polímero, vidrio, cuarzo o gelatina). Las nanopartículas pueden encontrarse en estado de polvo o suspensión en un líquido. En el caso de ser en estado de polvo, se pesa el mismo antes de colocarlo en el portamuestra ($m_{\text{partícula}}$). En el caso de ser una suspensión líquida, se debe tomar el volumen del mismo y conocida la concentración de nanopartículas en la suspensión, se determinará la masa de nanopartículas colocada en el portamuestra ($m_{\text{partícula}}$). Se mide la magnetización vs. campo magnético a temperatura ambiente aplicado a una cantidad conocida de nanopartículas magnéticas donde se obtiene la magnetización de saturación ($M_{\text{S medido}}$) por la extrapolación de la magnetización de altos campos magnéticos a

campo cero. Ésta se divide por la masa de nanopartículas conocida y medida anteriormente para obtener el valor de la magnetización de saturación por unidad de masa ($M_{S\text{normalizado}}$):

$$M_{S\text{normalizado}} (\text{emu/g}) = M_{S\text{ medido}} (\text{emu})/m_{\text{partículas}}$$

Este factor de calibración, $M_{S\text{normalizado}}$, se tomará como referencia para cualquier medición de tejido que utilice las mismas nanopartículas, por este motivo es que esta etapa puede estar realizada previamente, en particular si normalmente se utiliza el mismo tipo de nanopartículas para trabajar, ya se puede tener estandarizada la calibración y el método empezaría desde la etapa 2.

2. DETERMINACIÓN DE LA MAGNETIZACIÓN DE LA MUESTRA BIOLÓGICA.

Las muestras de tejido a analizar pueden ser de tejido fresco, desecado, fijado, líquido o en cualquier estado que represente al tejido orgánico a evaluar. Las muestras son cortadas de un tamaño acorde al tamaño del portamuestras del magnetómetro, el cual también debe consistir en un material diamagnético (por ejemplo, polímero, vidrio, cuarzo o gelatina). La muestra debe ser cuidadosamente pesada a fin de que el error en la pesada no tenga un peso preponderante al propagar el error en la determinación relativa del número de partículas en el tejido. En el caso en que la muestra fuese líquida, se puede reemplazar la pesada por la determinación del volumen del mismo.

Luego la muestra de tejido a analizar, que se encuentra embebida con las nanopartículas, es colocada en el portamuestra del magnetómetro para la determinación de la magnetización de saturación. Para ello se mide la magnetización de las muestras a campos magnéticos donde la magnetización es lineal con el campo aplicado (usualmente mayores a 3000 Oe). La magnetización de saturación ($M_{S\text{ tejido}}$) de la muestra se determina extrapolando la ordenada al origen de la magnetización lineal a altos campos magnéticos.

3. CUANTIFICACIÓN.

Se calcula la cantidad de nanopartículas a partir del cociente entre la magnetización de saturación de la muestra y la magnetización de saturación normalizada de las nanopartículas:

$$m_{\text{nanopartículas}} \text{ (g)} = M_{\text{S tejido}} \text{ (emu)} / M_{\text{S normalizado}} \text{ (emu/g)}$$

En una aplicación en particular esta determinación de cantidad de nanopartículas se puede normalizar con la masa total de la muestra dando así una característica intensiva del material:

$$m_{\text{nanopartículas normalizado}} \text{ (g partículas/g tejido)} = m_{\text{nanopartículas}} \text{ (g)} / m_{\text{muestra}} \text{ (g)}$$

Esta característica intensiva permitiría determinar varias características en cuanto a la relación de las nanopartículas y los tejidos, siendo un dato fundamental para desarrollar la investigación en el tema de los tratamientos médicos.

El equipo para desarrollar el método de cuantificación de nanopartículas magnéticas, de la invención, consiste sucintamente en una unidad de excitación y detección de la señal magnética de la muestra, conectada a una unidad de control y el procesamiento de los datos obtenidos. Según se observa en la Figura 6, dicha unidad de excitación y detección está compuesta por un dispositivo generador de campo magnético variable (4), donde se coloca la muestra (1), con un oscilador del portamuestras (7), y un dispositivo de detección de la señal magnética (8) emitida por la muestra. Esta señal es enviada a dicha unidad de control y procesamiento, donde se desarrollan las demás etapas del método ya descrito, a través de un amplificador (9) que mide dicha señal magnética emitida por la muestra, transmitiendo su valor a la unidad de control y procesamiento (10), a la cual está conectado. Esta unidad (10) también recibe la información desde una unidad de entrada de datos (11) (en particular los datos de la muestra, peso o volumen), y eventualmente de un sensor de campo magnético (13). Esta unidad de control y procesamiento envía una señal al regulador del campo (4) que regula

el campo magnético de acuerdo a las necesidades del método de la invención. Una vez procesados los valores recogidos por la unidad de control y procesamiento (10), se envían los resultados a un visor de resultados (12), completando el método de la invención, obteniendo la cuantificación de nanopartículas buscada.

El generador de campo magnético variable, puede ser de dos maneras que se pueden observar en las figuras 7 y 8 donde someteríamos a la muestra (1) a analizar al campo magnético variable que permita la cuantificación de las nanopartículas. En el primer caso, figura 7, se puede generar por la acción del paso de una corriente eléctrica en un bobinado (2) sobre un núcleo de material magnético (3), del tipo electroimán. En este caso, el campo magnético generado en el espacio vacío entre el material magnético (3) es controlado por medio de la corriente de una fuente (4) de corriente entregada a las bobinas (2). En el segundo caso, ver figura 8, el campo magnético útil en la zona que se situaría la muestra (1) es generado por un imán permanente (5) que consta de un sistema que le permite la rotación en un espacio vacío en el material magnético en forma controlada (6) de esta manera funciona como el generador de campo, cumpliendo en este caso la misma función de la fuente de alimentación del electroimán (4). El control del campo magnético en el espacio de la muestra se produce al rotar el imán permanente. Cuando los polos del imán (5) están alineados con el material magnético (3), el campo magnético en la zona de la muestra (1) es máximo (en uno u otro sentido de la polaridad del imán) y al rotar el imán (5) 90° respecto a la primera orientación se obtiene campo magnético nulo en la zona de la muestra.

De manera común a ambas formas de generar el campo magnético variable tenemos el sistema generador de la vibración sobre la muestra y el sistema de detección de la señal magnética. El sistema de movimiento longitudinal oscilatorio del portamuestras, ver figura 6, consta de un sistema generador de la vibración (7) (puede consistir, por ejemplo, en un motor, un altoparlante o un piezoeléctrico)

acoplado al portamuestra. Este acople debe consistir en una rosca o traba que permita retirar el portamuestra para ser cargado o descargado de las muestras. Este portamuestras debe ser fabricado de un material diamagnético como por ejemplo, polímero, vidrio, cuarzo o gelatina. El sistema de movimiento oscilante (7) debe trabajar a una frecuencia constante (distinta a la frecuencia de resonancia mecánica de esta parte del equipo) y tener un sistema electrónico incorporado que le permita mantener la amplitud de esta oscilación constante durante todo el proceso de medición (oscilación del orden del milímetro). El sistema de detección de la señal magnética se basa en cuatro bobinas (8) situadas contra ambos lados del material magnético en el espacio reservado al portamuestras, figuras 6, 7 y 8. La variación de flujo magnético debido al movimiento de la muestra magnetizada induce una tensión en estas bobinas que es proporcional a la magnetización de la muestra que se desea medir. El diseño de estas bobinas tiene en cuenta que las bobinas superiores están bobinadas en un sentido mientras que las inferiores lo hacen en sentido inverso. Asimismo, las bobinas se encuentran conectadas entre sí en serie como se indica en la figura 6.

En la figura 6, se puede observar un ejemplo preferido de realización del equipo para desarrollar el método de cuantificación de nanopartículas magnéticas, de la invención, partiendo del uso de un electroimán donde la unidad de excitación y detección de la señal magnética, posee un portamuestras (1) donde se coloca la muestra del tejido animal, conectado a un oscilador (7), que impulsa un movimiento longitudinal oscilatorio al portamuestras, La muestra queda inmersa en un dispositivo generador de campo magnético variable (4), donde queda sometida a un campo magnético, produciendo una señal que es captada por un detector de la señal magnética, compuesto por bobinas de detección (8). A través de un amplificador (9), que contiene un voltímetro, se envían los valores detectados a la unidad de control y procesamiento (10). Esta unidad recibe los valores de calibración de las nanopartículas magnéticas (11), que si se mantienen las mismas

nanopartículas entre ensayos no hace falta volver a introducir, y los valores relativos a la cantidad de muestra, peso o volumen. En esta unidad de control y procesamiento se prosigue con el método de la invención ya descrito, conectándose para ello al generador de campo magnético (4), que produce las variaciones necesarias sobre el campo. Una vez terminado el procesamiento de los valores se pueden obtener a través del visualizador de resultados (12), conectado a la unidad de control y procesamiento (10).

La unidad de control y procesamiento de datos (10), figura 6, consta de un procesador, con las debidas interfaces electrónicas y digitales para comunicarse con las otras unidades que componen el equipo. Esta unidad (10) controla la generación del campo magnético, a través del generador que regula el campo, sea la fuente de corriente (4) de las bobinas (2) o el sistema de rotación (6) del imán (5) de modo de obtener el campo magnético necesario para magnetizar la muestra y llegar a la saturación de la misma. El valor de campo magnético existente en la zona de la muestra (1) es incorporado a los datos por medio de una calibración previa campo magnético en función de corriente (o ángulo de rotación) o bien es registrado en el momento de la medición con un sensor de campo magnético colocado a tal fin (13), figura 6. Este sensor (13) es un accesorio opcional al equipo.

La señal magnética proveniente de las bobinas de detección (8) en forma de una tensión alterna de frecuencia igual a la del movimiento del sistema vibrador (7), es amplificada por un amplificador/voltímetro (9) que responda a esta frecuencia de trabajo. El sistema vibrador (7) y el amplificador/voltímetro (9) se encuentran sincronizados en cuanto a la frecuencia y fase del movimiento y señal proveniente de las bobinas. El valor de tensión registrado por el amplificador/voltímetro (9) es enviado a la unidad de control y procesamiento (10). El procesamiento de los datos consiste en la conversión de los datos de tensión eléctrica proveniente del amplificador/voltímetro (9) en la magnetización de la muestra. Utilizando los datos provenientes de las mediciones a campos de módulo

mayores a aproximadamente 3000 Oe, donde los mismos tienen un comportamiento lineal, se procede a realizar un ajuste por mínimos cuadrados de la función lineal. El valor de la ordenada al origen corresponderá a la magnetización de saturación. Con los valores de la magnetización de saturación de la muestra medida y el valor de la magnetización de saturación de las partículas por gramo (puede ser medida o un valor introducido al sistema) se calculará automáticamente la masa de las partículas magnéticas presente en la muestra.

La interfase con el usuario se realiza por medio de una unidad de entrada de datos (11) y un sistema de visión de los resultados (12). La unidad de entrada de datos (11) puede constar de un teclado, botonera, pulsador para dar órdenes, pantalla táctil, balanza u otro sistema de entrada de datos; pudiendo ser más de uno de ellos. La unidad de visión de resultados (12) puede constar de un monitor, tubo de video, sistema de visor alfanumérico, impresora u otro sistema que le permita al usuario leer los resultados o realizar la interfase necesaria con el equipo de medición de la invención; pudiendo ser más de uno de ellos.

A modo de ejemplo se menciona a continuación, una posible forma de funcionamiento del equipo de la invención.

1- Obtención de la magnetización de saturación de las nanopartículas magnéticas.

Si el dato de la etapa de calibración del método ($M_{S\text{normalizado}}$) es conocido debido a que se está trabajando con las mismas nanopartículas, puede ser introducido al sistema por medio de la unidad de entrada de datos (11), quedando guardado en el sistema de almacenamiento de datos del equipo.

Si se determina por una medición de este equipo se debe proceder de la siguiente manera:

a) Colocar en el portamuestras una cantidad conocida de nanopartículas magnéticas (en polvo, suspensión u otra morfología).

b) Instalar el portamuestras en el vástago del sistema vibrador (7) y se incorpora el dato de la masa de las nanopartículas al sistema por medio de la unidad de entrada de datos (11).

c) Se realizara la medición. La unidad de control y procesamiento (10) regula el accionamiento del sistema vibrador (7) y controla el generador de campo (4) a fin de hacer una variación de campo magnético mientras obtiene los datos del amplificador/voltímetro (9). Culminado el ciclo de variación de campo, se convierten los datos a magnetización y la unidad de control y procesamiento (10) obtiene el valor de la magnetización de saturación por gramo luego de realizar un ajuste lineal de los datos correspondientes a campos de módulo mayores a ~3000 Oe, dividiendo la ordenada al origen por la masa de las partículas.

d) El valor de M_S se presenta en la unidad de visión (12) y se guarda en el sistema de almacenamiento de datos del equipo para su utilización posterior.

2- Determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas en la muestra de tejido animal.

a) Se procede con el tejido animal como en los pasos a), b) y c) del punto anterior, en la opción medida.

b) Con el dato de la magnetización de saturación medida y el dato de la magnetización de saturación de las partículas se entrega automáticamente al usuario en la unidad de visión (12) la masa de nanopartículas de la muestra a partir de:

$$m_{\text{nanopartículas}} \text{ (g)} = M_{S \text{ tejido}} \text{ (emu)} / M_{S \text{ partículas normalizado}} \text{ (emu/g)}$$

c) Con el dato de la masa de tejido medida, se entregará en la unidad de visión (12) la cantidad de nanopartículas normalizada con la masa total de la muestra dando así una característica intensiva del material:

$$m_{\text{nanopartículas normalizado}} (g_{\text{partículas}}/g_{\text{tejido}}) = m_{\text{nanopartículas}} (g) / m_{\text{muestra}}(g)$$

3- Existe la posibilidad de calibración del equipo con la medición (siguiendo los pasos anteriores) de una muestra estandarizada y así determinar la constante de proporcionalidad entre la tensión de las bobinas de detección (8) y la magnetización de la muestra. Esta operación debe realizarse en fábrica o por un técnico especializado. En este caso, el usuario sólo debería incorporar como dato el valor de cantidad de muestra, en la entrada (11) y obtendríamos como resultado la cuantificación deseada, en el visor (12), realizando para ello las operaciones mencionadas en el punto 2 anterior.

Para mayor aclaración de la presente invención (mostrando su efectividad), y la manera que la misma ha de ser llevada a la práctica, se explican a continuación dos ejemplos de realización del método de la invención, a través de la utilización de dos tipos de muestras de tejidos animales con partículas magnéticas. Uno de ellos consiste en el tejido muscular de la especie bovina inyectada con una cantidad conocida de nanopartículas de magnetita a partir de suspensiones acuosas de la misma. El otro conjunto de muestras consiste en tejidos de hígado y pulmón extraídos de ratones previamente inyectados con suspensiones acuosas de nanopartículas.

Las mediciones de magnetización en función del campo magnético (-10 kOe - 10 kOe siendo 1 oersted = 79.58 A/m en SI) se realizaron en un magnetómetro comercial de muestra vibrante (VSM) medido a temperatura ambiente.

Cuantificación de nanopartículas en tejido muscular bovino: Con el fin de demostrar la plausibilidad de la utilización de las mediciones magnéticas como un

método específico para determinar la cantidad de nanopartículas magnéticas en tejido animal, hemos preparado tres muestras de tejido muscular bovino.

Para realizar la calibración del método y para contrastar la señal magnética de las nanopartículas con el tejido, se preparó una muestra de tejido sin nanopartículas (muestra M0). La figura 3(a) y 3(b) presentan la magnetización de las nanopartículas de magnetita y la muestra M0 de tejido por separado, donde los comportamientos superparamagnético y diamagnético, respectivamente, se ponen de manifiesto. Tal como se presenta en la sección anterior, estas curvas de magnetización son las esperadas para cada caso. De la figura 3(a) se obtuvo un valor de $M_{S\text{normalizado}} = 32.8 \text{ emu/g}$.

Por otro lado, dos muestras fueron preparadas adicionando una suspensión acuosa de nanopartículas de magnetita a una muestra de tejido muscular. La tabla I de la Figura 9 resume la cantidad nanopartículas magnéticas para las diferentes muestras. La muestra M1 se preparó añadiendo $22 \mu\text{l}$ de una suspensión de nanopartículas ($2.6 \times 10^{-4} \text{ g}_{\text{magnetita}}/\text{ml}$), equivalente a $5.8 \mu\text{g}$ ($m_{\text{particula}}$) de nanopartículas de magnetita en $0.1486(2) \text{ g}$ (m_{tejido}) de tejido muscular. La muestra M2 se preparó añadiendo $80 \mu\text{l}$ de una suspensión de nanopartículas más concentrada ($3.6 \times 10^{-4} \text{ g}_{\text{magnetita}} / \text{ml}$), lo que corresponde a $28.9 \mu\text{g}$ ($m_{\text{particula}}$) de nanopartículas en 0.1247 g (m_{tejido}) de tejido muscular. La figura 4(a) y 4(b) presenta las curvas de magnetización de las muestras M1 y M2, donde la superposición de las contribuciones diamagnéticos y superparamagnético es evidente. La extrapolación de los datos de magnetización de alto campos magnéticos a campo cero, determina la magnetización de saturación de cada muestra: $M_S(M1) = 1.92(2) \times 10^{-4} \text{ emu}$ y $M_S(M2) = 1.04(2) \times 10^{-3} \text{ emu}$.

Para obtener la masa de nanopartículas contenidas en la muestra de tejido, se realiza la cuantificación teniendo en cuenta el valor de la magnetización de saturación de nuestras nanopartículas de magnetita, a partir de la siguiente ecuación:

$$m_{\text{nanop.magnetita}} = \frac{M_s(\text{tejido emu})}{M_s(\text{normalizado emu/g})}$$

se determinó las cantidades de nanopartículas de magnetita de 5.9 µg y 31.7 µg para las muestras M1 y M2, respectivamente. Estos valores son consistentes con los valores nominales dados por la fabricación de las muestras.

Cuantificación de nanopartículas en tejidos de hígado y pulmón extraídos de ratones: Este método de cuantificación ha sido probado en la determinación de la cuantificación de nanopartículas de magnetita en los diferentes tejidos de ratón, previamente inyectado con nanopartículas de magnetita recubiertas con dextrano (dosis de 3 mg de magnetita en todo el ratón).

En este ejemplo se tiene con anterioridad la propiedad de $M_{\text{Snormalizado}}$ que corresponde a las nanopartículas con las que se está trabajando. La figura 5 presenta la magnetización de hígado y pulmón de un ratón inyectado con las partículas donde la contribución de magnetización superparamagnética es visible. En la misma figura se han graficado las mediciones de magnetización de los mismos tejidos (hígado y pulmón) en una muestra del ratón no inyectado (animal de control) para la comparación con los tejidos con magnetita donde sólo se observa el comportamiento diamagnético (Figs. 5a y 5c). La tabla I de la Figura 9 resume la cantidad nanopartículas magnéticas para las diferentes muestras. De los valores de M_s (véase la extrapolación de las figuras 5b y 5d $M_s(\text{hígado}) = 9.53 \times 10^{-4}$ emu y $M_s(\text{pulmón}) = 3.05 \times 10^{-3}$ emu) se determinó en cada caso la concentración de nanopartículas de magnetita: 29,1 µg de magnetita en 114.2 mg de tejido hepático ($0.255 \mu\text{g}_{\text{partículas}}/\text{mg}_{\text{tejido}}$) y 92.4 µg de magnetita en 39.1 mg de tejido pulmonar ($2.36 \mu\text{g}_{\text{partículas}}/\text{mg}_{\text{tejido}}$). El método ha determinado la cantidad de nanopartículas de magnetita en los tejidos animales, sin la interferencia de la presencia natural de iones de hierro de los tejidos o de la sangre.

Siguen 21 reivindicaciones en página 23-.

REIVINDICACIONES

Habiendo descripto y determinado la naturaleza y alcance de la presente invención, y la manera que la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara lo que se reivindica como invención y de propiedad exclusiva:

1) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, donde se realiza una etapa previa de calibración del método, donde se obtiene la magnetización de saturación normalizada de las nanopartículas, caracterizado porque se realizan las siguientes etapas:

- a. Determinación de la magnetización de la muestra biológica: se mide la magnetización de la muestra de tejido a analizar, previamente embebida con las nanopartículas.
- b. Cuantificación: se calcula la cantidad de nanopartículas en la muestra, a partir del cociente entre la magnetización de saturación de la muestra, determinada en la etapa a, y la magnetización de saturación normalizada de las nanopartículas, obtenida de dicha etapa previa de calibración del método.

2) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 1, caracterizado porque, en dicha etapa de determinación de la magnetización de la muestra biológica, la magnetización se mide a campos magnéticos donde la magnetización es lineal con el campo aplicado; y la magnetización de saturación de la muestra se determina extrapolando a la ordenada al origen en el gráfico de la magnetización lineal a altos campos magnéticos.

3) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 2, caracterizado porque en dicha etapa previa de calibración del método se mide, a una cantidad conocida de nanopartículas, la magnetización vs. campo magnético a temperatura ambiente, de donde se obtiene la magnetización de saturación extrapolando en el gráfico a campo magnético aplicado cero; y se obtiene la magnetización de saturación normalizada de la división entre la magnetización de saturación y la masa de la cantidad conocida de nanopartículas.

4) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 3, caracterizado porque las nanopartículas magnéticas son cualquiera de uso médico en estado de polvo y se mide su peso, para conocer su masa para la calibración.

5) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 3, caracterizado porque las nanopartículas magnéticas son cualquiera de uso médico en suspensión en un líquido, se mide su volumen y conocida su concentración se determina su masa para la calibración.

6) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según cualquiera de las reivindicaciones, caracterizado porque en dicha etapa de determinación de la magnetización de la muestra biológica, las muestras de tejido a analizar están en cualquier estado representativo del tejido, tanto sólido como líquido.

7) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 6, caracterizado porque luego de dicha etapa de cuantificación se obtienen los gramos de nanopartículas por gramo de

tejido, como característica intensiva; dividiendo la masa de nanopartículas obtenidas en la etapa b) sobre la masa de tejido analizada.

8) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 6, caracterizado porque es aplicado para establecer protocolos médicos.

9) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 6, caracterizado porque es aplicado para realizar tratamientos médicos.

10) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 6, caracterizado porque es aplicado para diagnóstico médico.

11) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, para realizar el método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque cuenta con un medio de excitación y detección de la señal magnética, conectado a un medio de control y procesamiento de los valores, para la cuantificación, conectado a uno o más dispositivos de entrada de datos y uno o más medios de visión de resultados.

12) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según la reivindicación 11, caracterizado porque dicho medio de excitación y detección de la señal magnética consta de un medio generador de campo variable, de un medio generador de vibración acoplado al portamuestra, que contiene la muestra de tejido animal y de un medio de detección de la señal magnética conectado a un voltímetro-amplificador.

13) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 12, caracterizado porque dicho medio

generador de campo variable es un electroimán, y dicho medio de detección de la señal magnética son bobinas conectadas en serie.

14) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 12, caracterizado porque dicho medio generador de campo variable es un imán permanente, y dicho medio de detección de la señal magnética son bobinas conectadas en serie.

15) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 12, caracterizado porque la calibración previa del campo magnético variable se realiza con un sensor de campo magnético incorporado dicho medio de excitación y detección de la señal magnética.

16) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 11, caracterizado porque uno de dichos medios de visión de resultados es un dispositivo de impresión.

17) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 11, caracterizado porque uno de dichos medios de visión de resultados es un display.

18) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 11, caracterizado porque uno de dichos dispositivos de entrada de datos es un medio pulsador.

19) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 11, caracterizado porque uno de dichos dispositivos de entrada de datos es un teclado.

20) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 11, caracterizado porque uno de dichos dispositivos de entrada de datos es una balanza.

21) Equipo cuantificador de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, según reivindicación 11, caracterizado porque uno de dichos dispositivos de entrada de datos es una pantalla táctil.

Comisión Nacional de Energía Atómica

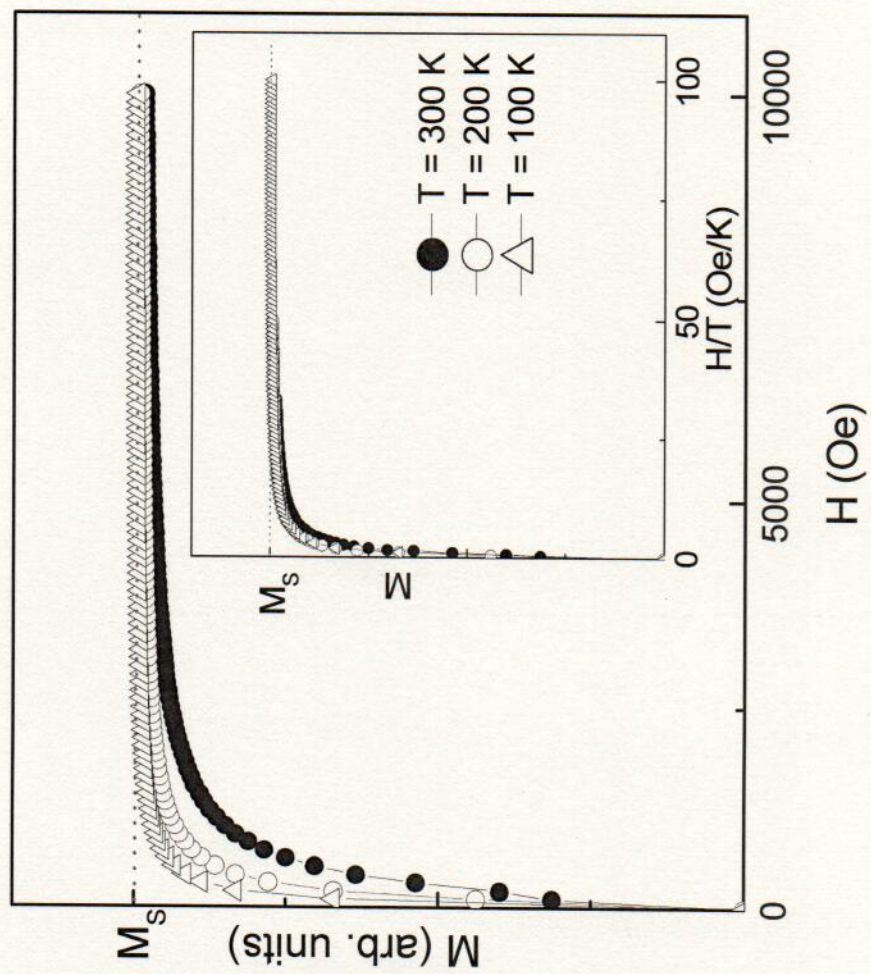


Figura 1

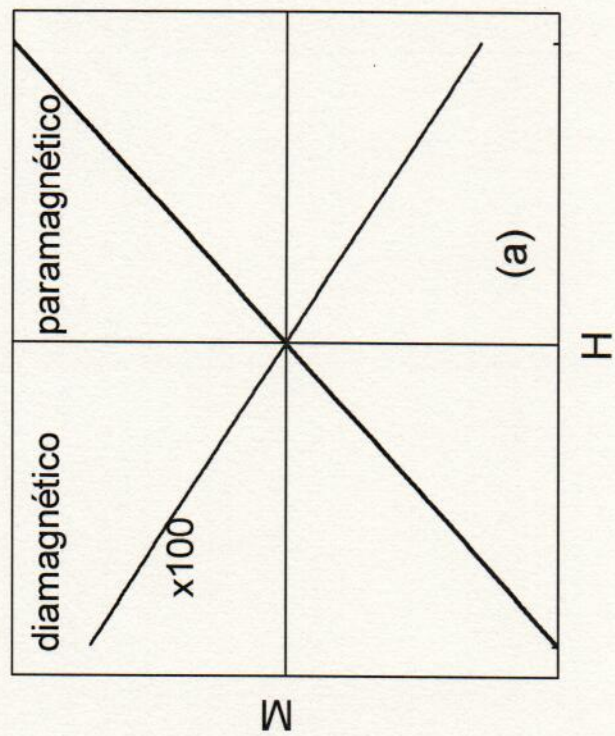


Figura 2(a)

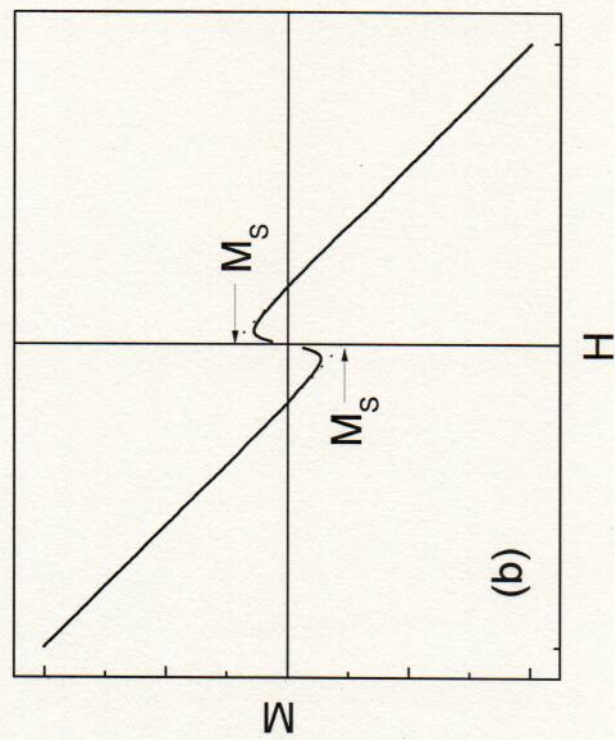


Figura 2(b)

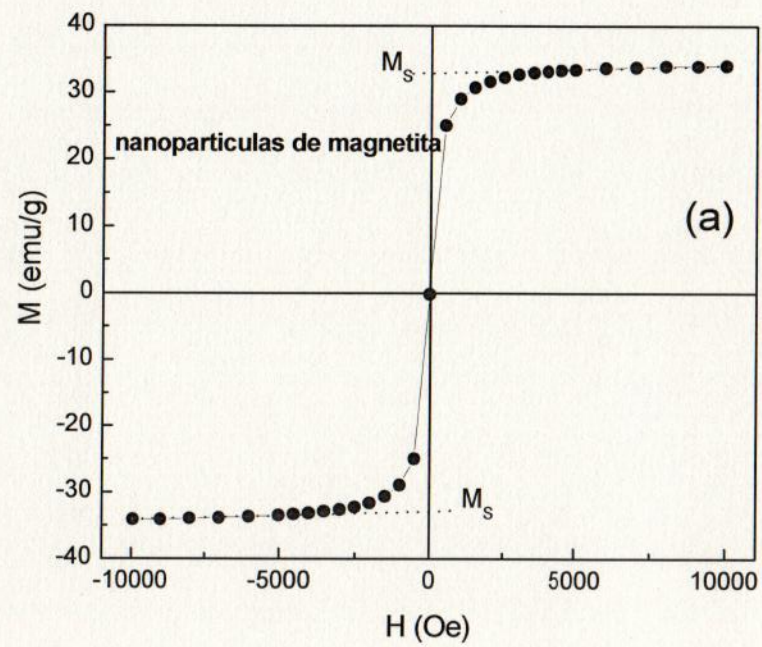


Figura 3(a)

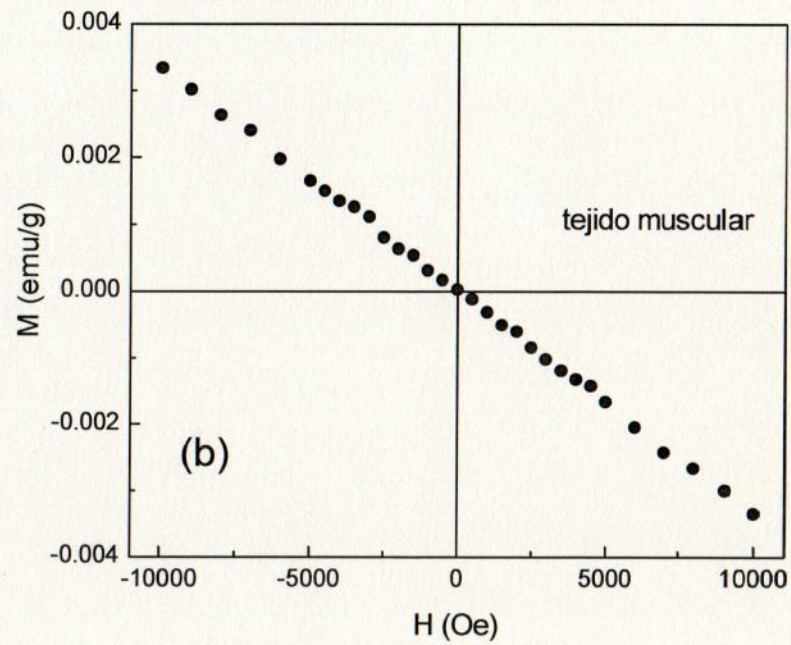


Figura 3(b)

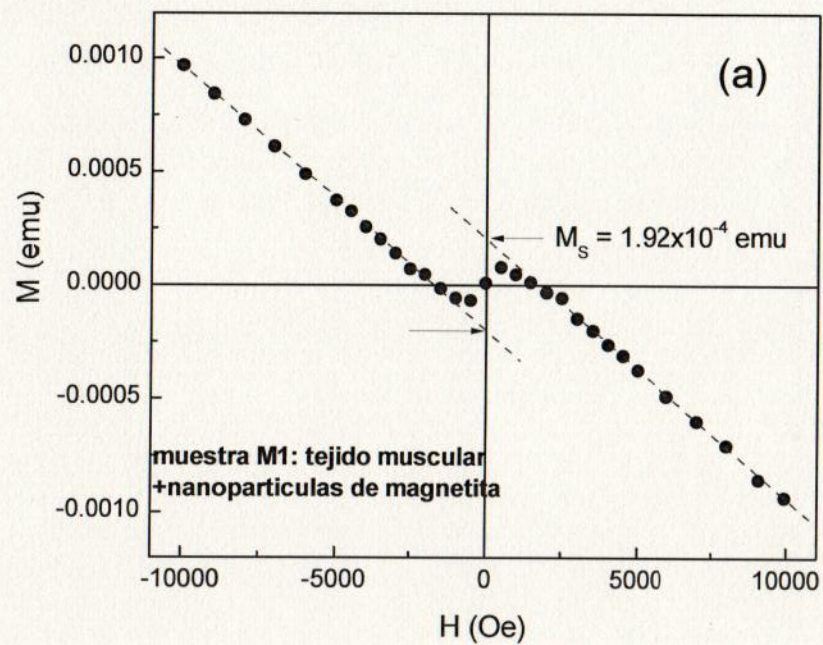


Figura 4(a)

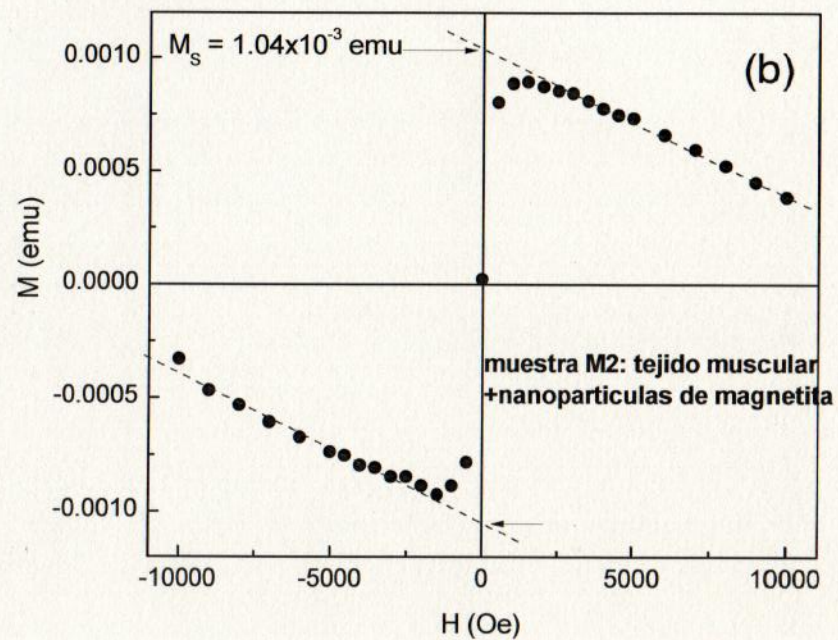
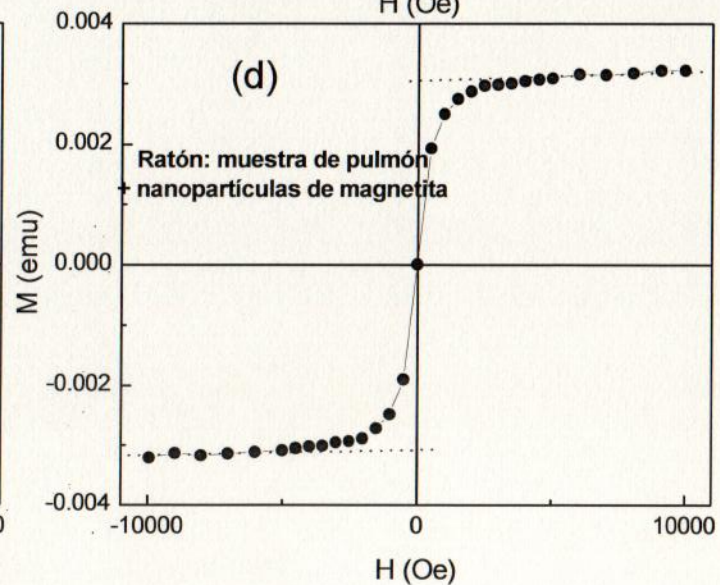
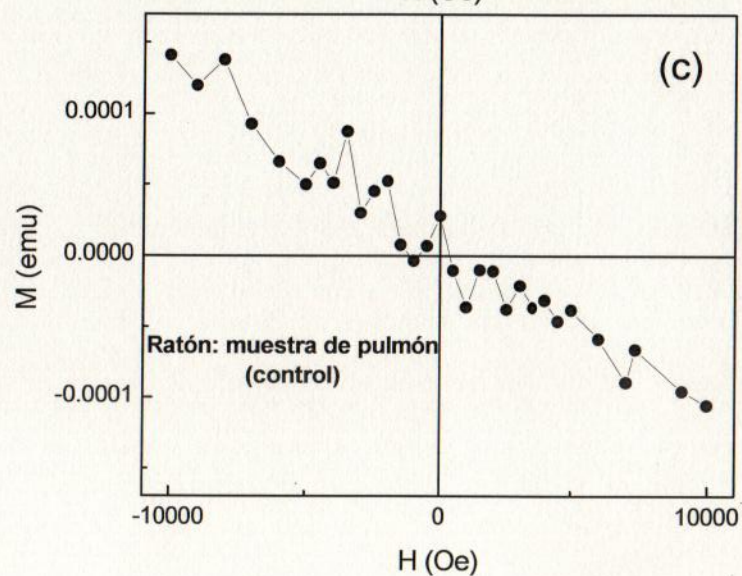
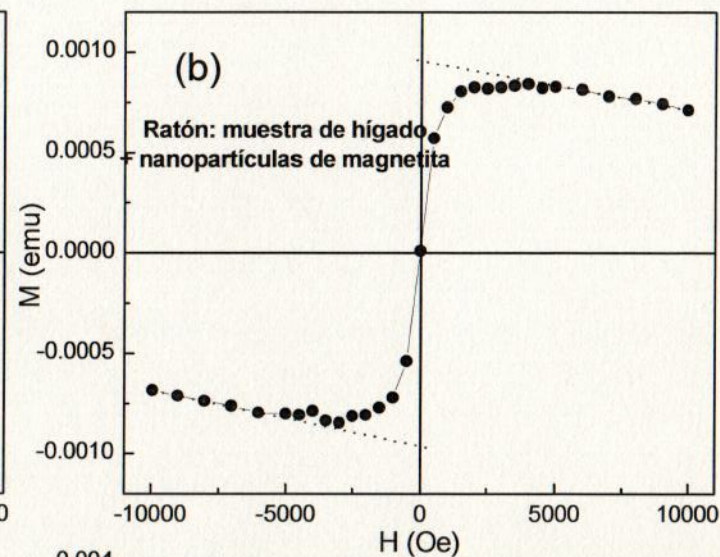
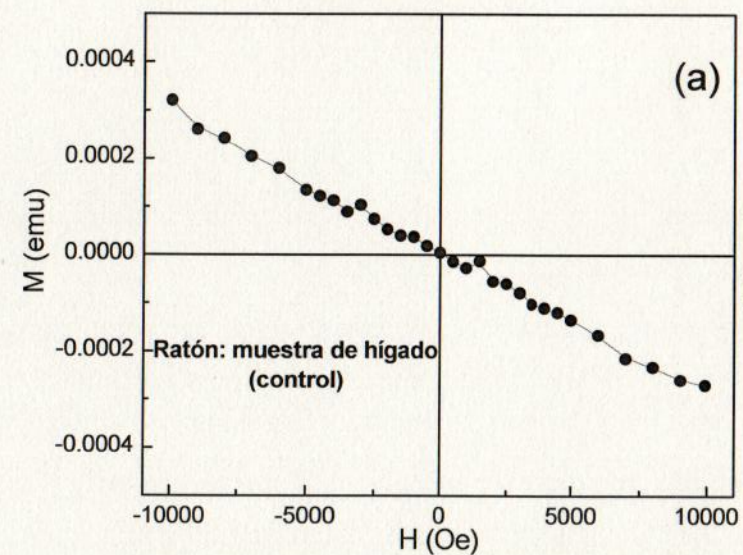


Figura 4(b)



Figuras 5(a), 5(b), 5(c) y 5(d)

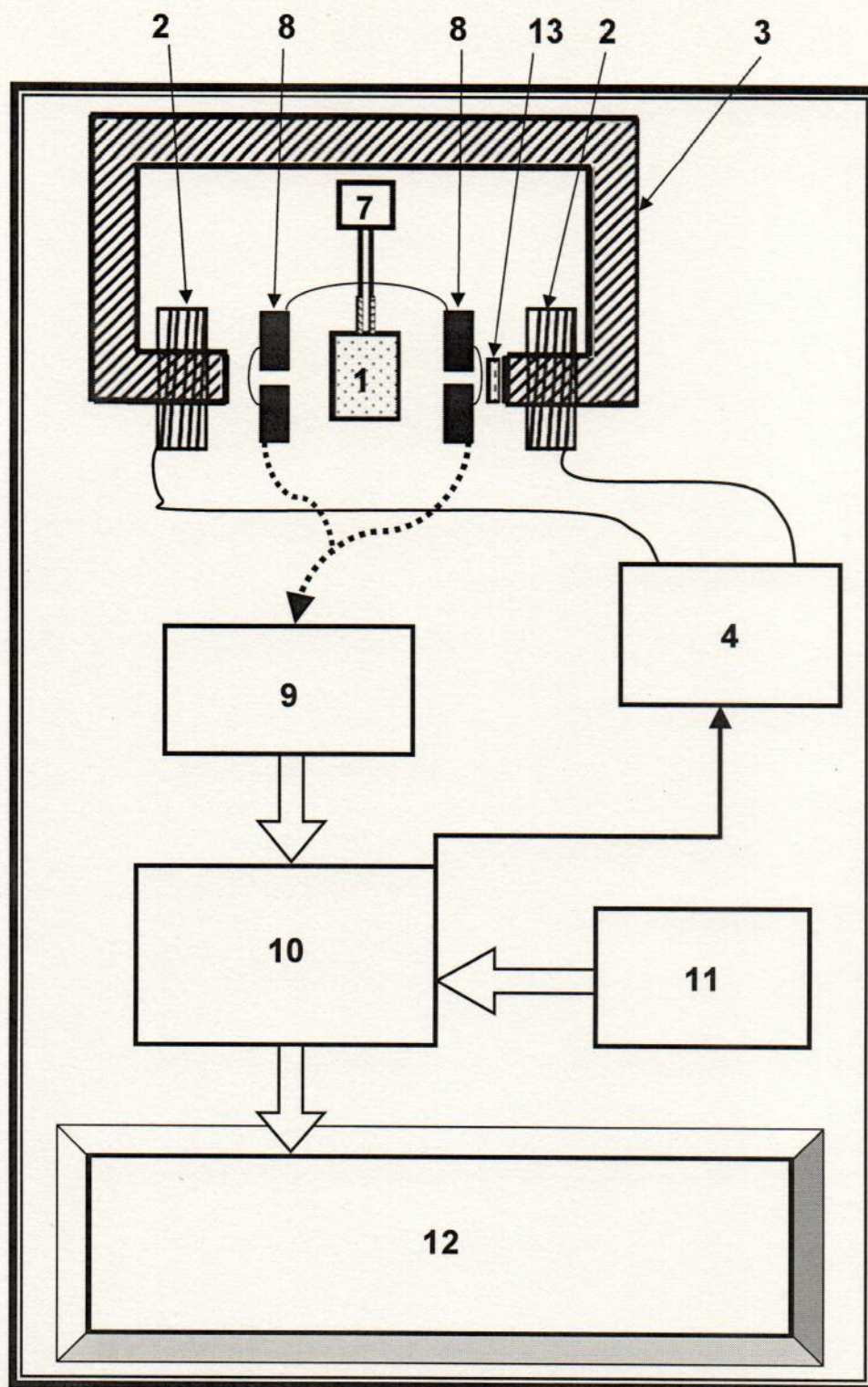


Figura 6

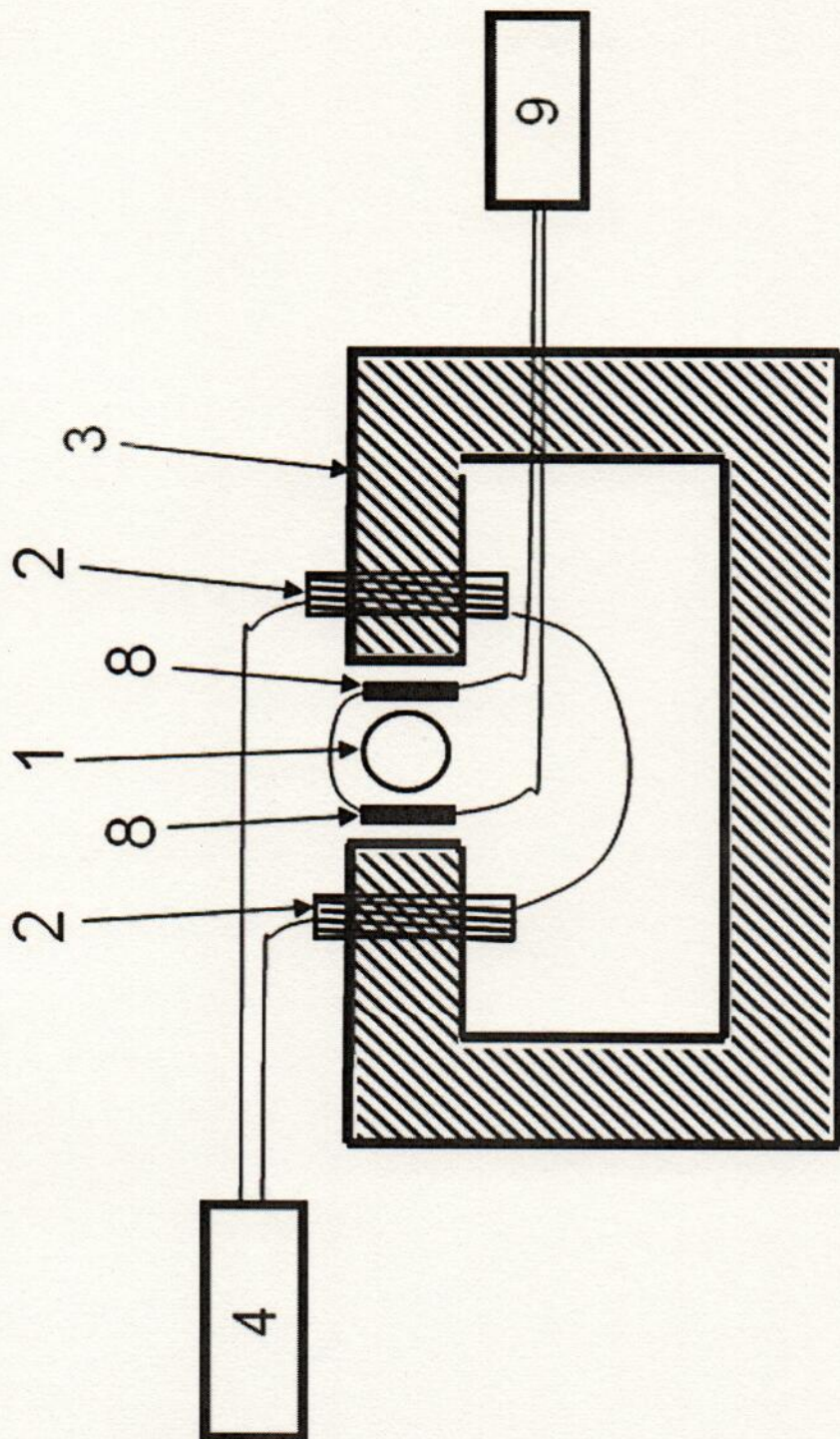


Figura 7

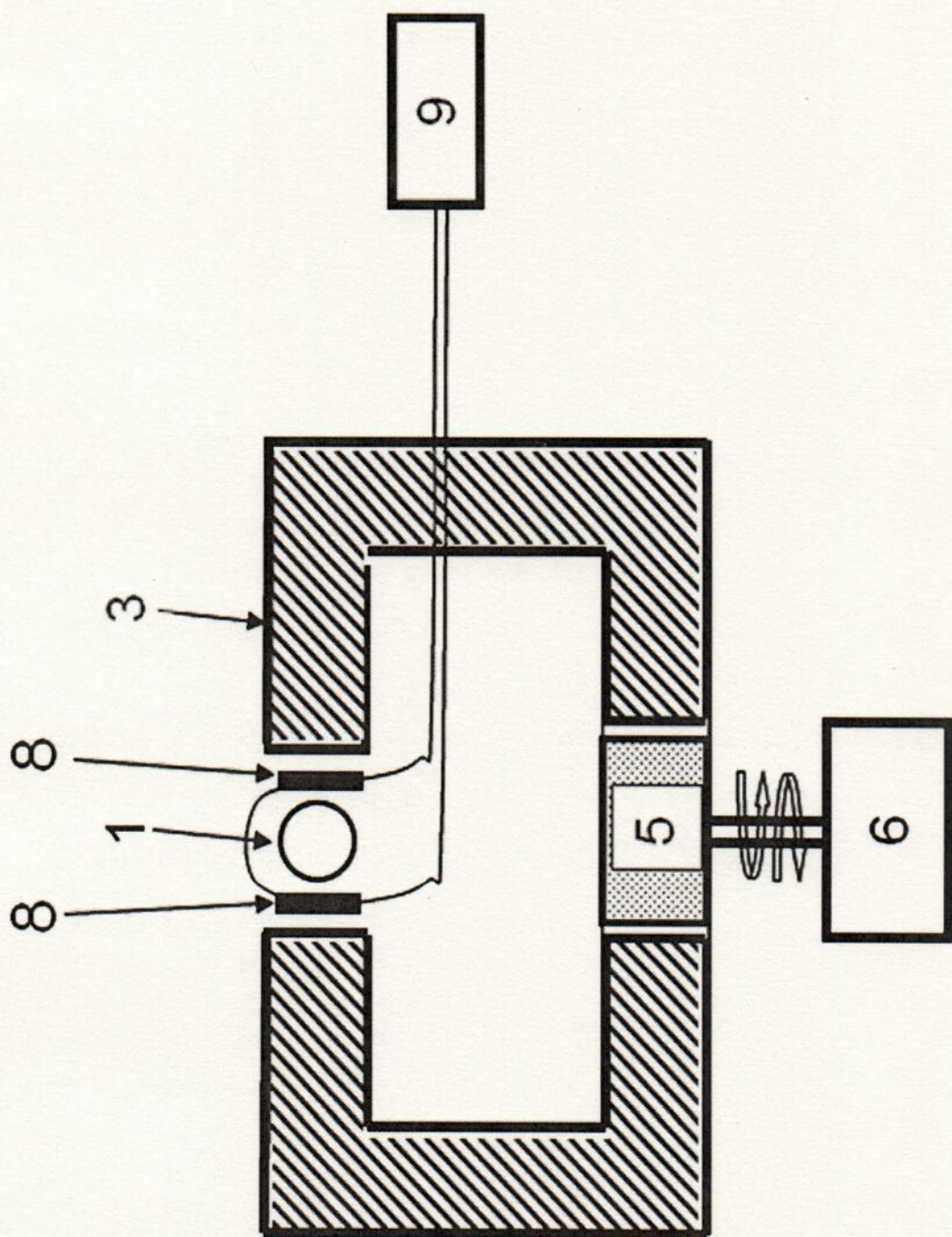


Figura 8

Tabla I

Muestra	Masa de la muestra	M_S	Masa de partículas de magnetita a partir del valor de M_S	Masa de partículas de magnetita adicionada
	g	emu	μg	μg
M1	0.1486	1.92×10^{-4}	5.9	5.8
M2	0.1247	1.04×10^{-3}	31.7	28.9
Hígado	0.1142	9.53×10^{-4}	29.1	---
Pulmón	0.0391	3.05×10^{-3}	92.4	---

Figura 9

RESUMEN

La invención se refiere a un método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, que consiste en la determinación de la cantidad de nanopartículas magnéticas (utilizadas en distintas aplicaciones en medicina) embebidas en tejidos de animales por medio de mediciones de magnetización.

El método se basa en la medición de la magnetización en función del campo magnético aplicado de la muestra de tejido embebida con las nanopartículas obteniendo su magnetización de saturación. Esta magnitud es comparada con la magnetización de saturación de las mismas nanopartículas que se encuentran dentro del tejido para la determinación de la cantidad absoluta de nanopartículas magnéticas en el tejido animal de estudio.

El método comprende la preparación de las muestras para el portamuestras, la medición de la magnetización vs. campo magnético aplicado de una cantidad conocida de nanopartículas magnéticas (sea en estado sólido o en suspensión líquida), la determinación de su magnetización de saturación (medición de calibración), la determinación de la magnetización de saturación de la muestra a estudiar por medio de mediciones de magnetización y el cálculo de la masa de nanopartículas en los tejidos a partir de los datos medidos (magnetización de saturación de la muestra y de calibración de las nanopartículas).

Otro objeto de la invención es el equipo para desarrollar el método de cuantificación de nanopartículas magnéticas, que consiste en una unidad de excitación y detección de la señal magnética de la muestra, conectada a una unidad de control y el procesamiento de los datos obtenidos.

PRIMER REIVINDICACIÓN

Habiendo descrito y determinado la naturaleza y alcance de la presente invención, y la manera que la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara lo que se reivindica como invención y de propiedad exclusiva:

1) Método de cuantificación de la absorción de nanopartículas magnéticas en tejidos animales, donde se realiza una etapa previa de calibración del método, donde se obtiene la magnetización de saturación normalizada de las nanopartículas, caracterizado porque se realizan las siguientes etapas:

- a. Determinación de la magnetización de la muestra biológica: se mide la magnetización de la muestra de tejido a analizar, previamente embebida con las nanopartículas.
- b. Cuantificación: se calcula la cantidad de nanopartículas en la muestra, a partir del cociente entre la magnetización de saturación de la muestra, determinada en la etapa a, y la magnetización de saturación normalizada de las nanopartículas, obtenida de dicha etapa previa de calibración del método.