

Redação selecionada e publicada pela Olimpíada de Química SP-2016

Autor: Athur Alexandre Falkembach Andreis

Série: primeira (2015) do Ensino Médio

Profa.: Leandro Holanda Fernandes Lima; Marcela Gaeta de Andrade

Colégio: Albert Sabin

Cidade: São Paulo

Quimioluminescência: a luz no fim do túnel

A quimioluminescência ou quimioluminescência e a bioluminescência não são descobertas recentes. Seus primeiros observadores foram Aristóteles (384-322 a.C) que constatou a emissão de luz por fungos e bactérias, e Teofrasto, seu discípulo, que descreveu o carbúnculo, mineral luminoso de brilho intenso quando exposto à luz solar. São descritas como reações químicas nas quais moléculas excitadas emitem ondas eletromagnéticas entre 380 e 740 nanômetros (nm), capazes de sensibilizar o olho humano, que as interpreta por meio de cores.

A quebra de ligações energéticas é responsável pelo evento observado e o agente de tal interação pode ser uma enzima ou um reagente químico. O modo de transferência de energia pode ser diverso e classifica a reação em quimioluminescente direta, indireta ou luminescente. Caso o processo seja fotooxidativo, em que uma molécula é oxidada pela luz e outra é reduzida, ela será indireta. Se for emitido um fóton, ela será fluorescente e direta. Reações não luminescentes ocorrem na conversão interna, isto é, dissipação em forma de energia cinética de movimento molecular, ou por transmissão de energia de ressonância ou éxciton, que consiste na transferência de excitação para moléculas com propriedades semelhantes, as quais dissipam o acúmulo energético em forma de calor.

Um dos primeiros usos da quimioluminescência a favor do ser humano data de 1928, quando o alemão H.O. Albrecht sintetizou o luminol ($C_8H_7N_3O_2$), o qual é empregado até hoje para detecção de manchas de sangue. Durante a Segunda Guerra Mundial, os soldados japoneses desfrutavam de um crustáceo habitual no Japão, cujo pó chamado Cypirina ($C_{22}H_{27}N_7O$) era misturado com saliva para gerar uma luz azulada que facilitava a leitura de mapas sem que fossem notados por inimigos. Depois, teve seu uso no isolamento da luciferase ($C_{11}H_8O_3N_2S_2$). Mais contemporaneamente, em 1963, Chandross descobriu a emissão na reação de cloreto de oxalila ($C_2O_2Cl_2$) com peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que originariam as pesquisas sobre o sistema peróxi-oxalato, uma das reações mais eficientes da quimioluminescência.

No presente, o princípio do peróxi-oxalato se tornou indispensável e provou-se útil inclusive para a confecção de diagnósticos: na odontologia, para identificar lesões bucais por meio de ácido acético ($C_2H_4O_2$); na oftalmologia para encontrar irregularidades na córnea de pacientes, com o corante fluoresceína ($C_{20}H_{12}O_5$); na medicina laboratorial em que um processo eletroquimioluminescente determina a ausência ou presença de anticorpos anti-HIV (do inglês Human Immunodeficiency

Virus); ou até em diagnósticos de animais, podendo envolver dosagem de tiroxina total (T4) sérica, para ser aplicado em gatos com o objetivo de evitar uma doença ordinária entre esses animais, o hipertireodismo.

O método apresenta diversas vantagens, dentre as quais sobressaem o exame rápido, a opção de ensaios com elevada sensibilidade e a redução no tempo de análise, uma vez que várias amostras podem ser analisadas e moléculas diversas podem ser quantificadas de uma vez só. Além disso, a luminescência, se comparada ao seu “concorrente” de dosagem de hormônios e outras substâncias semelhantes, o radioimunoensaio é ainda mais prestigiada. Isso porque dispensa o manejo de elementos radioativos; é completamente automatizada, eliminando imperfeições que compreendam quantidades, propicie segurança, maior prazo para validar e rapidez na obtenção de dados.

O diagnóstico da odontologia é efetuado com o ácido acético (CH_3COOH), um reagente colocado sobre a mucosa bucal para ocasionar pouca desidratação no citoplasma celular e retirar a camada glicoprotéica das células de lesão. Assim, o núcleo delas fica proporcionalmente maior do que o citoplasma de uma célula normal e elas têm seu padrão de refração de luz modificado, o que torna a ferida mais evidente. Após a adição do ácido, o utensílio armazenador dos compostos da reação quimioluminescente é agitado, originando a luz à qual a mucosa e a lesão serão expostas, o que destaca a lesão sem agredir o tecido saudável. O frasco que causa a luminescência também segue o sistema peróxi-oxalato e dispõe de um compartimento vítreo menor preenchido com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de um mais externo, de plástico, no qual há ácido acetilsalicílico ($\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$).

A detecção de anticorpos anti HIV-1 ou HIV-2 deve ser feita a partir da eletroquimioluminescência. Para isso, preparam-se misturas de certos anticorpos (anti-p24), antígenos recombinantes específicos do HIV, peptídeos sintéticos do vírus, alguns marcados com vitamina B₇ ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$) e outros com complexo do elemento Rutênio (Ru), seguido da adição de micropartículas. Os anticorpos serão unidos aos antígenos. A interação entre biotina (B₇) e estreptavidina (material das menores partículas) provoca a ligação entre eles, que será extraída para uma célula de leitura e fixada em um eletrodo. Ao se emitir um impulso elétrico no eletrodo, produz-se uma luz de certa intensidade, medida por um fotomultiplicador, que indica a existência de anticorpos anti-HIV ou de antígeno p24, uma proteína contida no nucleocapsídeo do vírus do HIV.

Convém citar a relevância do assunto para ensaios imunológicos magnéticos, caracterizados pela presença de micropartículas magnéticas encobertas por antígenos recombinantes dos HIVs ou anticorpos anti-p24. Os antígenos p24, nestes ensaios, se ligarão à micropartícula, isto é, aos anticorpos presos nela; e os anticorpos se conectarão nos antígenos recombinantes, que envolvem outra micropartícula. Após esta etapa, mais proteínas defensoras anti-p24, antígenos de HIV-1 e aminoácidos ligados serão inseridos, marcados com acridina ($\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}$) e postos para reagir com o hidróxido de sódio (NaOH) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), produzindo luz. Novamente, a intensidade luminosa designará a presença ou ausência de anticorpos no meio.

Além desses dois outros métodos, pode ser realizado um ensaio imunoenzimático de micropartículas. Nele, partículas de látex são encobertas com antígenos do vírus, ligam-se com anticorpos e são presas a uma matriz de vidro. Inserem-se, então, anticorpos antibiotina, que se ligam à vitamina dos antígenos e que contêm uma enzima. Na adição de um substrato específico, ocorre a reação com a enzima, gerando produtos fluorescentes, os quais podem ser analisados e quantificados por uma máquina para identificação dos anticorpos.

Já no campo dos diagnósticos veterinários, o princípio do peróxi-oxalato é útil para detectar a presença de hormônios como a tiroxina (T4 ou $C_{15}H_{11}I_4NO_4$), imprescindíveis para o crescimento sadio de todos os animais. Semelhantes ao HIV anti-tiroxinas são colocadas no meio com tiroxinas para formar um complexo, o qual receberá energia elétrica e a converterá em luminosa. Assim tornou-se possível medir a quantidade do composto em gatos saudáveis e enfermos, por meio da proporção de fótons captados, que varia entre, 0,44 μ g de tiroxina por dL e 4,6 μ g por dL, de modo que gatos que apresentam quantidades de 3,5 e 4,6 μ g por dL contraíram ou já apresentam sintomas da doença.

Salvo as aplicações já aludidas, na maioria das vezes em seres vivos, a ciência permite delimitar impurezas em substâncias não-vivas, como detectar impurezas na água, na gama de nanomols ou picomois, de cátions de cobre II (Cu^{2+}) por meio de sistemas portáteis. A amostra é conduzida em um fluxo com a água desionizada para reagir com uma solução de (H_2O_2) com solução indicadora, que pode variar e é homogeneizada por um reator. Ambos são impulsionados por bombas peristálticas e a luz é gerada caso exista cobre na água, com limite de detecção de $8,26 \times 10^{-11} M$ (mol/L).

O cloro livre, ou seja, as espécies elementares dele, como cloro (Cl_2) ou íon hipoclorito (CIO), também pode ser identificado na água. Para tal, a amostra suspeita deve ser bombeada e aquecida em um tubo em serpentina por via de água quente e a solução indicadora, principalmente rodamina 6G ($C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$), que deve ser injetada no fluxo após o aquecimento. O indicador corante oxidará com o hipoclorito e liberará meio. O sistema ocorre por fluxo invertido, já que o reagente causador da quimioluminescência é injetado no transportador, que é a amostra.

A luminescência constitui mais uma das complexidades da natureza. Por contribuir para a evidenciação de lesões, anticorpos, hormônios e até de substâncias indesejadas em alguns meios, essa ciência é capaz de substituir técnicas mais perigosas, custosas e demoradas, provando, portanto, a necessidade de aprofundamentos para promoção do trabalho automatizado, seguro e não danoso à natureza.

Seu avanço exponencial nas últimas décadas explica o sucesso nas metodologias que a envolvem, bem como explicações satisfatórias à inquietações humanas. A quimioluminescência ajudou a entender causas exatas de doenças, permitindo que fossem evitadas ou curadas por injeção ou retirada de hormônios. Outros compostos auxiliam na criminalística e até rendem para empresas de marketing por serem “brilhantes”.

O que se iniciou com animais e materiais de brilho desconhecido e lendas criadas para explicar sua existência, como as de Plínio, “o Velho”, que pensou na possibilidade de as pedras terem roubado a luz dos astros, hoje constitui um importante recurso para pesquisas. Assim como alguns insetos são atraídos por lamparinas, que, à distância parecem pequenas, porém ao se aproximar delas, são vastas, um observador curioso, pensando nas luzinhas emitidas por insetos minúsculos, não imaginava a grandeza que sua pequena descoberta traria para a humanidade.

Referências Bibliográficas

- Aula do Programa Telelab:
- http://teletab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22167/moodle/pluginfile.php/22167/mod_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%205pdf
- Dias, José R. M. *Desenvolvimento e otimização de sistemas quimioluminescente de detecção de espécies química em águas*.p.60-133. Dissertação (Mestrado em Química)-Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto, 2001. Disponível em:
- http://repositorio-aberto.up.pt/bistream/10216/9870/3/4442_TM_01_P.pdf
- GARCIA, Benito Del C. *História da Luminescência*. Madri, Espanha. (2012). Disponível em : <http://revistas.pusp.br/index.php/article/view13367/1097>
- LISBOA, Mariáh. *Uso do Azul de Toluidina, seguido de Quimioluminescência como método auxiliar de diagnóstico clínico de lesões bucais cancerizáveis*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia_ - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis 2011. Disponível em: <http://tcc.bu.ufsc/Odonto299154.pdf>
- MENDONÇA, Kátia R. P. *Uma Revisão de Literatura sobre o Hipotireoidismo em FelisCatusdomesticus*. Belo Horizonte 2012. Disponível em: <http://www.qualitas.com.br/uploads/documentos/0%20Hipotireoidismo.pdf>.
- MIGUEL, Armando. *Análises Clínicas: Quimioluminescência*. (Dezembro, 2012). Disponível em: <http://www.medicinageriatrica.com.br/2012/12/13/analise-clinica-quimioluminescencia>.
- NERY, Ana L.P.; FERNANDEZ, Carmen. *Fluorescência e Estrutura Atômica: Experimentos Simples para abordar o tema*. Quim. Nova, n.19, mai.2003
- NEUMANN, Miguel G.; QUINA, Frank H. A fotoquímica no Brasil. Quim. Nova, São Paulo, v. 25, supl. 1,p 32-38, mi. 2002. Disponível em: http://www.sielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000800007&Ing=en&nrm=iso
- OLIVEIRA, Jefferson P..*Quimioluminescência*. (Outubro, 2013). Disponível em: <http://odontoup.com.br/quimioluminescencia/>
- REBOUÇAS, Mirian F.. *Imonoquimioluminescencia-3540384*
- Santos, Roberto M. S.; SANTOS, Miza F.; Costa, Maria de F. D..*Quimioluminescência e Biologia* (1993). Disponível em : [http://submission.quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/1993/vol16n3v16_n3%20\(6\).pdf](http://submission.quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/1993/vol16n3v16_n3%20(6).pdf)
- SILVA, Cláudia Helena Novato da; PARANHOS, Helena de Freitas Oliveira; ITO, Isabel Yoko. Evidenciadores de biofilme em prótese total: avaliação clínica e antimicrobina. *Pesqui. Odontol. Bras.*, São Paulo, v. 16,n. 3.p. 270-275, Sept. 2002. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517

- VIDOTTO, Ananza; Queiroz, Paulo R.. Técnica de Quimioluminescência em manchas de sangue: O uso de luminol para sua identificação. (Novembro, 2013). Disponível em:
<http://pt.slideshare.net/Arnoldhy/quimioluminescencia>.
- VIEIRA, Aline B.;CASTRO, Maria C. N.; FREIRE, Isabel M.A.; COELHO, Maysa J.; ALENCAR, Nayro X.; SOARES, Ana M. B.. Dosagem de tiroxina total (T4) sérica pelo método de quimioluminescência em gatos clinicamente sadios. (2010), v.47, n 3. Disponível em:
<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26860>.
- VOET, Donald; VOET, Judith G.; Pratt, Charlotte W. *Fundamentos da Bioquímica: A vida em nível molecular*, São Paulo: Artmed, 2014.p. 628-629