

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA
CATARINA – CÂMPUS FLORIANÓPOLIS
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE SAÚDE E SERVIÇOS – DASS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM RADIOLOGIA**

EDUARDO SANT'ANA RICARDO

**NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE
FERRO COMO POTENCIAIS AGENTES DE CONTRASTES
NEGATIVO EM IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

FLORIANÓPOLIS, 2019.

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLÓGICA DE SANTA
CATARINA – CÂMPUS FLORIANÓPOLIS
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE SAÚDE E SERVIÇOS – DASS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM RADIOLOGIA**

EDUARDO SANT'ANA RICARDO

**NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE
FERRO COMO POTENCIAIS AGENTES DE CONTRASTES
NEGATIVO EM IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Instituto Federal de
Educação, Ciências e Tecnologia de
Santa Catarina como parte dos requisitos
para aprovação no Curso Superior de
Tecnologia em Radiologia.

Orientador: Dr. Alexandre D. Zottis

Coorientadora: Dra. Tula Beck Bisol

FLORIANÓPOLIS, 2019.

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor.

Ricardo, Eduardo Sant'Ana

Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro como potenciais agentes de contraste negativo em imagens de ressonância magnética / Eduardo Sant'Ana Ricardo; orientação de Alexandre D'Agostini Zottis; coorientação de Tula Beck Bisol. - Florianópolis, SC, 2019. 73 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Florianópolis. CST em Radiologia. Departamento Acadêmico de Saúde e Serviços. Inclui Referências.

1. Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro.
2. Imagem ressonância magnética. 3. Agentes de Contraste. I. Zottis, Alexandre D'Agostini. II. Bisol, Tula Beck. III. Instituto Federal de Santa Catarina. Departamento Acadêmico de Saúde e Serviços. IV. Título.

NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE ÓXIDO DE FERRO COMO POTENCIAIS AGENTES DE CONTRASTES NEGATIVO EM IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

EDUARDO SANT'ANA RICARDO

Este trabalho foi julgado adequado para obtenção do título de tecnólogo em radiologia e aprovado na sua forma final pela banca examinadora do Curso Superior de Tecnologia em Radiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina.

Florianópolis, 27 de junho, 2019.

Banca Examinadora:



Alexandre D'Agostini Zottis, Dr.



Tula Beck Bisol, Dra.



Jeovandro Maria Beltrame, Dr.



Marcos Renan Flores Rodrigues, Ms.

*Dedico este trabalho à minha esposa, Alair,
Que foi, é e sempre será o grande
amor da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar agradecendo ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia, por todo o suporte e estrutura que foram destinadas à minha formação profissional e acadêmica.

Ao professor Alexandre Dagostini Zottis, meu orientador, que desde cedo me orienta nesse projeto, pela orientação, apoio, confiança e empenho dedicado à elaboração deste trabalho. Seu conhecimento, muito contribuiu na minha formação.

Aos membros do grupo Nanotec, principalmente a professora Tula Beck Bisol por sua coorientação. Sem a participação de vocês, meu projeto não teria acontecido.

Agradeço a todos os professores que me proporcionaram todo o conhecimento necessário para minha formação pessoal. A palavra mestre, nunca fará justiça à dedicação de vocês, os quais, sem nominar, terão os meus eternos agradecimentos.

Aos amigos Edson Conod, Leonardo Cristtopher da Silveira e Salomão Francisco do Nascimento, que muitas vezes me ajudaram com a rotina sem fim de trabalhos, apresentações, provas. Hoje vejo como crescemos academicamente juntos. Verdade seja dita, vocês foram os melhores companheiros de trabalhos e contribuíram muito na minha formação. A amizade de vocês foi uma das melhores coisas que conquistei nessa jornada. Contem comigo sempre.

Aos meus filhos, Arthur e Lucas e minha esposa Alair. Meus filhos por serem crianças maravilhosas, e que, quase sempre, me deram tranquilidade para poder estudar. O pai ama vocês. Minha esposa por ser minha fonte de inspiração e admiração. Eu sempre vou ser grato por ter você na minha vida. Sempre.

Para terminar, a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte da minha formação acadêmica e profissional, o meu muito obrigado.

*“Eu, um universo de átomos,
um átomo no universo.”*
Richard Feynman

RESUMO

O uso de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) nas mais diversas áreas de conhecimento tem mostrado como essa tecnologia é promissora. Na obtenção de imagens por ressonância magnética (IRM) o uso das nanopartículas pode ser uma alternativa ao uso de agentes de contrastes a base de Gadolínio, já que estes podem causar fibrose nefrogênica. Este trabalho apresenta os resultados das IRM de três amostras de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro apontado para seu uso biomédico como meio de contraste negativo em exames clínicos de ressonância magnética. As análises envolvendo as IRM nas ponderações T1 e T2 revelaram o efeito de redução do sinal nas amostras. Em A01 a redução foi de 10,13%, 34,49%, 56,85%, 71,09%, para A02 de 31,58%, 55,1%, 75,05% e 85,5% para C01 as reduções foram de 12,79%, 26,84%, 46,61%, 74,85% para as concentrações de Ferro de 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm e com tempo de eco de 60 milissegundos. A taxa de relaxividade transversal r_2 foram elevadas quando comparadas com outras amostras da literatura ($r_{2-C01} = 217,84 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $r_{2-A01} = 198,21 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $r_{2-A02} = 303,9119 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Foi possível concluir que o uso das SPIONs pode ser um meio viável como meio de agente de contraste na obtenção clínica de IRM de forma que pode atender aos objetivos propostos pelo presente trabalho.

Palavras-chave: Nanopartículas Superparamagnéticas de Óxido de Ferro; IRM; Agentes de Contraste;

ABSTRACT

The use of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) in the most diverse areas of knowledge has shown how this technology is promising. In magnetic resonance imaging (MRI) the use of nanoparticles may be an alternative to the use of gadolinium-based contrast agents, since they may cause nephrogenic fibrosis. This work presents the results of MRI of three samples of superparamagnetic nanoparticles of iron oxide aimed at its biomedical use as a negative contrast medium in clinical MRI scans. Analyzes involving MRIs in T1 and T2 weights revealed the effect of signal reduction in the samples. In A01 the reduction was 10.13%, 34.49%, 56.85%, 71.09%, for A02 of 31.58%, 55.1%, 75.05% and 85.5% for C01 the reductions were 12.79%, 26.84%, 46.61%, 74.85% for Iron concentrations of 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm and with an echo time of 60 milliseconds. The rate of transverse relaxivity r_2 was high when compared to other samples in the literature ($r_2\text{-C01} = 217.84 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ $r_2\text{-A01} = 198.21 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ $R_2\text{-A02} = 303, 9119 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$). It was possible to conclude that the use of SPIONs may be a viable medium as a means of contrast agent in the clinical acquisition of MRI so that it can meet the objectives proposed by the present study.

Keywords: Superparamagnetic Nanoparticles of Iron Oxide; IRM; Contrast Agents;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comportamento do próton como um dipolo magnético.....	21
Figura 2 - Orientações do próton sob um campo magnético externo.....	22
Figura 3 - Movimento de precessão e vetor de Magnetização Resultante M_0	22
Figura 4 - Movimento de precessão e coordenadas do campo.....	23
Figura 5 - Vetor magnetização no eixo xy.	24
Figura 6 - Retorno do vetor magnetização para eixo longitudinal.	25
Figura 7 - Relaxação em T_1	25
Figura 8 - Relaxação em T_2	26
Figura 9 - Representação do Gradiente do Campo Magnético.	28
Figura 10 - Sequência de pulso Spin Eco	29
Figura 11 - Influência de TE e TR em uma sequência de pulso Spin Eco.	30
Figura 12 - Exemplos de estrutura linear (a) e cíclica (b) de quelatos de Gadolínio.	32
Figura 13 - Microscopia de luz das células C6 não marcadas (A) e células C6 marcadas com SPIONs (B)	37
Figura 14 - Imagens de RM ponderadas em T_2 mostrando o efeito das SPIONs como marcadores (setas amarelas).	38
Figura 15 - Esquema representativo do alinhamento dos momentos magnéticos: (A) superparamagnéticos, (B) ferromagnéticos, (C) antiferromagnéticos e (D) ferrimagnéticos.....	40
Figura 16 - Ilustração da curva de histerese magnética.....	41
Figura 17 - Curva de histerese magnética; a) Material duro. b) Material mole	42
Figura 18 - Curvas de magnetização associados a (a) curva de histerese presente em materiais ferromagnéticos e (b) processos reversíveis presentes em SPIONs com H_c nulo	43
<i>Figura 19 - Sala de comando e ressonância Sigma Excite 1.5 T – General Electric.</i>	45
Figura 20 - Representação das SPIONs recobertas por Pheomelanina (C02) e Polietilenoglicol (A01 e A02).....	46
Figura 21 - Amostras A01 - PEG (direita) e C01 – Pheo (esquerda).....	47

Figura 22 - Espectro de Infravermelho das NPMs A01 (azul) e A02 (verde) e do PEG pura.....	48
Figura 23 - Espectro de Infravermelho da NPM C01 (rosa) e pheomelanina pura (azul).	49
Figura 24 - Etapas da pesquisa.....	50
Figura 25 - Distribuição das amostras C01 e A02 para IRM.	52
Figura 26 - Distribuição das amostras A01 para IRM.....	53
Figura 27 - Leitura da intensidade de pixel das imagens geradas por RM.....	55
Figura 28 – Resultado da medida de magnetização por amostra vibrante (VSM) ..	59
Figura 29 - Intensidade de Sinal versus TE por concentração de Ferro da Amostra A01	61
Figura 30 - Intensidade do sinal de IRM ponderada em T2 versus concentração de ferro.....	62
Figura 31 - Percentual da redução do sinal em relação ao controle para sequências com ponderação T2 (A01).....	62
Figura 32 - Percentual da redução do sinal em relação ao controle para sequências com ponderação T2 (C01)	63
Figura 33 - Gráfico da Relaxividade Transversal (r_2).....	64
Figura 34 - Gráfico da Relaxividade Longitudinal (r_1)	65
Figura 35 – Comparativo da intensidade de sinal do agente de contraste gadolínio e a amostra A01 para sequências variando Tempo de Eco de 10 até 120 ms para 50ppm.	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de ω para alguns elementos químicos.....	21
Tabela 2 - Tempos de relaxação T1 e T2 para alguns tecidos do corpo humano...27	
Tabela 3 - Agentes de contraste contendo gadolínio liberados pelo FDA.....	33
Tabela 4 –Propriedades físicas de algumas nanopartículas utilizadas como agente de contraste.....	36
Tabela 5 - Métodos de preparo de nanopartículas.....	39
Tabela 6 - Descrição das principais diferenças das classes dos materiais	40
<i>Tabela 7 - Resultados DLS</i>	<i>49</i>
Tabela 8 - Resultados EDS.....	50
Tabela 9 - Organização dos dados coletados da amostra C01.....	57
Tabela 10 - Organização dos dados coletados da amostra A02.....	57
Tabela 11 - Organização dos dados coletados da amostra A01.....	57
Tabela 12 - Valores da taxa de relaxação da amostra A01.....	60
Tabela 13 - Valores da taxa de relaxividade da amostra A01.	60
Tabela 14 - Comparativo da relaxividade r2 e r1 de nanopartículas com recobrimentos diferentes.	65

LISTA DE SIGLAS

AC – Agentes de Contraste

DLS – Espalhamento de Luz Dinâmico

DP – Densidade de Prótons

EDS – Microanálise por energia dispersiva

FDA – Food and Drug Administration

FNS – Fibrose Nefrogênica Sistêmica

Gd³⁺ – Íon Gadolínio

IFSC – Instituto Federal de Santa Catarina

IRM – Imagem Ressonância Magnética

M_z – Magnetização Longitudinal

M_{xy} – Magnetização Transversal

MN – Medicina Nuclear

NPM – Nanopartículas Magnéticas

RF – Radiofrequência

RM – Ressonância Magnética

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SPIONs – Nanopartículas Superparamagnéticas de Óxido de Ferro

TC – Tomografia Computadorizada

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

US – Ultrassonografia

VME – Vetor De Magnetização Efetiva

VSM – Magnetização Por Amostra Vibrante

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Justificativa	17
1.2 Problema da pesquisa	17
1.3 Objetivo geral	17
1.4 Objetivos específicos	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Modalidades de radiodiagnóstico envolvendo imagens	19
2.1.1 Imagem por ressonância magnética.....	20
2.1.1.1 <i>A física por trás da imagem por ressonância magnética</i>	20
2.2 Agentes de contraste em IRM	30
2.3 Fibrose nefrogênica sistêmica	33
2.4 Nanopartículas como agentes de contraste em IRM	34
2.4.1 Nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas.	36
2.4.1.1 <i>Síntese de Nanopartículas superparamagnéticas</i>	38
2.4.1.2 <i>Comportamento Magnético das SPIONs</i>	39
2.4.1.3 <i>Curva de Histerese Magnética</i>	41
3 METODOLOGIA	44
3.1 Local da pesquisa	44
3.1.1 Equipamentos utilizados	45
3.2 Participantes da pesquisa	46
3.2.1 Síntese da Pheomelanina.....	47
3.2.2 Espectrometria por Infravermelho	47
3.2.3 Espalhamento de luz Dinamico (DLS)	49
3.2.4 Microanálise por Energia Dispersiva (EDS).....	50
3.3 Etapas da pesquisa	50
3.3.1 Pesquisa bibliográfica	51

3.3.2 IRM das nanopartículas.....	51
3.3.2.1 <i>Preparação do imageamento com phantom</i>	51
3.3.2.2 <i>Testes das amostras</i>	52
3.3.3 Coleta dos dados	54
3.3.4 Análise de dados	55
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1 Efeito de redução do sinal T2	58
4.2 Relaxividade longitudinal (r_1) e transversal (r_2).	64
4.3 Comparações com gadolínio	66
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
5.1 Sugestões para trabalhos futuros	67
REFERÊNCIAS.....	69

1. INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos com ressonância magnética nuclear (RMN) datam do início do século XX, década de 20, com os estudos de Otto Stern e Walther Gerlach que realizaram a experiência de Stern-Gerlach, determinando assim o momento magnético do átomo de prata e, em 1933, Stern, juntamente com físico Otto Robert Frisch, mediu o momento magnético do próton utilizando a mesma técnica (BASSALO, 2018). Em 1937, Isidor Isaac Rabi apresentou um trabalho onde aperfeiçoava a técnica de Stern-Gerlach para obter medidas mais precisas dos momentos magnéticos nucleares (SILVA, 2004), publicando o que viria a ser a primeira observação de RMN. Em 1946, os físicos Edward Mills Purcell e Félix Bloch publicaram trabalhos independentes, onde anunciavam o efeito de ressonância magnética em sólidos (Bloch) e líquidos (Purcell) (HAGE, 2009; BASSALO, 2018).

Foi Raymond Vahan Damadian, em 1971, que observou que tecidos cancerosos de ratos apresentavam características diferentes dos tecidos normais quando submetidos a exames de ressonância magnética, sugerindo que tais diferenças poderiam ser usadas para o diagnóstico do câncer (HAGE, 2009). Paul Christian Lauterbur, em 1972, usou um campo magnético com comportamento espacial conhecido para “codificar” o sinal de ressonância magnética (SILVA, 2004), e Peter Mansfield, em 1976, produziu a primeira imagem de uma parte do corpo humano: um dedo (HAGE, 2009; BASSALO, 2018).

Apesar de todas essas descobertas, não era interessante, para época, o uso da RMN como método de diagnóstico. Só houve um maior interesse em imageamento, envolvendo ressonância magnética, com a melhoria tecnológica dos equipamentos (aperfeiçoamento das bobinas geradoras do campo, bobinas de radiofrequência, bobinas gradientes, refrigeração etc.), métodos para diminuição de tempo de aquisição de sinal (BASSALO, 2018), e melhoria da computação. Hoje, o exame de Ressonância Magnética é uma das técnicas de diagnóstico por imagem mais sofisticados existentes (THOMAS, 2013), considerado um método não invasivo, uma vez que não faz uso de radiação ionizante (CARVALHO, 2014).

Muitas das técnicas para obtenção de Imagens por Ressonância Magnéticas (IRM) fazem uso de agentes de contraste (AC) para realçar as lesões

facilitando a localização, caracterização e diagnóstico. Os AC utilizados para IRM são, na sua maioria, à base de quelatos do íon gadolínio (Gd^{3+}), sendo o efeito de redução do tempo de relaxamento T1 a sua característica mais importante como agente de contraste em imagens de ressonância magnética (ELIAS JUNIOR, 2008).

Descobriu-se, em 2004, os primeiros casos de pacientes com deficiência renal crônica que ao realizarem exames de IRM foram a óbito devido a fibrose nefrogênica sistêmica (FNS), causada pela toxicidade do íon Gd^{3+} quando desprendido dos seus quelatos (LEITE, 2007), o que forçou a Food and Drug Administration (FDA) emitir um aviso, alertando quanto ao uso de agentes de contraste de gadolínio.

A toxicidade do Gd^{3+} fez com que novos estudos surgissem com o intuito de substituir esses ACs por outras substâncias mais eficientes e menos tóxicas ao paciente. Alguns estudos em biomedicina apontam para o uso de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) como agentes de contraste para imagem por ressonância magnética (IRM) e transporte de fármacos para células tumorais (SIVAKUMAR, 2013). Essas nanopartículas são revestidas com polímeros para serem estabilizadas e, posteriormente, funcionalizadas para determinados fins.

O presente trabalho fará uso de IRM obtidas em uma máquina de ressonância magnética, modelo Sigma Excite 1.5 T – General Electric, de SPIONs produzidas pelo grupo de pesquisa NanoTec, liderado pelo professor Alexandre Dagostini Zottis e colaboradores. Estas imagens serão comparadas através de uma análise quantitativa da redução de sinal de relaxação T2 das amostras.

O objetivo de estudo deste trabalho foi determinar a taxa de relaxividade transversal ($1/T_2$) das nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro a fim de observar se tais amostras podem ser utilizadas como agentes de contrastes negativos em exames de imagem por ressonância magnética para serem úteis futuramente como sondas marcadoras de tumores malignos.

1.1 Justificativa

O íon Gd^{3+} , quando liberado no organismo, pode causar as mais diversas reações, desde náuseas, vômitos, urticárias, cefaleia, irritação no local de aplicação, ardor e sensação de frio. Em gestantes, já foi comprovada a passagem de ACs pela placenta e para o leite em mulheres em lactação (ELIAS JUNIOR, 2008). Raros casos de laringoespasmos e choque anafiláticos podem ocorrer, e, em paciente nefropatas, a o risco de desenvolverem fibrose nefrogênica sistêmica (FNS), podendo causar o óbito do paciente (KARAM, 2008; LEITE, 2010). Nesses casos, o uso de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro como agentes de contrastes em substituição aos ACs à base de Gd^{3+} seria uma alternativa interessante. Além disso, diferentemente dos ACs de gadolínio, que têm como efeito a redução do sinal em T1, as SPIONs usadas como agentes de contraste reduzem o tempo de relaxação em T2, agindo como um agente de contraste negativo (ZOTTIS, 2015) e possuem tanto natureza menos tóxica como propriedades magnéticas superiores às do Gadolínio (AHMAD et al., 2015). Por essas razões, um estudo da eficiência das nanopartículas de óxido de ferro tem grande importância científica.

1.2 Problema da pesquisa

Diante dos riscos que pacientes expostos a AC formados por quelatos de Gd^{3+} estão expostos e da importância do uso das SPIONs como AC na detecção precoce de diversos tipos de câncer, questiona-se: qual é a eficiência das SPIONs recobertas por diferentes polímeros em relação ao efeito de redução do sinal de relaxação T2 apresentado?

1.3 Objetivo geral

Calcular a taxa de relaxividade transversal em IRM das SPIONs recobertas por polímeros e biopolímeros a fim de estudar o seu efeito no realce como contraste negativo.

1.4 Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral, foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- a) efetuar medidas das taxas de relaxação transversal ($1/T_2$) das amostras estudadas;
- b) esboçar curva de intensidade de sinal em função dos valores de tempo de eco (TE);
- c) demonstrar efeito de redução do sinal no tempo de relaxação transversal (T_2) em função da concentração de ferro;
- d) comparar o efeito de redução do sinal do T_2 das amostras com o agente de contraste Gd-DTPA;
- e) calcular taxa de relaxividade transversal (r_2) em função da concentração das amostras.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo serão abordados conceitos referentes a exames de radiodiagnóstico, a IRM, ao uso de agentes de contraste, ao risco do uso desses agentes de contraste por pacientes nefropatas, ao conceito de nanopartículas superparamagnéticas e à importância do uso de nanopartículas de óxido de ferro como agentes de contraste negativo, com o intuito de compilar referências teóricas que subsidiem as análises aqui pretendidas e fundamentar teoricamente a presente pesquisa.

2.1 Modalidades de radiodiagnóstico envolvendo imagens

No geral, os exames de radiodiagnóstico utilizam técnicas diferentes para obtenção das imagens do corpo humano. Diagnósticos feitos com tomografia computadorizada (TC), radiografias e medicina nuclear (MN) se utilizam de radiações ionizantes para formação das imagens, cada qual com sua técnica e princípios de aquisição da imagem. Exames de ressonância magnética e ultrassonografia não se utilizam de radiações ionizantes, mas de outros princípios físicos para geração das imagens diagnósticas. Além disso, custo do exame, exposição à radiação ionizante, reações alérgicas aos agentes de contraste intravenoso, capacidade do método de diferenciar lesões benignas das malignas interferem na escolha do exame a ser realizado (RIBEIRO, 2004).

Dependendo do tipo de patologia que se está investigando, faz-se necessário um exame específico. Em alguns casos, o diagnóstico só é possível com complemento de outro exame, como é o caso de cânceres de mama. O exame de mamografia, que é o exame padrão-ouro (BRASIL, 2018) no diagnóstico do câncer de mama, às vezes é inconclusivo, sendo necessária uma ultrassonografia ou, em alguns casos, uma ressonância magnética para um diagnóstico preciso desta patologia.

2.1.1 Imagem por ressonância magnética

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma propriedade física exibida por núcleos de determinados elementos químicos, que, quando submetidos a um campo magnético extremamente forte, podem ser excitados por sinais de rádio em uma determinada frequência, indo para um nível energia mais alto, e liberam essa energia, quando deixam de ser excitados, em forma de sinal de rádio retornando para o nível de energia inicial. (HAGE, 2009; MAZZOLA, 2009)

O exame de IRM derivou dos estudos de ressonância magnética nuclear (RMN), que é uma ferramenta desenvolvida para identificação de estruturas químicas de moléculas orgânicas. Com essa técnica é possível obter informações sobre a estrutura de diversos compostos que possuam spins $+1/2$ e $-1/2$, como ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F e ^{31}P (PAVIA, 2010).

Hoje, o exame de Ressonância Magnética é uma das técnicas de diagnóstico por imagem mais sofisticados existentes, por conta da sua excelente resolução espacial, contraste entre tecidos moles apresentados nas imagens (THOMAS, 2013) e por ser considerado um método não invasivo, uma vez que não faz uso de radiação ionizante (CARVALHO, 2014).

2.1.1.1 A física por trás da imagem por ressonância magnética

A IRM, como já mencionado, é um exame de imagem, que se utiliza dos fenômenos físicos da RM para obtenção de imagens do corpo humano, tendo como objetivo o diagnóstico médico. O processo de aquisição de imagem por ressonância magnética fundamenta-se em três estágios: o alinhamento, a excitação e a detecção de radiofrequência. (AMARO JUNIOR, 2001).

No primeiro estágio é onde ocorre o alinhamento dos momentos magnéticos do núcleo do átomo de hidrogênio presentes no corpo humano, principalmente os ligados a moléculas de água presentes no organismo, através da exposição a um forte campo magnético B_0 .

O alinhamento poderia ocorrer com outros átomos, mas, no exame médico de IRM, utiliza-se do alinhamento dos átomos de hidrogênio por ele ser o mais abundante no corpo humano; o sinal gerado por tecidos saudáveis se diferencia do sinal de tecidos lesionados. O átomo de hidrogênio possui o maior momento magnético (Tabela 1), pois seu núcleo é formado apenas por um próton, sendo o mais sensível dentre os 118 elementos químicos (MAAR, 2012) existentes aos efeitos do campo magnético B_0 .

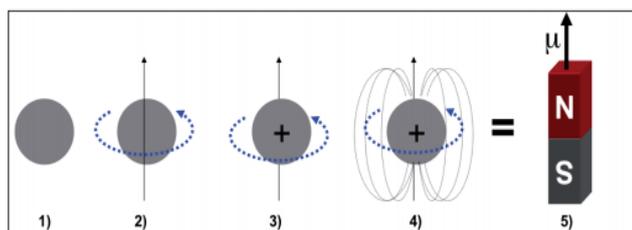
Tabela 1 - Valores de ω para alguns elementos químicos.

Elemento	Nº de prótons	Nº de nêutrons	Spin	ω (MHz, 1,5 T)
^1H	1	0	1/2	63,864
^{17}C	6	6	0	0
^{14}N	7	7	1	4,613
^{16}O	8	8	0	0
^{19}F	9	10	1/2	60,081
^{23}Na	11	12	3/2	16,893
^{31}P	15	16	1/2	25,898

Fonte: RABELO, (2018).

Prótons são partículas carregadas positivamente, sendo uma de suas propriedades o momento angular ou spin (HAGE, 2009). O spin (I) representa o movimento de rotação do próton em torno de seu eixo e pode assumir os valores de $+1/2$ ou $-1/2$ e, sendo uma carga em movimento, também possui um momento magnético, comportando-se como um dipolo magnético, que pode ser representado por um vetor, conforme Figura 1.

Figura 1 - Comportamento do próton como um dipolo magnético

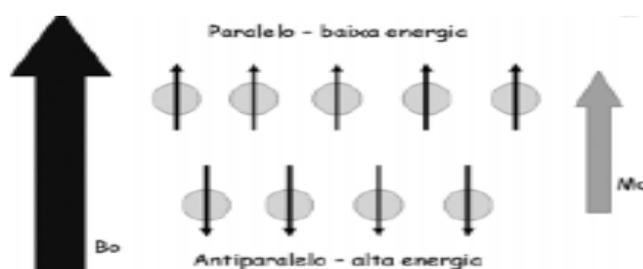


Fonte: MAZZOLA, (2009).

Em temperatura ambiente e sobre o campo magnético da Terra (3×10^{-5} tesla), esses prótons estão dispostos aleatoriamente no tecido e a soma de todos os seus vetores de momento magnético é nula. Quando o paciente é exposto ao campo magnético B^0 (1,5 tesla) das máquinas de RM, os prótons dos átomos de hidrogênio se alinham paralelamente e antiparalelamente ao campo aplicado, sendo essas orientações representações dos valores de spin.

O próton de hidrogênio ($I=1/2$) possui duas possíveis orientações, que correspondem aos níveis de baixa e alta energia, conforme Figura 2.

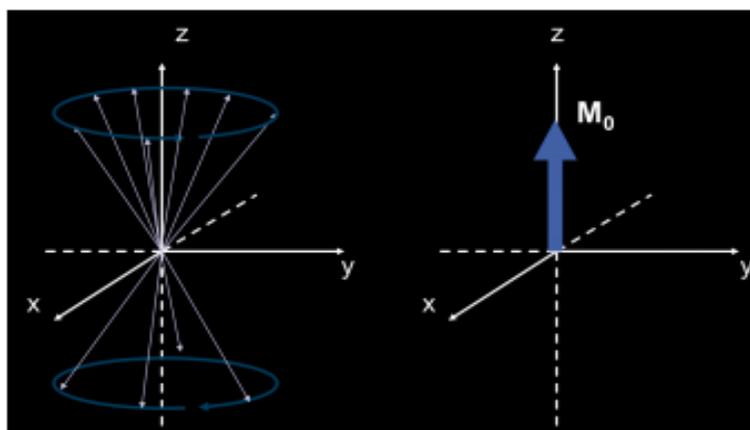
Figura 2 - Orientações do próton sob um campo magnético externo



Fonte: HAGE, (2009).

Segundo Mazzola (2009), sob um campo magnético de 1,5 T e para temperatura média do tecido humano, a diferença entre os spins que ocupam o estado de menor energia e o de maior energia é de aproximadamente 5 para 1 milhão. Bastam esses cinco spins para gerar um vetor de Magnetização Resultante M_0 (Figura 3).

Figura 3 - Movimento de precessão e vetor de Magnetização Resultante M_0



Fonte: MAZZOLA, 2009.

Além do alinhamento, sob a ação do campo magnético B_0 , os prótons do átomo de hidrogênio precessam a uma frequência ω determinada pela equação de Larmor (Equação1).

$$\omega = \gamma B_0 \quad (1)$$

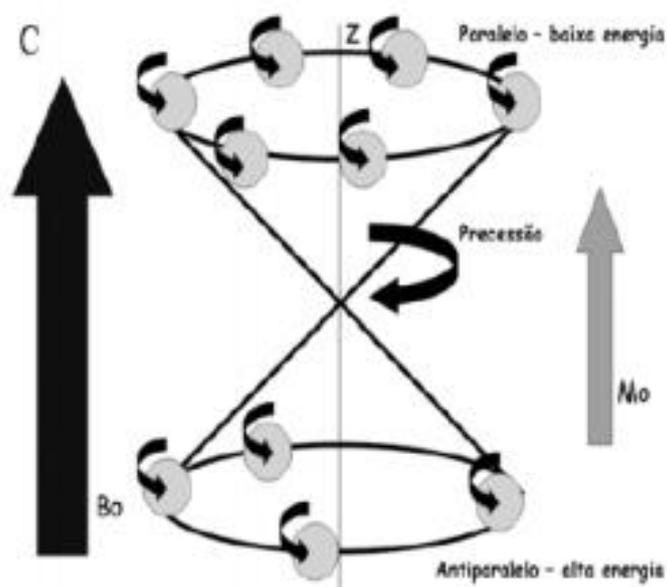
Onde:

γ = razão giromagnética; para o hidrogênio, a razão giromagnética é de 42,58 MHz/T

B_0 = valor do campo magnético externo aplicado.

A Figura 4 representa o momento magnético de um próton de hidrogênio em seu movimento de precessão em torno do eixo z, longitudinal, que é a direção de aplicação do campo magnético externo.

Figura 4 - Movimento de precessão e coordenadas do campo.



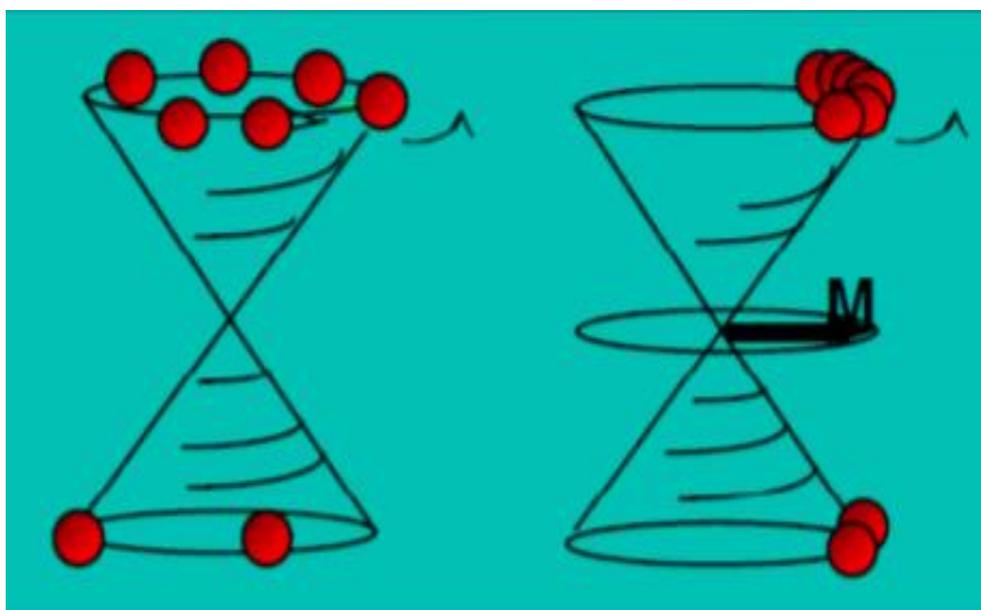
Fonte: HAGE, (2009).

Embora todos os momentos magnéticos individuais precessem em torno do campo B_0 a uma frequência igual, não existe coerência de fase entre eles (MAZZOLA, 2009) e com isso não existe componente de magnetização no eixo xy, transversal. Com o alinhamento ao campo magnético B_0 e o movimento de precessão do próton de hidrogênio, é acontecer a segunda etapa do processo, a excitação.

O segundo estágio, excitação dos prótons, ocorre por meio de pulsos de radiofrequência na frequência de Lârmor dos prótons alinhados pelo campo magnético B_0 . Conforme a equação 1, um campo de 1,5 teslas fará os prótons do núcleo de hidrogênio, com razão giromagnética de 42,58 MHz/T, precessarem em uma frequência de 63,87 MHz. Essa será a frequência de transmissão de radiofrequência. É com esse pulso, na mesma frequência de precessão, que ocorre o fenômeno de ressonância.

Antes do pulso, os prótons do átomo de hidrogênio, que estão precessando, têm seu vetor de magnetização paralelos ao eixo longitudinal. Com a aplicação do sinal, parte dos prótons que estão precessando paralelamente, fora de fase, em torno do eixo longitudinal e em nível menos energético, passam a precessar antiparalelamente, em nível mais energético e em fase. Desta forma, surge um vetor magnetização no eixo xy, conforme mostrado na Figura 5.

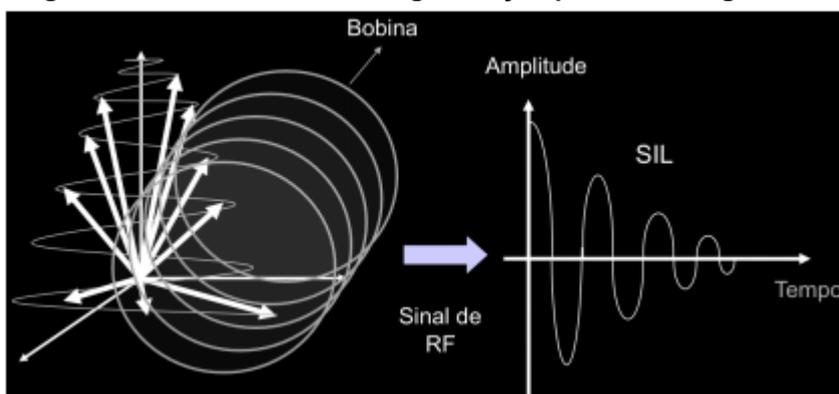
Figura 5 - Vetor magnetização no eixo xy.



Fonte: RABELO, (2018).

Com o fim da aplicação do pulso de RF, há o início a última etapa para formação da IRM. Após o pulso, o sinal decai gradualmente como resultado do processo de retorno do vetor magnetização para o eixo longitudinal. O formato do sinal induzido é o de uma onda seno amortecida, como mostra a Figura 6.

Figura 6 - Retorno do vetor magnetização para eixo longitudinal.



Fonte: MAZZOLA, (2009).

Após a aplicação do pulso, duas medidas de tempo podem ser aferidas pelo equipamento. O tempo necessário para a magnetização longitudinal recuperar 63% do seu valor inicial é chamado de T1 (Figura 7), enquanto o tempo necessário para que a magnetização no plano transversal atinja 37% do seu valor inicial é chamado de T2 (Figura 8). As Equações 2 e 3 descrevem os gráficos de T1 e T2, respectivamente.

$$M_z = M_L = M_0 \cdot (1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad (2)$$

Onde:

M_z = magnetização no eixo z;

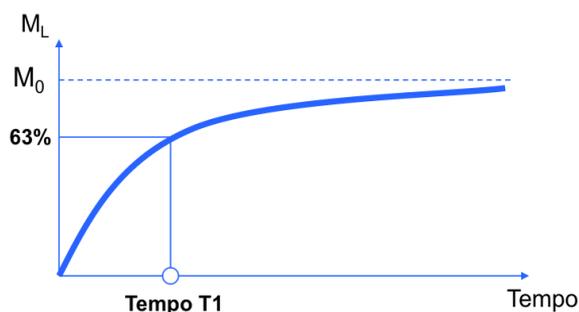
M_L = magnetização longitudinal;

M_0 = magnetização inicial;

t = tempo;

T1 = constante de relaxação longitudinal.

Figura 7 - Relaxação em T1.



Fonte: MAZZOLA, (2009).

$$M_{xz} = M_T = M_0 \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (3)$$

Onde:

M_{xy} = magnetização no plano xy;

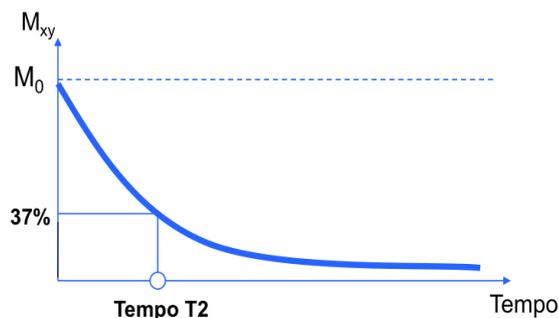
M_T = magnetização transversal;

M_0 = magnetização inicial; e

t = tempo; e

T_2 = tempo de relação transversal.

Figura 8 - Relaxação em T2.



Fonte: MAZZOLA, (2009).

Como o campo gerado B_0 pode sofrer variações locais que causam defasagem dos momentos magnéticos e como isso aumenta ainda mais a relaxação no plano transversal e, conseqüentemente, acelera o decaimento do tempo de relaxação transversal (T_2), foi definida uma terceira constante de tempo, chamada de T_2^* (ou T_2 Estrela), que é definida pela Equação 4, onde $T_{2inomag}$ descreve o decaimento adicional causado pelas inhomogeneidades locais do campo B_0 .

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2inomag}} \quad (4)$$

Os valores de T_1 e T_2 vão depender das propriedades de cada tecido, e podemos diferenciar os diversos tecidos do corpo como gordura, músculo, substância branca, substância cinzenta e liquor através das diferenças nos tempos de relaxação associados a quantidade prótons de hidrogênio da água nos tecidos.

De modo que a consequência desses diferentes tempos de relaxação (transversal e longitudinal) influenciam nos diferentes gradientes de contrastes (cinza claro, cinza escuro, mais escuro) entre os tecidos nas imagens. A Tabela 2 apresenta os tempos de relaxação T1 e T2 de alguns tecidos, expostos a um campo B_0 de 1,5 T.

Tabela 2 - Tempos de relaxação T1 e T2 para alguns tecidos do corpo humano.

Tecido	T1 (ms)	T2 (ms)
Substância Branca	790	90
Substância Cinzenta	920	100
Liquor	4000	2000
Parênquima Hepático	490	40
Músculo	870	50
Gordura	260	80

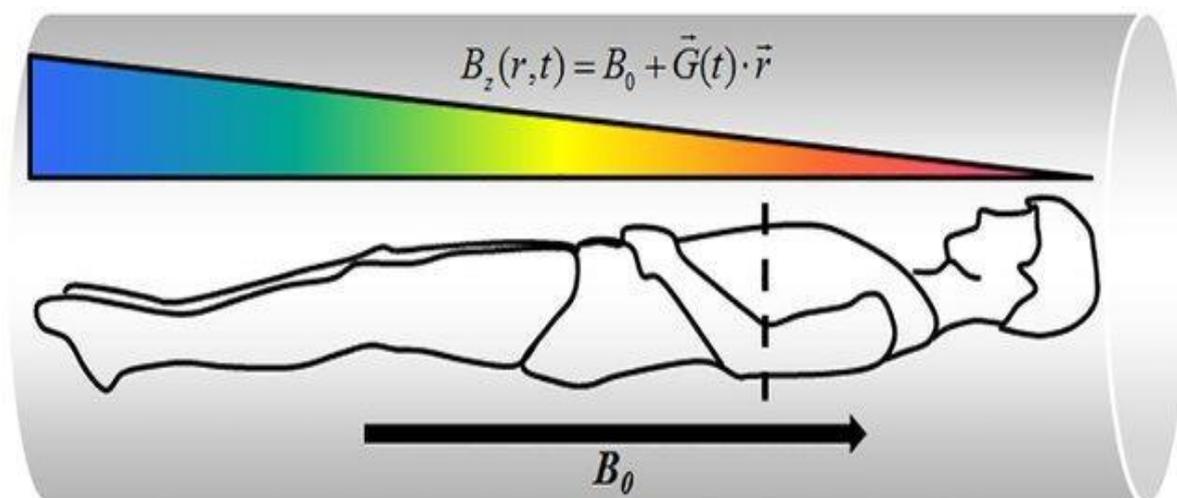
Fonte: REBELO, (2018).

Em IRM, como visto anteriormente e observado na Tabela 2, nota-se que o contraste gerado nas imagens com ponderação em T1 (hipersinal ou elevado brilho em tecidos de baixo valor de T1) é favorecido, os tecidos com tempo T1 longo aparecerão com hipossinal e tecidos com T1 curto com hipersinal. Já na ponderação T2, tecidos com tempo T2 longo apresentam hipersinal, enquanto tecidos com T2 curto, hipossinal.

Para a formação da imagem é necessária a codificação espacial do sinal através do uso de gradientes de campo magnético (Figura 9). Paul Lauterbur, em 1973, propôs o uso de gradientes de campo magnético, tornando possível a codificação espacial do sinal gerado pelo equipamento de RM (HAGE, 2009; BASSALO, 2018; VIEIRA, 2014).

Desta forma, foi possível estabelecer coordenadas para cada parte do tecido examinado, uma vez que, para cada valor do gradiente do campo, os prótons precessam com uma frequência proporcional ao valor do campo magnético, conforme estabelece a equação de Larmor.

Figura 9 - Representação do Gradiente do Campo Magnético.



Fonte: VIEIRA, (2014).

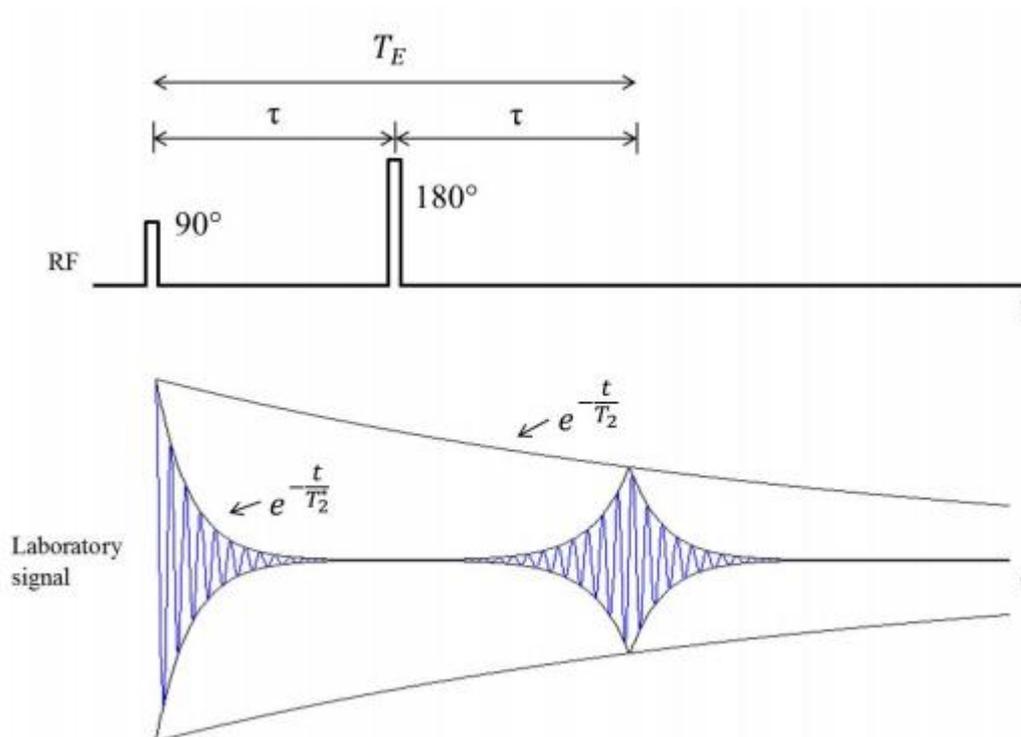
Segundo Mazzola (2009), o acionamento de um gradiente de campo também altera a fase dos spins e é proporcional ao tempo que o gradiente fica ligado e à amplitude do gradiente. Com as informações de fase e frequência podem-se obter informações espaciais do sinal.

Essas informações são armazenadas no computador e o mesmo aplica uma transformada de Fourier, que é uma ferramenta analítica para decompor uma função de onda contínua em suas componentes oscilatórias e amplitudes. Com isso, é possível determinar as amplitudes e frequências do sinal e, conseqüentemente, as posições dos sinais de RM coletadas pelo equipamento, que são transformadas em imagens de ressonância magnética.

Além do gradiente de campo, também são utilizadas sequências de pulsos para aquisição do sinal gerado pelos prótons do átomo de hidrogênio. Uma das sequências utilizadas para a leitura do sinal de relaxação é a sequência SPIN ECO, formada por um pulso de RF de 90° e seguido por um segundo pulso de 180° .

Na Figura 10 fica explícito o surgimento do Tempo de Eco (TE) e o Tempo de Repetição (TR). Enquanto o TE determina o quanto de relaxação no plano longitudinal estará presente no eco, o TR estabelece o quanto de magnetização longitudinal se recuperou entre sucessivos pulsos de 90° .

Figura 10 - Sequência de pulso Spin Eco



Fonte: REBELO, (2018).

Quando analisamos a forma da Equação 5, da sequência de pulso Spin-Eco, que representa a intensidade do sinal, podemos entender melhor a capacidade de contraste gerado em um exame de IRM.

$$I = N \cdot f(v) \cdot \left(e^{-\left(\frac{TE}{T_2}\right)} \right) \cdot \left(1 - e^{-\left(\frac{TR}{T_1}\right)} \right) \quad (5)$$

Onde:

I = Intensidade de imagem (brilho do pixel);

N = Densidade de prótons do tecido;

f(v) = função de fluxo do tecido;

TE = Tempo de Eco;

TR = Tempo de Repetição;

T1 = Tempo de relaxação longitudinal do tecido;

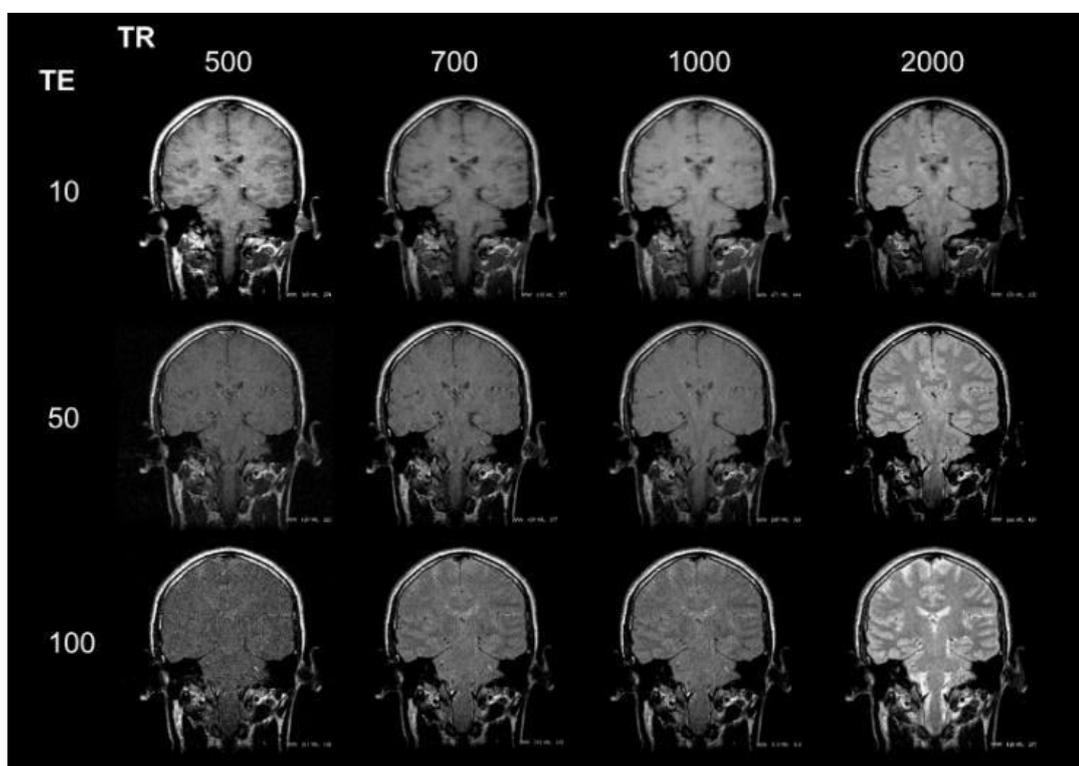
T2 = Tempo de relaxação transversal.

O termo N da equação, densidade de prótons do tecido, interfere proporcionalmente na intensidade de imagem. Tecidos com baixa densidade de prótons têm um baixo sinal tanto nas ponderações T1 como nas T2, como ar,

calcificações, tecido ósseo. Tais materiais e tecidos apresentaram hipossinal na imagem.

Para tecidos com maior densidade de prótons, os termos TR e TE podem ser regulados pelo operador, para aumentar ou diminuir as ponderações T1, T2 nas imagens. Imagens com TR e TE curtos tem ponderação T1; imagens com TR longo e TE curto apresentam uma densidade de prótons dos tecidos; já imagens com TR e TE longo têm uma ponderação T2. Na Figura 11 é possível verificar os diferentes contrastes alterando-se apenas os parâmetros TR e TE.

Figura 11 - Influência de TE e TR em uma sequência de pulso Spin Eco.



Fonte: MAZZOLA, (2009).

2.2 Agentes de contraste em IRM

O contraste que a IRM oferece tem origem em diversos fatores, tais como: o caso da intensidade do campo magnético estacionário e gradientes aplicados, a homogeneidade do campo magnético, o tipo de bobina utilizada, parâmetros para obtenção de imagens como o número de acumulação de sinal, espessura,

localização e orientação de cortes, sequências de pulsos de RF e seus parâmetros TE e TR, os tempos de relaxação T1 e T2, a diferença de densidade de prótons nos tecidos. É possível combinar sequências de pulso que, combinadas a diferentes tempos de eco, entregam imagens com diferentes ponderações e diferentes contrastes, dependendo do que se deseja ver.

Como nem sempre é possível determinar a melhor sequência para realce do tecido desejado ou determinar a patologia, já que várias patologias apresentam IRM semelhantes a tecidos adjacentes, faz-se uso de agentes de contraste (PEREIRA, 2016). Agentes de contraste são substâncias que, quando aplicadas no organismo, interferem nos tempos de relaxação dos prótons do átomo de hidrogênio das moléculas de água do tecido, alterando o contraste da imagem gerada diferenciando o tecido saudável do tecido doente. Pereira (2016) lembra que “os agentes de contraste não geram sinais, apenas modificam a amplitude dos sinais gerados pelos prótons de hidrogênio quando estes estão na presença de um campo magnético”.

Os ACs em uso clínico na IRM, na sua maioria, são baseados em quelatos de gadolínio (STEPHEN, 2011) e são utilizados desde o final da década de 1980. O Gd³⁺ é um material paramagnético. Seus dipolos magnéticos tendem a se alinhar com o campo magnético externo, possuem pequena suscetibilidade magnética positiva e se orientam aleatoriamente na ausência de um campo externo (THOREK, 2006).

A eficiência do AC é quantificada pela relaxividade longitudinal (r_1) ou transversal (e é uma medida do aumento da taxa de relaxação da água presente no organismo, que pode ser calculado pela Equação 6, onde T_i pode ser T1 ou T2, T_{i0} o tempo de relaxação antes da aplicação do AC, C quantifica a concentração do AC em mil molar e r_i a relaxividade nos tempos T1 ou T2 (LAURENT et al, 2008)).

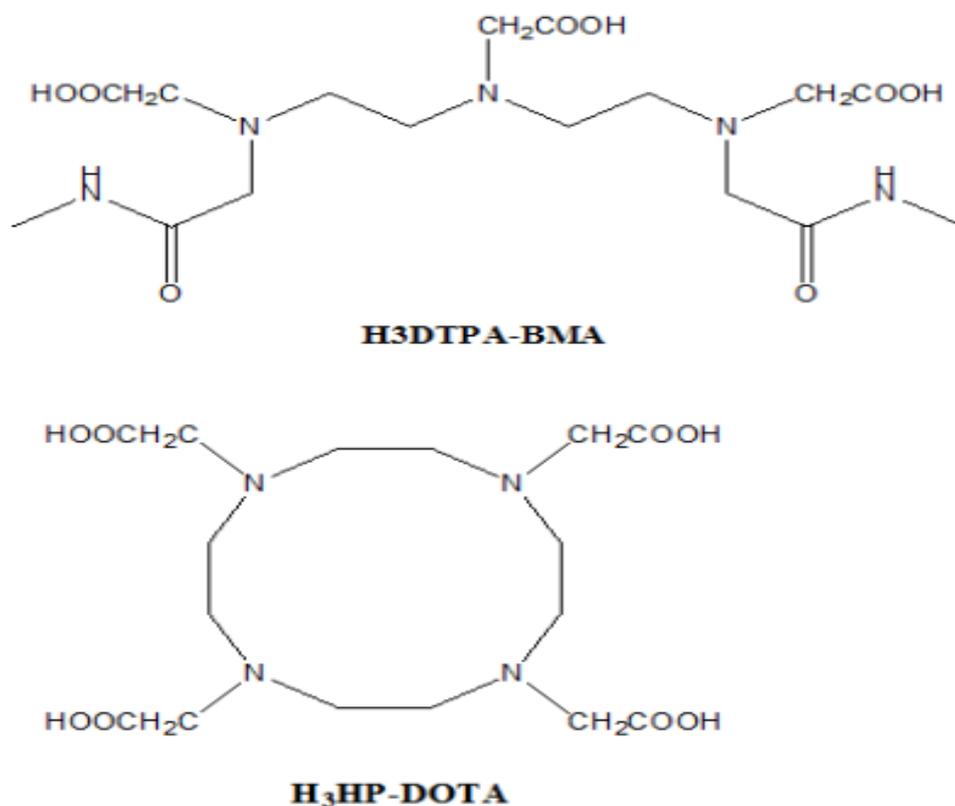
$$\frac{1}{T_i} = \frac{1}{T_{i0}} + r_i C \quad (6)$$

Os ACs que contêm gadolínio são classificados como agentes de contraste positivo, pois a interação entre o momento magnético do Gd³⁺ e o momento magnético das moléculas de água faz com que o tempo de relaxação T1 diminua. (PEREIRA, 2016).

Mesmo que sejam os meios de contraste mais utilizados, quelatos de Gd^{3+} possuem desvantagens, como dificuldade de detecção de patologia pela qualidade da imagem obtida, curta duração na corrente sanguínea (o que dificulta exames mais demorados), toxicidade quando livre no organismo, bem como possivelmente causar Fibrose Nefrogênica Sistêmica (FNS) em pacientes nefropatas.

Características como estrutura molecular (linear ou cíclica) (Figura 12), carga (iônica e não iônica), osmolaridade, viscosidade e estabilidade molecular, (GONÇALVES, 2017) interferem diretamente na segurança do uso desses ACs de Gd^{3+} , sendo a estabilidade molecular um fator de alta ponderação, uma vez que agentes de contraste com baixa estabilidade molecular podem quebrar e reduzir o quelato a seus componentes formadores, liberando o ion Gd^{3+} diretamente no organismo. (ELIAS JUNIOR, 2008).

Figura 12 - Exemplos de estrutura linear (a) e cíclica (b) de quelatos de Gadolínio.



Fonte: GONÇALVES, (2017).

A Tabela 3 apresenta alguns agentes de contraste liberados pela FDA e suas propriedades.

Tabela 3 - Agentes de contraste contendo gadolínio liberados pelo FDA

Meios de Contraste	Nome Genéticos	Gd-DTPA (0,5 mol/l)	Gd-HP-DO3A (0,5 mol/l)	Gd-DTPA-BMA (0,5 mol/l)	Gd-BOPTA† (0,5 mol/l)	Gd-DO3A-butrol (1.0 mol/l)	Gd-DTPA-BMEA – (0,5 mol/l)
	Comercial	Magnevist	ProHance	Omniscan	MultiHance	Gadovist®	OptiMARK®
Características	Estrutura molecular	Linear	Cíclica	Linear	Linear	Cíclica	Linear
	Carga	iônica	não-iônica	não-iônica	iônica	não-iônica	não-iônica
	Const. estabilidade termodinâmica (log Keq)	22,1	23,8	16,9	22,6	21,8	16,6
	Const. de estabilidade condicional em pH 7,4	18,1	17,1	14,9	18,4	–	15
	Osmolalidade (osm/kg)	1,96	0,63	0,65	1,97	1,6	1,11
	Viscosidade (mPa.s 37 °C)	2,9	1,3	1,4	5,3	4,96	2
	Relaxamento T1 (l/mmol/s) 0,47 T, plasma	4,9	4,6	4,8	9,7	5,6	-
	Quelato metal (mg/ml)	469	279,3	287	334	604,7	330,9
	Excesso de quelante (mg/ml)	0,4	0,23	12	–	–	28,4

Fonte: ELIAS JUNIOR, (2008).

2.3 Fibrose nefrogênica sistêmica

A FNS é uma condição rara, que ocorre apenas em pacientes com disfunção renal, caracterizada pela formação de tecido conectivo na pele, tornando-a espessada e endurecida. Pode causar fibrose de músculo esquelético,

articulações, fígado, pulmão e coração (MUNDIM et al, 2009) e não possui cura (LEITE, 2010). A doença é progressiva e pode ser fatal em 5% dos casos (ELIAS JUNIOR, 2008).

A doença foi identificada em 15 pacientes, em 1997 (LEITE, 2010), todos portadores de insuficiência renal crônica, sendo que esta condição, juntamente com o uso de altas doses de AC a base de Gd^{3+} , foi fundamental para o surgimento da doença, uma vez que não há relatos de portadores de FNS que não sejam nefropatas ou que sejam nefropatas e não tenham feito uso de AC de Gd^{3+} . Como lembram Mundim et al. (2009), “ocorre em pacientes com insuficiência renal, principalmente pacientes em hemodiálise, diálise peritoneal, receptores de transplante renal, com doença renal crônica avançada ou insuficiência renal aguda sem necessidade de diálise”, mas que tenham feitos exames de IRM com uso de AC.

Pacientes com insuficiência renal não conseguem excretar o gadolínio livre na corrente sanguínea e acabam acumulando-o no organismo, inclusive nos ossos em desenvolvimento, o que pode ser um problema grave para crianças e fetos em desenvolvimento.

Para esses pacientes, o uso do Gadolínio deve ser restrito, e outros exames de imagem podem ser uma opção, como, por exemplo, a tomografia computadorizada, que pode ser feita com contrastes iodados. Apesar de apresentarem risco, os efeitos dos contrastes iodados, utilizados na tomografia, geralmente, são reversíveis, diferentemente da FNS causada pelos contrastes de Gadolínio (KARAM, 2008) utilizados nos exames de ressonância.

2.4 Nanopartículas como agentes de contraste em IRM

O termo nanotecnologia foi utilizado pela primeira vez numa conferência de engenharia em 1974, pelo professor Norio Taniguchi, que expôs seu trabalho sobre semicondutores por uso de práticas de deposição de filmes e feixes de energia com controle nanométrico das dimensões (MARQUES, 2014).

Hoje, a nanotecnologia é um novo campo de pesquisa, investigação e elaboração de materiais industriais com base na criação de estruturas moleculares

que mostram avanços que prometem afetar muitas áreas da ciência e da tecnologia (MOLINS, 2008).

Nanopartículas magnéticas podem ser definidas como sistemas formados por partículas com tamanho da ordem de nanômetros (10^{-9} metros) que possuem propriedades físicas diferentes de quando com tamanhos macroscópicos. Suas propriedades são fortemente dependentes do seu tamanho, morfologia e estrutura. As principais características são a formação de monodomínios magnéticos, a existência de grande área superficial em relação ao volume e à possibilidade de recobri-las com diversos tipos de ligantes específicos (ALVES, 2007), tendo com isso uma gama gigante de aplicações.

Os métodos de preparo de nanopartículas mais conhecidos são os métodos eletroquímicos, decomposição térmica, síntese hidrotérmica, micro emulsão, decomposição-precipitação, coprecipitação, deposição química a vapor e a impregnação (CASANOVA, 2010). Dos métodos de preparo mais conhecidos, o método da coprecipitação é o mais antigo, simples e eficiente e o que permite maior produção em larga escala. A coprecipitação consiste na reação de precipitação de um ou mais precursores em meio aquoso, que são inicialmente misturados e precipitados na forma de carbonatos ou hidróxidos (PANTA, 2013).

Estas nanopartículas, além de apresentarem propriedades magnéticas, mecânicas e térmicas, oferecem um alto potencial para diversas aplicações, tais como descontaminação ambiental, fluidos magnéticos, processos catalíticos, coloração de imagens, tintas magnéticas e agentes de contraste em ressonância magnética de imagem (JUNIOR, 2011). Suas características magnéticas fazem das nanopartículas magnéticas um agente de contraste positivo, caso do gadolínio, ou negativo, caso das NP de óxido de ferro, com aplicações no diagnóstico por IRM de diversas patologias (STEPHEN, 2011). A Tabela 4 apresenta algumas NP estudadas para o uso em medicina diagnóstica.

Tabela 4 –Propriedades físicas de algumas nanopartículas utilizadas como agente de contraste.

Nome	Núcleo	Superfície	Diâmetro Núcleo	Diâmetro Hidrodinâmico	Magnetização	r2 (mM-1s-1)
Feridex	Fe ₃ O ₄ , γ-Fe ₂ O ₃	Dextran	4,96	160	45	120(1.5T)
Resovist	Fe ₃ O ₄	Carboxydextran	4	60		186
Combidex	Fe ₃ O ₄	Dextran	5,85	35	61	65
CLIO-tat	Fe ₃ O ₄	Dextran	5	30	60	62
WSIO (MEIO)	Fe ₃ O ₄	DMSA(b)	4		25	78
FeNP	a.Fe	PEG	10		70	129
MnMEIO	MnFe ₂ O ₄	DMSA(b)	6		68	208
CoMEIO	CoFe ₂ O ₄	DMSA(b)	12		99	172
NiMEIO	Ni.Fe ₃ O ₄	DMSA(b)	12		85	152
Au.Fe ₃ O ₄	Fe ₃ O ₄	PEG	20			114 (3T)
Au.FePt	FePt (fcc)	PEG	6			59

Fonte: CARVALHO, (2011).

2.4.1 Nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas.

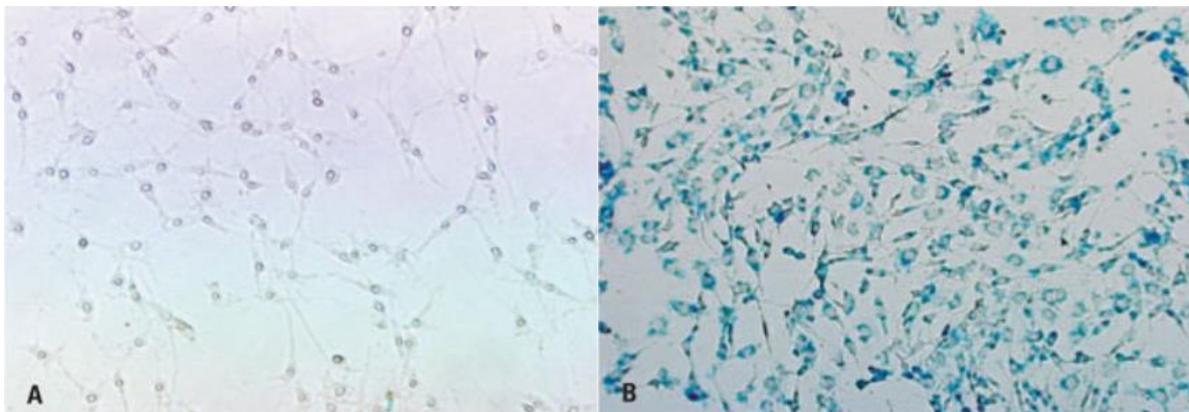
O ferro (Fe) é um elemento químico de número atômico 26 e massa atômica 56 uma. Este metal de transição é encontrado no grupo 8 (VIII B) da tabela periódica. É o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre (AL-ABADLEH, 2015). Pode ser encontrado em minerais, como o óxido de ferro, nas suas formas de hematita (Fe₂O₃), maghemita (γ-Fe₂O₃) a magnetita (Fe₃O₄), goethita (α-Fe₂O₃) (SOUZA, 2011).

O uso de óxido de ferro para síntese de nanopartículas superparamagnéticas têm sido extensivamente investigadas como novos agentes de contraste em IRM (STEPHEN, 2011). O óxido de ferro tem características biocompatíveis (com uma toxicidade menor) mais interessantes que o gadolínio, uma vez que o ferro é encontrado de forma natural no nosso organismo (LEE, 2014). Além disso, as SPIONs apresentam propriedades superparamagnéticas por conta do seu tamanho de proporções nano e biodegradabilidade, podendo ser recobertas com diversos polímeros conforme Zottis (2015 apud THANH, 2012; LEE, N.; HYEON,

2012; YOFFE, 2013) e funcionalizadas para as mais diferentes aplicações. Além de reduzirem o tempo de relaxação T2 e T2* (GONÇALVEZ, 2017), funcionam como agente de contraste negativo em IRM, uma vez que alteram as intensidades de susceptibilidade magnética em função da não homogeneidade do campo magnético local.

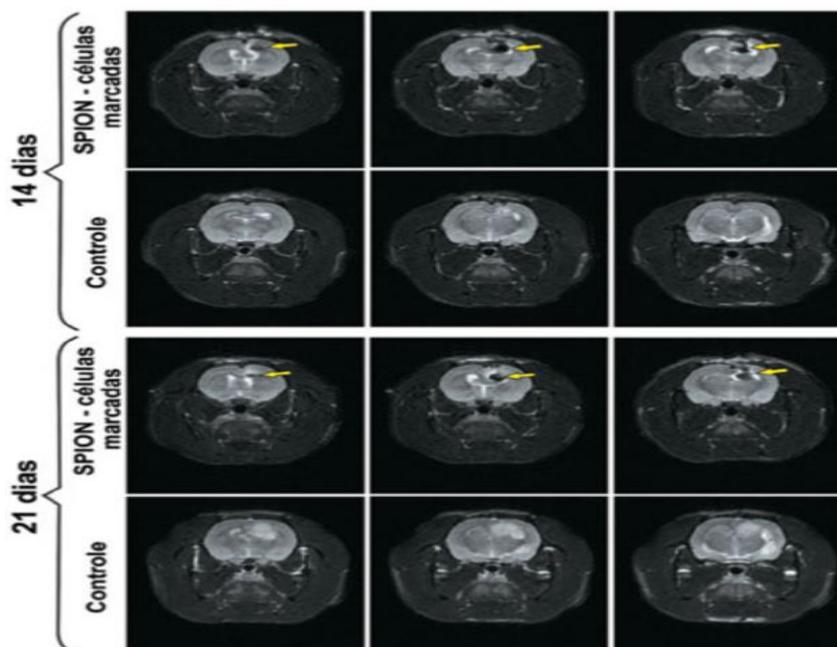
As SPIONs têm sido estudadas como meio de diagnóstico e tratamento para os mais variados tipos de cânceres. Estudos como o de Mamani et al. (2012) com células de glioblastoma multiforme, tumor cerebral com máximo grau de malignidade, de crescimento rápido, que se espalha rapidamente em poucos meses, mostram que tais células podem ser marcadas com SPIONs para que possam ser monitoradas in vivo através de IRM, possibilitando um acompanhando mais preciso da evolução da doença, conforme mostrado nas Figura 13 e Figura 14.

Figura 13 - Microscopia de luz das células C6 não marcadas (A) e células C6 marcadas com SPIONs (B)



Fonte: MAMANI et al., (2012)

Figura 14 - Imagens de RM ponderadas em T2 mostrando o efeito das SPIONs como marcadores (setas amarelas).



Fonte: MAMANI et al., (2012)

2.4.1.1 Síntese de Nanopartículas superparamagnéticas

Para a obtenção de nanopartículas magnéticas pode-se utilizar dois tipos de síntese: os métodos mecânicos ou os métodos químicos (SCHÄFER, 2017 apud COSTA, 2013). A síntese por método mecânico, conhecido como “top down”, manipulam o material em escala macro.

Já por métodos químicos, conhecidos por “bottom up”, são construções que ocorrem da escala nano em direção à micro e macro escala (SCHÄFER, 2017 apud BRANCO, 2013). A Tabela 5 apresenta alguns métodos de preparo de nanopartículas e suas descrições.

Tabela 5 - Métodos de preparo de nanopartículas

	Métodos	Descrição
Mecânico	Moagem Mecânica	Reduz o tamanho das partículas até a escala nanométrica utilizando moinhos.
	Filmes finos nanoestruturados	Utiliza a técnica de pulverização catódica.
Químico	Microemulsão	Sistema estável e translúcido de dois líquidos imiscíveis.
	Processo sol-gel	Formação de uma suspensão (sol), através de policondensação que forma uma matriz sólida (gel), logo após secagem.
	Coprecipitação	Materiais são dissolvidos em um solvente e precipitados pela adição de outro composto químico.

Fonte: SCHÄFER, 2017 apud RAGEL, 2014

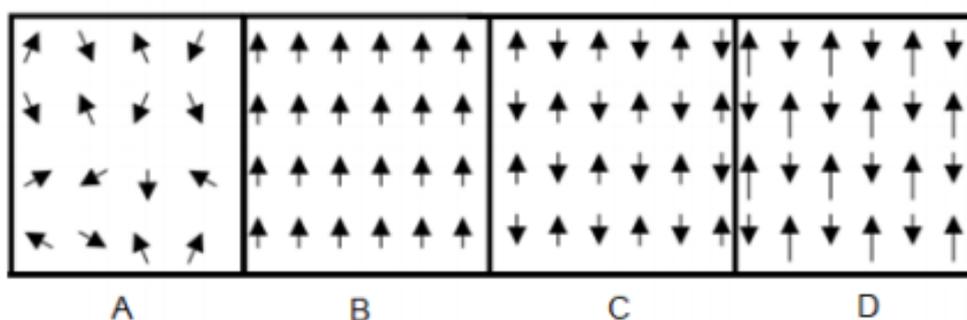
As formas de preparação das NPMs envolvendo solução aquosa que mais se destacam são os métodos de solvotérmica, decomposição térmica (LIMATENÓRIO et al., 2015) e coprecipitação (SIVAKUMAR, et al., 2013). A síntese por coprecipitação é a mais utilizada, dentre as citadas, em função de possuir um elevado rendimento, relativo controle do tamanho, baixo custo e por ser menos agressiva ao meio ambiente, pois não utiliza solventes orgânicos (LIMA-TENÓRIO et al., 2015).

2.4.1.2 Comportamento Magnético das SPIONs

O grande interesse no estudo da nanopartícula de óxido de ferro é devido sua propriedade magnética. A propriedade magnética corresponde à força ou influência atrativa ou repulsiva que um material impõe sobre outros materiais

(SCHÄFER, 2017 apud ROSSATO, 2012). Quando os átomos magnéticos se agregam em uma estrutura cristalina, a rede magnética pode se arranjar como, paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo, ferrimagnetismo e superparamagnetismo (FRANCISQUINI et al., 2015). O esquema representativo do alinhamento dos momentos magnéticos para estes materiais está representado na Figura 15 e as principais diferenças das classes desses estão descritas na Tabela 6.

Figura 15 - Esquema representativo do alinhamento dos momentos magnéticos: (A) superparamagnéticos, (B) ferromagnéticos, (C) antiferromagnéticos e (D) ferrimagnéticos



Fonte: ZALICH, (2005)

Tabela 6 - Descrição das principais diferenças das classes dos materiais

Classe	Estrutura atômica
Paramagnética	Átomos têm momentos de dipolo permanentes, mas momentos adjacentes não interagem
Ferromagnética	Átomos têm momentos de dipolo permanentes e interagem causando alinhamento (paralelo)
Antiferromagnética	Átomos têm momentos de dipolo permanentes e interagem causando alinhamento (antiparalelo)
Ferrimagnética	Átomos têm momentos de dipolo permanentes e interagem causando alinhamento antiparalelo desigual
Superparamagnética	Átomos têm momentos de dipolo permanentes e interagem causando alinhamento

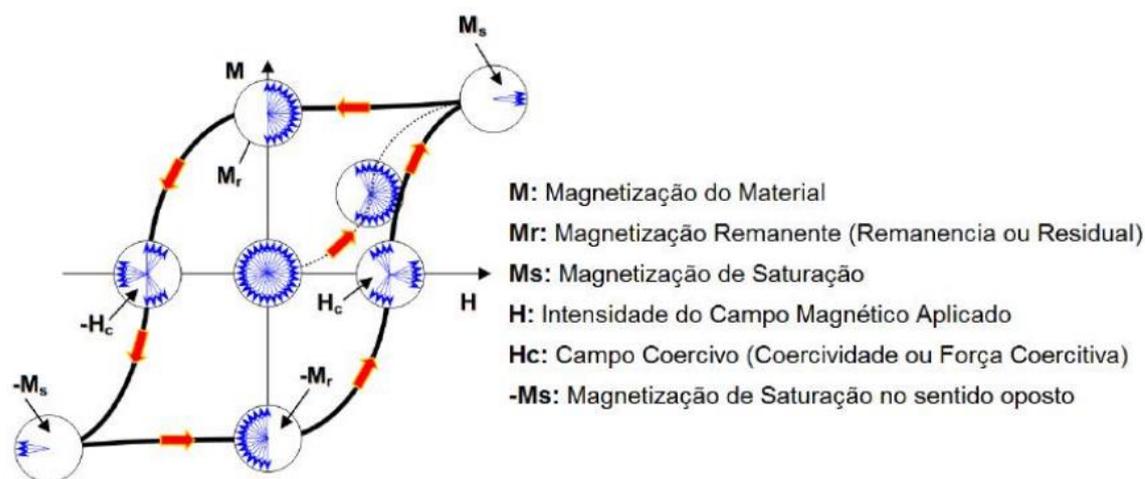
Fonte: ZALICH, (2015)

2.4.1.3 Curva de Histerese Magnética

A histerese é a tendência de um material conservar suas propriedades na ausência de um estímulo externo. A curva de histerese completa (quando se leva o material até a saturação em ambos os sentidos do campo H) é uma espécie de resumo das propriedades magnéticas de um material ferromagnético ordenado (AMORIM, 2011)

Na Figura 16 é mostrada uma curva típica de um material ferromagnético policristalino de alta permeabilidade, submetido a níveis elevados de indução sob regime de corrente alternada. Inicialmente a magnetização é nula a campo nulo. A curva interna (primeiro ramo) do primeiro quadrante é chamada de magnetização inicial, começando com uma inclinação que define a susceptibilidade magnética inicial, e atingindo a magnetização de saturação (M_s) onde todos os domínios magnéticos estão alinhado na mesma direção do campo aplicado. A partir daí, observa-se a irreversibilidade da curva M em função de H , com os demais ramos completando o ciclo de histerese.

Figura 16 - Ilustração da curva de histerese magnética.



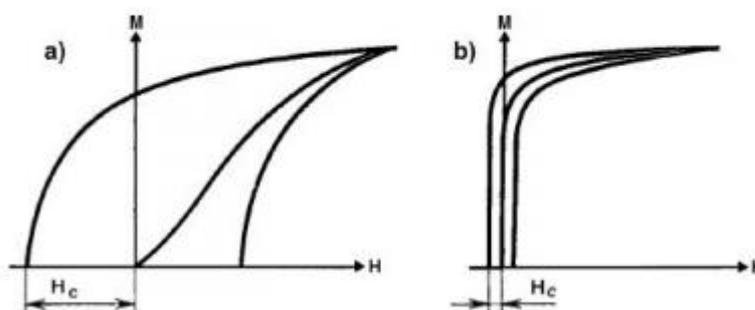
Fonte: AMORIM, (2011)

Um material ferromagnético quando submetido a um ciclo de varredura de campo magnetizante H , sofre um rearranjo da distribuição dos momentos

magnéticos para manter reduzida a energia do sistema. A forma da curva de histerese de um material (Figura 17) define a dureza do material. Materiais com uma curva larga são de difícil magnetização. Ele possuirá alta permeabilidade magnética, sendo necessário uma alta força coercitiva (H_c) para desmagnetizar o material além de um alto magnetismo residual (M_r), devido a indução magnética que se conservou no material depois de anulado o campo externo. Nesse caso o alinhamento dos domínios permanece.

Uma curva estreita, indica que esse material é de fácil magnetização (material mole), com baixa permeabilidade magnética, baixa coercividade (H_c) e baixo magnetismo residual (M_r). Já nesse caso o alinhamento dos domínios desaparece ao retirarmos o campo magnético externo.

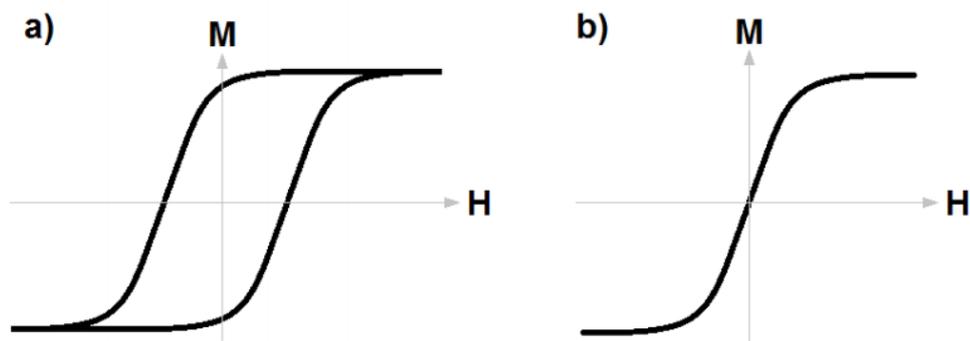
Figura 17 - Curva de histerese magnética; a) Material duro. b) Material mole



Fonte: AMORIM, (2011)

A curva de histerese de fato representa perdas energéticas durante o processo de magnetização após a aplicação de um campo magnético H , e a área da curva de histerese está associada com essas perdas. Por isso, materiais com “pouca ou nenhuma histerese” exibirão menores valores de campo coercivo (H_c), e de remanência (M_r), e representam perdas mínimas na magnetização. É nesta categoria que se encontram as partículas superparamagnéticas de Fe_3O_4 , pois, elas representam perdas mínimas da magnetização associadas aos processos reversíveis, indicando curva de magnetização com histerese nula, conforme pode ser visto na Figura 18.

Figura 18 - Curvas de magnetização associadas a (a) curva de histerese presente em materiais ferromagnéticos e (b) processos reversíveis presentes em SPIONs com H_c nulo



Fonte: AMORIM, (2011)

Os valores desprezíveis de M_r e H_c das partículas de Fe_3O_4 evidenciam o efeito de superparamagnetismo, e representam uma propriedade nova, uma vez que evita a agregação das partículas na solução coloidal, em ambas as situações, quando em armazenamento e após administração intravenosa (ZOTTIS, 2015 apud NEUBERGER et al., 2005), já que, após supressão do campo magnético aplicado (H), as partículas deixam de apresentar a interação magnética, e se comportam como materiais paramagnéticos.

3 METODOLOGIA

Quanto ao enquadramento metodológico, o presente trabalho é uma pesquisa, do ponto de vista da sua natureza, aplicada, que, segundo Prodanov (2013, p. 51), tem por objetivo “gerar conhecimentos para aplicação prática dirigidos à solução de problemas específicos”.

Quanto aos seus fins, a pesquisa é descritiva, que, segundo Gil (2010, p. 47), são aquelas que “procuram descrever as características de determinada população”. Segundo Prodanov (2013, p. 69), uma abordagem quantitativa “considera que tudo pode ser quantificável, o que significa traduzir em números opiniões e informações para classificá-las e analisá-las. Requer o uso de recursos e de técnicas estatísticas”. Este tipo de abordagem é o que melhor se enquadra para uma comparação entre as taxas de relaxação dos agentes de contrastes estudados, já que estas podem ser facilmente estudadas através de gráficos matemáticos gerados no programa Excel, o que corrobora com Vergara (2009), quando mostra que a pesquisa quantitativa pode se utilizar de programas estatísticos para quantificar as informações coletadas.

Do ponto de vista dos procedimentos técnicos, a pesquisa foi experimental, associada a uma pesquisa bibliográfica, como afirma Prodanov (2013, p. 57) “numa pesquisa experimental determinamos um objeto de estudo, selecionamos as variáveis que seriam capazes de influenciá-lo, definimos as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto”.

3.1 Local da pesquisa

O levantamento de dados ocorreu em uma clínica de diagnóstico por imagem da Grande Florianópolis, onde foram realizados testes de IRM das amostras estudadas. Os dados da pesquisa foram coletados como parte da pesquisa desenvolvida pelo grupo de pesquisa NanoTec, que estuda o desenvolvimento e preparação das SPIONs recobertas por vários polímeros e materiais recobridores e cujas propriedades físicas e químicas são investigadas para melhoria no efeito de

relaxação transversal (T2) como agente de contraste negativo. Essas pesquisas refletem a importância da busca aprimorada de ferramentas tecnológicas para detecção do câncer de mama ainda nos seus estágios iniciais.

3.1.1 Equipamentos utilizados

A presente pesquisa utilizou o equipamento de ressonância magnética cedido com tempo de máquina pela clínica de diagnóstico de imagem. Trata-se de uma máquina de ressonância magnética, modelo Sigma Excite 1.5 T – General Electric, com uma bobina transmissora–receptora de cabeça apresentado na Figura 19.

Figura 19 - Sala de comando e ressonância Sigma Excite 1.5 T – General Electric.



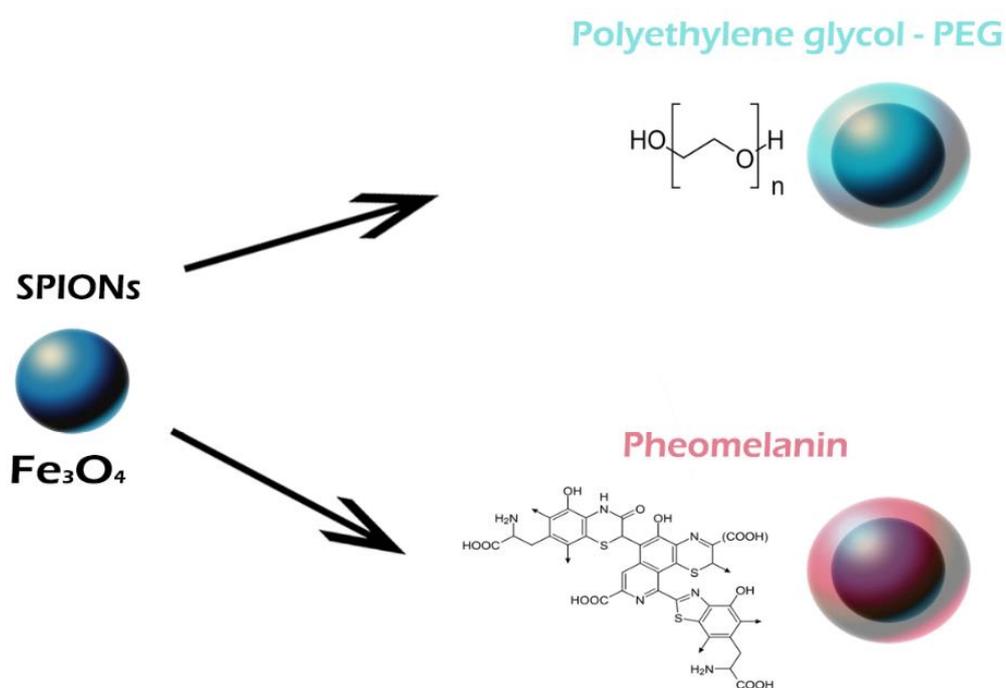
Fonte: Do Autor (2019).

Para a manipulação, visualização e análise das imagens de IRM de todas as amostras, foi usado o programa de computador Weasis DICOM viewer, Eclipse Public License – v 1.0. Os dados foram tratados no aplicativo Origin, versão 8.0.

3.2 Participantes da pesquisa

A pesquisa foi realizada com três amostras de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro, em diferentes concentrações de ferro e com recobrimentos diferentes. A amostra denominada C01 foi recoberta com um oligômero, a pheomelanina. As amostras A02 e A01 possuem como cobertura polietilenoglicol (PEG) em diferentes proporções estequiométricas (A01, 8:1 e A02, 2:1 de Fe^{3+} para o polímero). Além das amostras contendo nanopartículas, cada ensaio continha uma amostra de AC de Gd^{3+} na concentração de 50 ppm ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) usado como marcador de posição e como meio de comparação com as amostras de mesma concentração. Uma representação das SPIONs pode ser vista na Figura 20.

Figura 20 - Representação das SPIONs recobertas por Pheomelanina (C02) e Polietilenoglicol (A01 e A02).



Fonte: Do Autor (2019).

Para a síntese das nanopartículas utilizou-se o método de coprecipitação com adaptações de ZOTTIS (2015) e a síntese do recobrimento de Pheomelanina com adaptações de COSTA (2012). Para a caracterização das amostras foram

realizadas análises de Infravermelho, DLS e EDS. Os resultados a seguir foram publicados como parte do trabalho desenvolvido pelo grupo Nanotec.

3.2.1 Síntese da Pheomelanina

A metodologia utilizada para sintetizar a pheomelanina seguiu de acordo com adaptações (COSTA, 2012; CHEDEKEL, 1985), onde a L-DOPA é solubilizada no tampão Fosfato PBS (1M pH=7,3) e então adiciona-se uma quantidade mínima de Tirosinase, após 1 minuto a solução apresenta uma coloração alaranjada característica da formação das dopaquinonas, adiciona-se então o aminoácido L-cisteína, tornando a solução com coloração marrom resultando na formação da Cys-DOPA (pheomelanina) e deixa-se reagir por 48 horas. A reação deve ser feita em ambiente aberto para permitir a oxidação da L-dopaquinona para sucesso da obtenção do produto final. Para a purificação do produto final é adicionado HCl (1M), centrifugado a 3900 rpm, descartando o sobrenadante e filtrado a vácuo, lavando com uma solução de acetona 50% v/v à quente e após é deixado secar em estufa a 50°C. Na Figura 21 é possível ver o resultado da síntese da amostra A01 e C01.

Figura 21 - Amostras A01 - PEG (direita) e C01 – Pheo (esquerda)

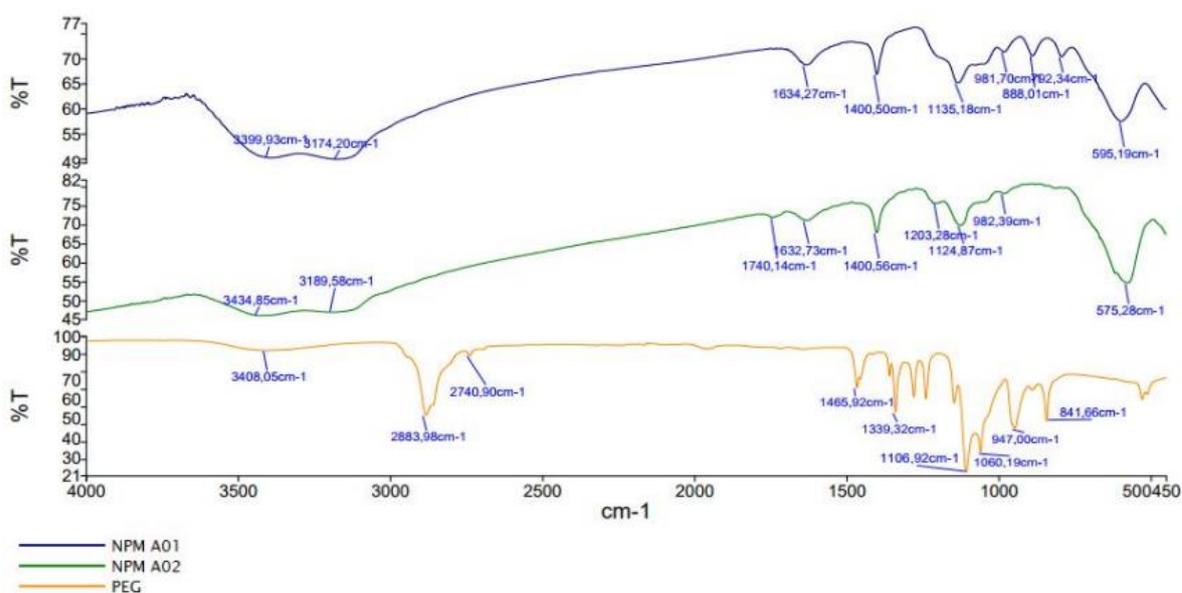


Fonte: RIBEIRO, (2017).

3.2.2 Espectrometria por Infravermelho

Os espectros obtidos na análise de Infravermelho (Figura 22) apontaram os picos característicos da presença de óxido de ferro com a ligação de Fe-O em 595,2 cm^{-1} (A01), em 575,3 cm^{-1} (A02). Também revelaram que houve a presença do polímero PEG para o recobrimento das NPMs nas amostras A01 e A02, pois notou-se que os espectros apontaram os grupos químicos da PEG, identificados pelas bandas de estiramento de grupo éter -C-O-C em 1135 cm^{-1} (A01) e em 1124 cm^{-1} (A02), bandas atribuídas a CH₂ em 1400,5 cm^{-1} (A01 e A02) além da banda de vibração fora do plano C-H em 981,7 cm^{-1} (A01) e em 982,3 cm^{-1} (A02) e as ligações hidroxila O-H em 3399,93 cm^{-1} (A01) e em 3434,85 cm^{-1} (A02). (RIBEIRO, 2017)

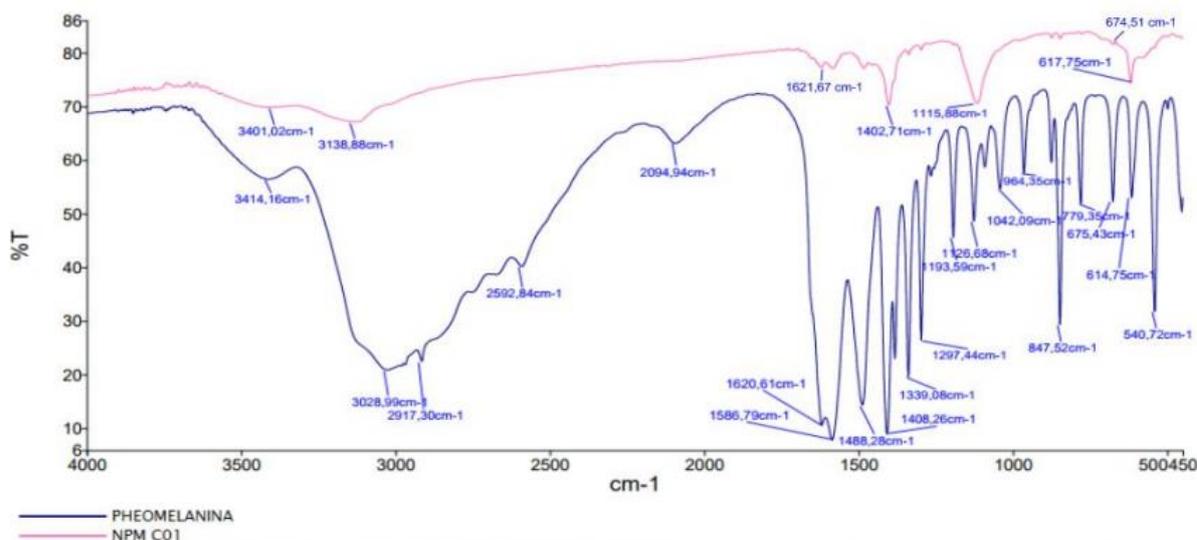
Figura 22 - Espectro de Infravermelho das NPMs A01 (azul) e A02 (verde) e do PEG pura.



Fonte: RIBEIRO, (2017).

Para a amostra C01 (Figura 23) identificou-se a banda em 674,51 cm^{-1} atribuída a fases de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Para as bandas características dos principais grupos químicos da pheomelanina temos os picos em 3138,85 cm^{-1} (O-H), em 1621,67 cm^{-1} (C=O), em 1001 cm^{-1} (C-O) que caracterizam os grupamentos catecol, ácido carboxílico e quinonaimina, respectivamente, e em 617,75 cm^{-1} C-S que caracterizam grupos benzotiazóis. (RIBEIRO, 2017)

Figura 23 - Espectro de Infravermelho da NPM C01 (rosa) e pheomelanina pura (azul).



Fonte: Ribeiro, (2017).

3.2.3 Espalhamento de luz Dinamico (DLS)

Com essa análise é possível estimar o tamanho total das NPMs em solução aquosa, ou seja, o tamanho do núcleo e do recobrimento, os valores médios dos diâmetros hidrodinâmicos ficaram melhores para os pH 7,3 e 9,3. Para serem utilizadas no meio intravenoso como potencial agente de contraste, as nanopartículas devem atender às condições de 80 a 200 nm (ZOTTIS, 2015), podendo assim concluir que as três amostras estão dentro desse requisito. Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados DLS

pH	A01	A02	C01
7,3	160 nm	120 nm	120 nm
9,3	120 nm	120 nm	110 nm

Fonte: Ribeiro, (2017).

3.2.4 Microanálise por Energia Dispersiva (EDS)

Os resultados do EDS estão apresentados na Tabela 8, em que mostra os valores encontrados para o percentual de átomos de oxigênio (O), ferro(Fe), enxofre (S). Nas três amostras, verificou-se a formação das nanopartículas de óxido de ferro através do percentual de Fe e O. Também mostrou a presença de S em todas as amostras devido ao fato de que para a síntese, o precursor utilizado foi FeSO₄ (sais de Fe 2+), porém, particularmente para a amostra C01 foi encontrado presença de 7,5 % que corresponde à presença de grupos tióis e benzotiazóis característicos da estrutura da pheomelanina (ZOTTIS et al., 2015).

Tabela 8 - Resultados EDS.

Amostras	%O	%Fe	%S
A01	51,3	41,2	2,2
A02	29,2	65,8	1,3
C01	45,8	38,55	7,5

Fonte: Ribeiro, (2017).

3.3 Etapas da pesquisa

Para melhor execução e apresentação dos resultados, a pesquisa foi dividida em quatro etapas, descritas na Figura 24.

Figura 24 - Etapas da pesquisa



Fonte: Do Autor (2019).

3.3.1 Pesquisa bibliográfica

Com o intuito de aprofundar o conhecimento acerca do assunto, o presente estudo começou com uma pesquisa bibliográfica, onde buscou-se, em nas bases de dados SciELO (Scientific Electronic Library Online), Periódicos Capes, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações e Biblioteca Virtual em Saúde, artigos científicos que serviram de base para a revisão de literatura bem como meio de aprofundamento do conhecimento do pesquisador sobre o tema da pesquisa.

3.3.2 IRM das nanopartículas.

As amostras foram submetidas a um exame de imagem por ressonância magnética onde foram rodadas diferentes sequências de ponderações.

Essa foi uma das partes mais importantes do presente estudo, uma vez que toda a pesquisa realizada, baseia-se nas imagens obtidas nessa fase. A forma como foram preparadas as amostras e de como os ensaios ocorreram estão descritos nas próximas seções desse trabalho.

3.3.2.1 *Preparação do imageamento com phantom*

As amostras contendo as nanopartículas foram preparadas em suspensão em um “phantom” de gel ágar para aquisição das IRMs. As amostras A01, A02 e C01 foram preparadas em tubos de eppendorf com concentrações de 0, 5, 10, 25, 50 mmol L⁻¹ de ferro. A preparação do gel ágar, bem como a preparação das misturas, seguiu o método proposto por Zottis (2015, apud LEE, N.; HYEON, 2012) e foi preparado pelo grupo Nanotec.

De modo a avaliar os efeitos do realçamento no sinal de IRM, as soluções aquosas das NPMs em diferentes concentrações de Fe foram mantidas, como já mencionado, em um “phantom” constituído de gel ágar para evitar agregação das NPMs. O “phantom” serviu para permitir a localização do sinal de IRM. Os tubos de eppendorf, contendo cerca de 250µL, foram posicionados próximo ao isocentro do

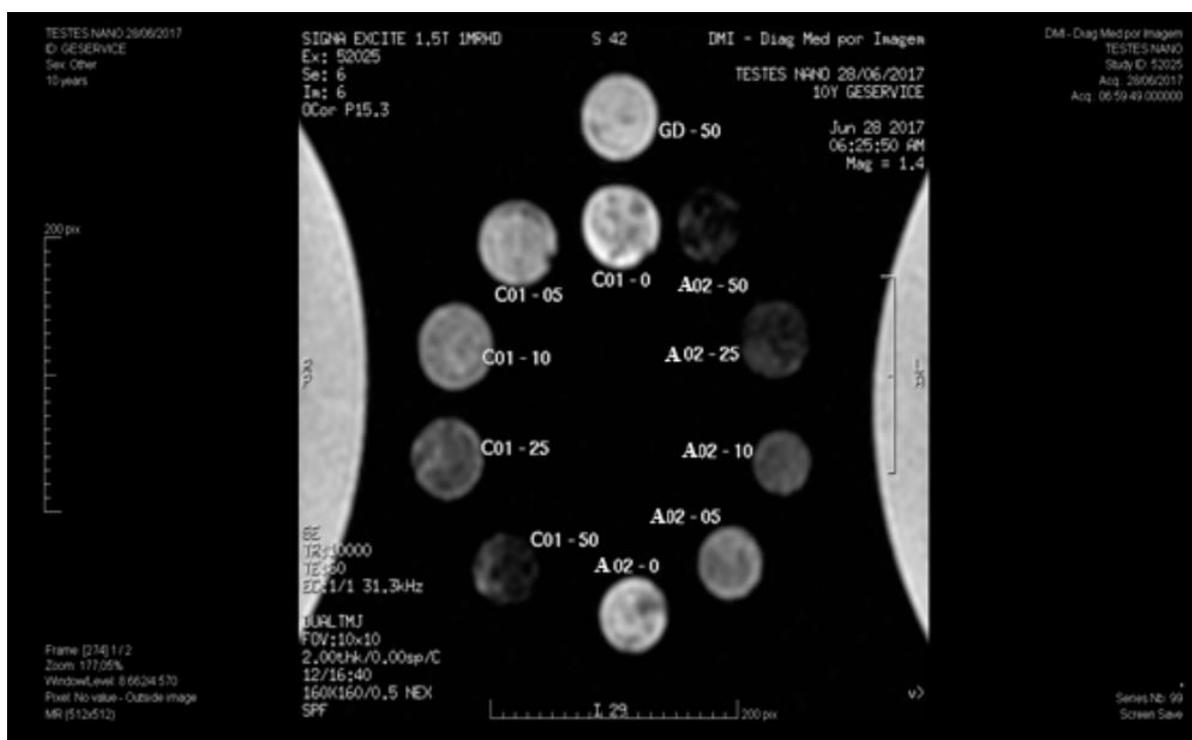
“scanner” de IRM dentro de uma bobina transmissora-receptora de quadratura de cabeça com um campo homogêneo B1 de 1,5 T a fim de serem adquiridas as imagens por IRM.

3.3.2.2 Testes das amostras

Os testes realizados no dia 28/06/2017, entre 06:00 e 07:00 horas da manhã, com as amostras C01 e A02, foram fixadas em suporte feito de polietileno, construído pelo pesquisador. O suporte possui espaço para onze tubos de eppendorf, distribuídos em sentido anti-horário começando com a amostra de menor concentração logo abaixo do marcador com gadolínio, conforme Figura 25.

O eppendorf que possui o AC de gadolínio foi colocado em posição de destaque para marcar o começo da distribuição das amostras.

Figura 25 - Distribuição das amostras C01 e A02 para IRM.

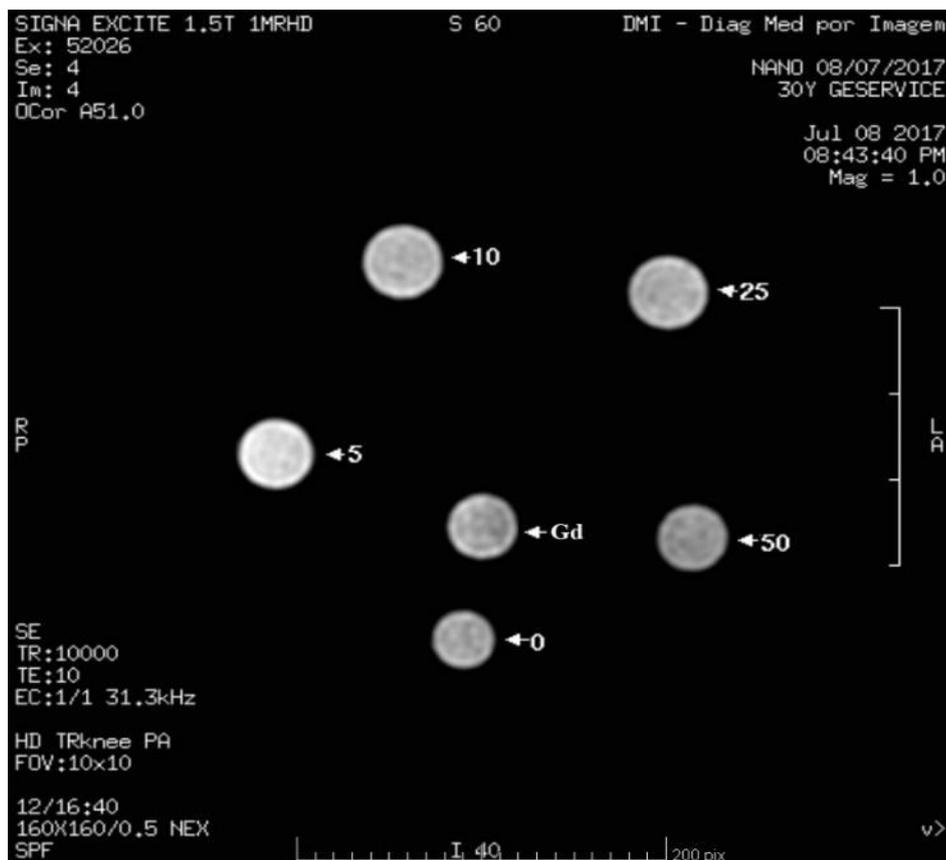


Fonte: Do Autor (2019).

Os testes da amostra A01 foram realizados no dia 08/07/2017, entre 23:00 e 24:00 horas, foram fixadas em um suporte de papelão, presas com fita adesiva. Foram fixados seis tubos de eppendorf e as amostras distribuídas em sentido horário

começando com a amostra de menor concentração. O eppendorf que possui o marcador de AC de gadolínio foi colocado em posição de destaque para marcar o começo da distribuição das amostras, conforme Figura 26.

Figura 26 - Distribuição das amostras A01 para IRM



Fonte: Do Autor (2019).

Os testes de IRM das nanopartículas foram realizados em dois dias com a participação da clínica parceira do grupo de pesquisa Nanotec, o tecnólogo da clínica e o orientador dessa pesquisa. Nesta etapa, foram obtidas imagens de ressonância magnéticas das amostras A01, A02 e C01, as quais forneceram os dados necessários para continuação e alcance dos objetivos os quais este trabalho se propôs.

As imagens foram obtidas em duas ocasiões, em 28 junho 2017 e 08 de julho de 2017. Na primeira ocasião, os testes foram rodados das seis horas da manhã com duração de aproximadamente uma hora, antes do início da agenda de atendimento da clínica. O segundo teste foi rodado após o horário de atendimento

da clínica, onde programou-se o equipamento para ficar rodando as sequências de séries automaticamente.

Foram rodadas várias sequências, apresentadas nos quadros 1 e 2, que geram imagens de ressonância magnética das amostras que serão apresentadas na seção 3.4.

Quadro 1 - Sequências rodadas no dia 28/06/2017.

T2 SE TE 60ms	T1 SE TR 400ms	T1 SE TR 800ms
T1 SE TR 1600ms		

Fonte: Do Autor (2019).

Quadro 2 - Sequências rodadas no dia 08/07/2017.

T2 SE TE 10ms	T2 SE TE 30ms	T2 SE TE 60ms
T2 SE TE 90ms	T2 SE TE 120ms	

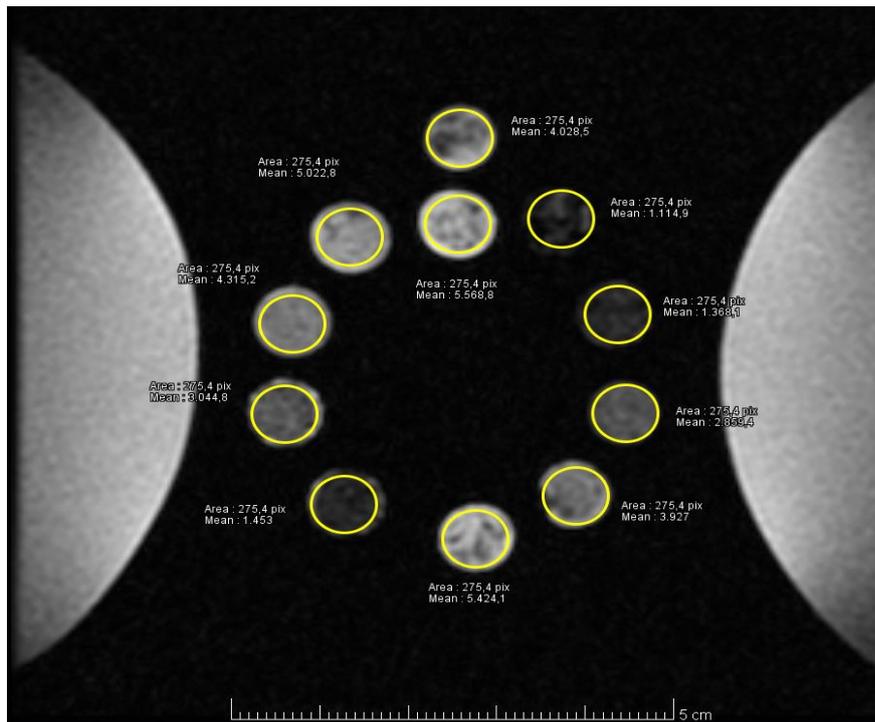
Fonte: Do Autor (2018)

3.3.3 Coleta dos dados

Através do aplicativo Weasis DICOM viewer, Eclipse Public License – v 1.0, foram criados ROIs idênticos, com a mesma área (quantidade de pixels), os quais foram posicionados sobre cada uma das imagens geradas pelas amostras e em suas respectivas concentrações. Isso foi feito para cada uma das duas sequências rodadas nos ensaios e detalhadas nos quadros 1 e 2.

Como apresentado na Figura 27, para cada ROI, o aplicativo apresenta a área e a intensidade de pixel, sendo que todas as áreas são iguais para que fosse possível comparar a quantidade de pixel em cada um dos ROIs.

Figura 27 - Leitura da intensidade de pixel das imagens geradas por RM.



Fonte: Do Autor (2018)

3.3.4 Análise de dados

Para analisar a eficiência das nanopartículas como agentes de contraste negativo, os dados tabulados foram utilizados para calcular a relaxividade transversal r_2 que, como já explicado, pode ser calculado pela Equação 7, e foram calculados os valores percentuais da diferença entre a intensidade do sinal da amostra controle (0 ppm) com as demais concentrações da amostra.

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T_{20}} + r_2 C \quad (7)$$

Onde:

T_2 é tempo de relaxação transversal;

T_{20} o tempo de relaxação antes da aplicação do AC;

C quantifica a concentração do AC; e

r_2 a relaxividade no tempo T_2 .

As imagens geradas pelos ensaios forneceram a possibilidade de comparar as imagens do comportamento das amostras com as imagens do agente de AC a base de gadolínio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os dados extraídos das IRM foram devidamente tabulados, organizados e apresentados na Tabela 9 (C01), Tabela 10 (A02) e Tabela 11 (A01).

Tabela 9 - Organização dos dados coletados da amostra C01.

Sequências	mm ²	Gd 50 ppm	Intensidade Sinal de Pixels por Concentração das Amostras				
			0 ppm	5 ppm	10 ppm	25 ppm	50 ppm
T1 SE TR 400 ms	40,7	1493,5	993,7	1325,8	1429,9	1596,3	1177,7
T1 SE TR 800 ms	40,7	2735,5	1962,2	2478,3	2929	2888,6	2275,5
T1 SE TR 1600 ms	40,7	4484,6	3474,6	4341,1	5051,4	5005,1	3920,5
T2 SE TE 60 ms	40,7	5716,5	6030	5258,7	4411,7	3219,2	1516,6

Fonte: Do Autor (2019).

Tabela 10 - Organização dos dados coletados da amostra A02.

Sequências	mm ²	Gd 50 ppm	Intensidade Sinal de Pixels por Concentração das Amostras				
			0 ppm	5 ppm	10 ppm	25 ppm	50 ppm
T1 SE TR 400 ms	40,7	1493,5	1052,9	1563,5	1538,3	1521,4	1349,5
T1 SE TR 800 ms	40,7	2735,5	1915,1	2901,1	2854,1	2770,4	2399,7
T1 SE TR 1600 ms	40,7	4484,6	3381,4	4994,3	4741,3	4561,6	3825,1
T2 SE TE 60 ms	40,7	5716,5	6052,9	4141,4	2717,8	1510,3	877,9

Fonte: Do Autor (2019).

Tabela 11 - Organização dos dados coletados da amostra A01.

Sequências	mm ²	Gd 50 ppm	Intensidade Sinal de Pixels por Concentração das Amostras				
			0 ppm	5 ppm	10 ppm	25 ppm	50 ppm
T2 SE TE 10 ms	41,4	4120,3	4037,4	4923	4057,5	3967,5	3616,7
T2 SE TE 30 ms	41,4	3153,1	3335,7	3486,4	2779,3	2247,1	1702,8
T2 SE TE 60 ms	41,4	2325,4	2575,1	2314,2	1687	1111,1	744,5
T2 SE TE 90 ms	41,4	1755,7	2014,3	1529,8	1040,2	648,8	446,9
T2 SE TE 120 ms	41,4	1565,7	1622,1	1081,7	673,2	458,9	403,3

Fonte: Do Autor (2019).

Para estimar o tempo de relaxação transversal (T2) para cada amostra, imagens coronais com espessura de corte (TH = 2 mm) foram adquiridas em vários tempos de eco (TE) de 10 a 120 ms com um tempo de repetição (TR) de 10000. De forma similar, o tempo de relaxação T1 para cada amostra foi medido variando o TR entre os seguintes valores: 400, 800, 1600 ms, enquanto foi mantido o valor de TE constante em 10 ms.

Após a aquisição das imagens, as magnitudes das intensidades das imagens foram medidas dentro das regiões de interesse (ROIs) manualmente desenhadas pelo “software” Weasis para cada uma das amostras de NPMs já apresentadas na Figura 27.

4.1 Efeito de redução do sinal T2

A taxa de relaxação transversal R2 (1/T2) (amostra A01) foi calculada considerando uma estimativa para uma curva monoexponencial de dados da intensidade de sinal versus tempo (usando o “software” Origin 8.0). De modo que a estimativa da curva para a taxa de relaxação transversal R2 (1/T2) pela intensidade (I(t)) do sinal em função de TR e TE para cada concentração de ferro [Fe] das amostras é dada pelas equações 08 e 09.

$$I_t = M_z \cdot (1 - e^{-\frac{TR}{T_1}}) \quad (8)$$

$$I_t = M_{xy} \cdot (e^{-\frac{TE}{T_2}}) \quad (9)$$

Onde:

M_z é a magnetização longitudinal;

M_{xy} é a magnetização transversal;

TE é o tempo de eco;

TR é o tempo de repetição;

T1 é o tempo de relaxação longitudinal;

T2 é o tempo de relaxação transversal.

Isolando o termo $1/T_2$ da equação 9, obtemos a equação 10, o qual nos dá a taxa de relaxação da amostra A01 e possibilita o cálculo da taxa de relaxividade (equação 7) da amostra, apresentados nas tabelas **Tabela 12** e **Tabela 13**, respectivamente.

$$\frac{1}{T_2} = \ln\left(\frac{I_t}{M_{xy}}\right) \cdot \left(\frac{-1000}{TE}\right) \quad (10)$$

Onde:

$1/T_2$ é a taxa de relaxação;

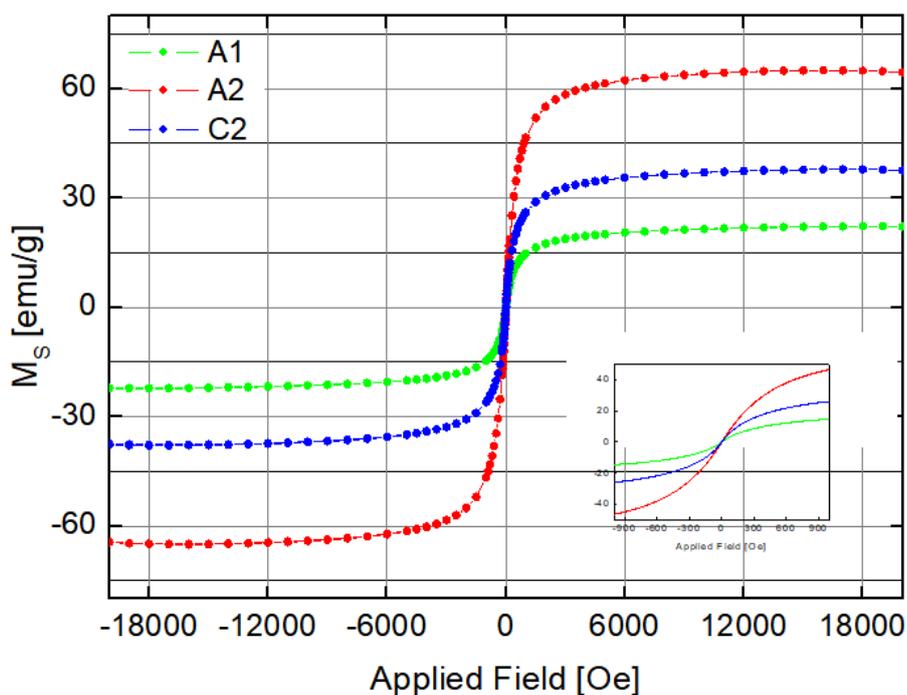
M_{xy} é a magnetização transversal;

TE é o tempo de eco;

T2 é o tempo de relaxação transversal.

O valor da magnetização transversal (M_{xy}) das amostras foi obtido através da medida de magnetização por amostra vibrante (VSM) e os valores foram cedidos pelo grupo Nanotec (A01 – 22,24034 emu/g, A02 – 65,007825 emu/g e C01 – 37,8134875 emu/g) e podem ser observados na Figura 28.

Figura 28 – Resultado da medida de magnetização por amostra vibrante (VSM)



Fonte: Do Autor (2019).

Com os valores de magnetização transversal foi possível calcular a taxa de relaxação da amostra A01 e consequentemente a taxa de relaxividade da mesma amostra. Tabela 12 e Tabela 13

Tabela 12 - Valores da taxa de relaxação da amostra A01.

		1/T2				
TE		10 ms	30 ms	60 ms	90 ms	120 ms
Concentração ppm	0	-520,145	-167,018	-79,1956	-50,068	-35,7464
	5	-539,977	-168,491	-77,4152	-47,0109	-32,3698
	10	-520,641	-160,935	-72,1467	-42,7251	-28,4178
	25	-518,398	-153,85	-65,1866	-37,4802	-25,2244
	50	-509,141	-144,604	-58,5134	-33,3381	-24,1481

Fonte: Do Autor (2019).

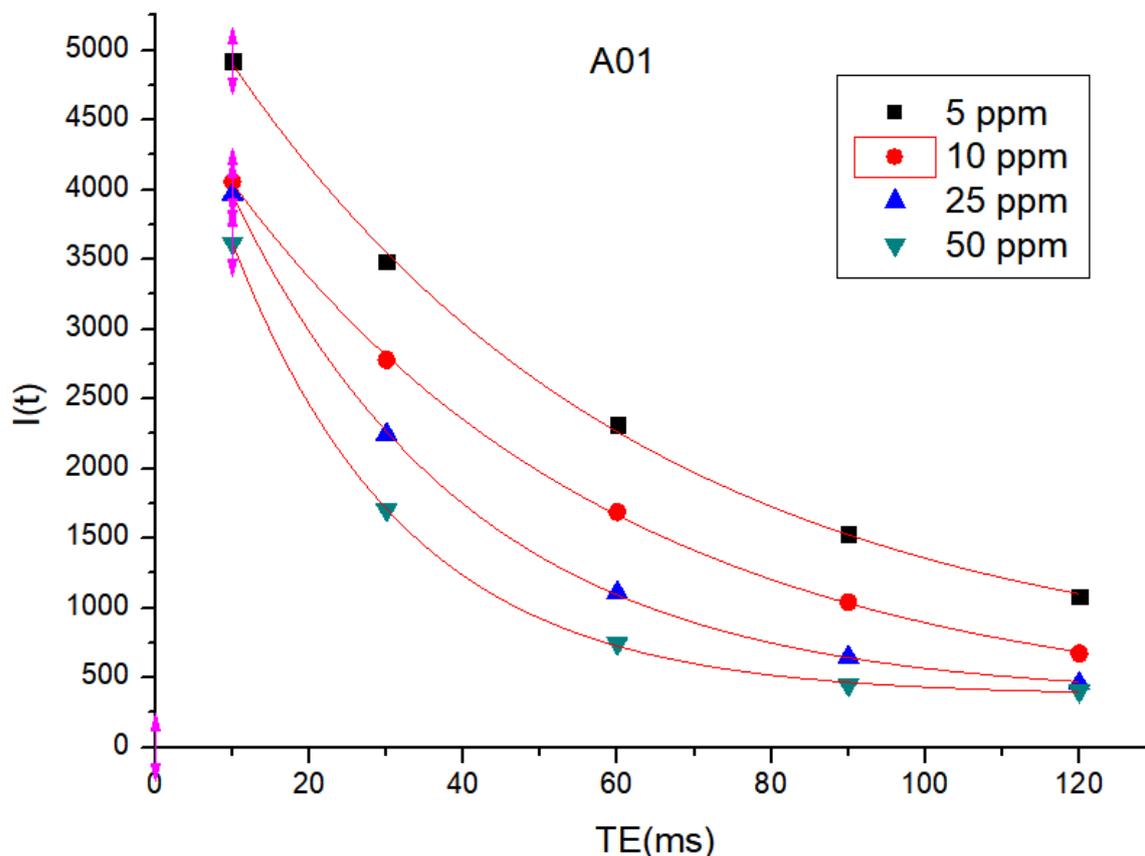
Tabela 13 - Valores da taxa de relaxividade da amostra A01.

		1/T2 - 1/T2,0				
TE		10 ms	30 ms	60 ms	90 ms	120 ms
Concentração ppm	0	0	0	0	0	0
	5	-19,8317	-1,4729	1,78041	3,05705	3,37657
	10	-0,49661	6,08278	7,04894	7,34287	7,32862
	25	1,74647	13,16807	14,00897	12,5878	10,52204
	50	11,00389	22,41362	20,68218	16,72991	11,5983

Fonte: Do Autor (2019).

Como evidenciado na Figura 29, houve uma redução da intensidade do sinal com o aumento do tempo de eco.

Figura 29 - Intensidade de Sinal versus TE por concentração de Ferro da Amostra A01

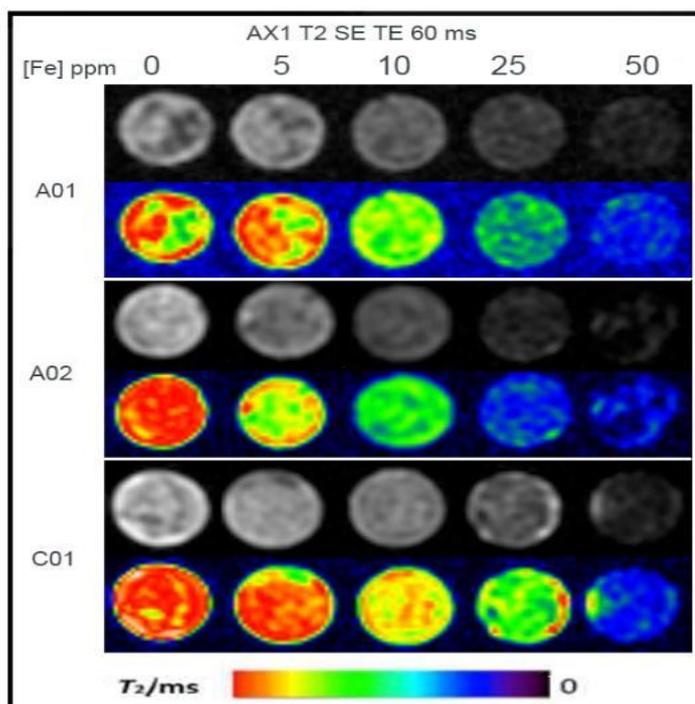


Fonte: Do Autor (2019).

Notou-se também que essa redução do sinal é maior em amostras com uma concentração de ferro mais alta. Sendo assim, quanto maior a inclinação da curva de relaxação T2, maior é a redução do sinal e conseqüentemente melhor se apresenta o efeito de realce como agente de contraste negativo T2, que é uma propriedade importante para investigação de tumores primários.

Esse efeito de redução do sinal com o aumento da concentração de ferro pode ser um dos responsáveis pela redução do sinal uma vez que as nanopartículas com núcleo de óxido de ferro podem perturbar a homogeneidade local do campo magnético, o que faria os prótons perderem energia devido à interação spin-spin em meio aquoso, aumentando a perda de coerência e conseqüentemente diminuindo o tempo T2 (ZOTTIS, 2015, apud LEE,; HYEON, 2012) o que pode ser evidenciado na Figura 30, onde observa-se que a intensidade do sinal das imagens ponderadas em T2 reduziram o contraste das amostras, associado à redução do sinal seguindo o aumento da concentração de ferro [Fe].

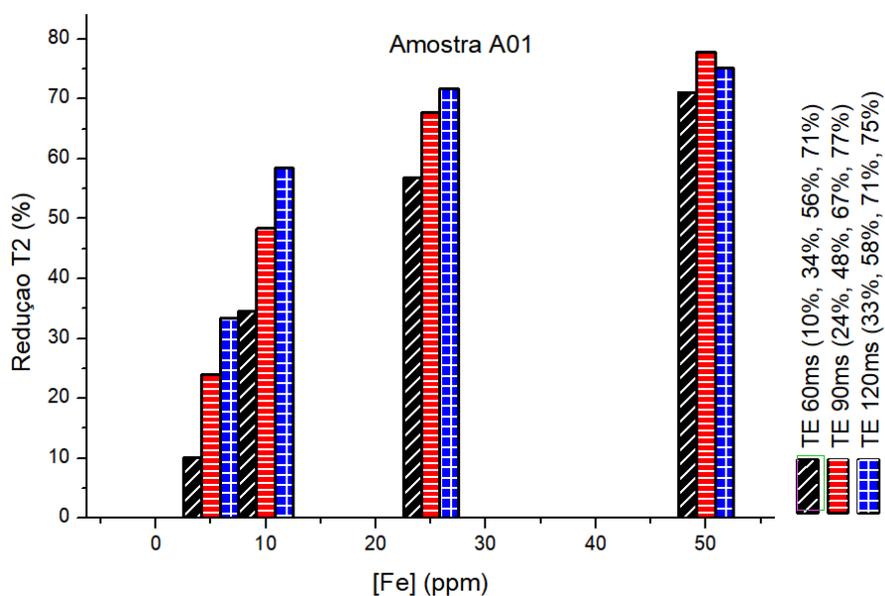
Figura 30 - Intensidade do sinal de IRM ponderada em T2 versus concentração de ferro.



Fonte: Do Autor (2019).

O efeito de redução do sinal na sequência T2 SE com TE de 60ms, quando comparado com os resultados do controle, 0 ppm, e suas respectivas concentrações de nanopartículas, pode ser observado nas Figura 31 e Figura 32.

Figura 31 - Percentual da redução do sinal em relação ao controle para sequências com ponderação T2 (A01)



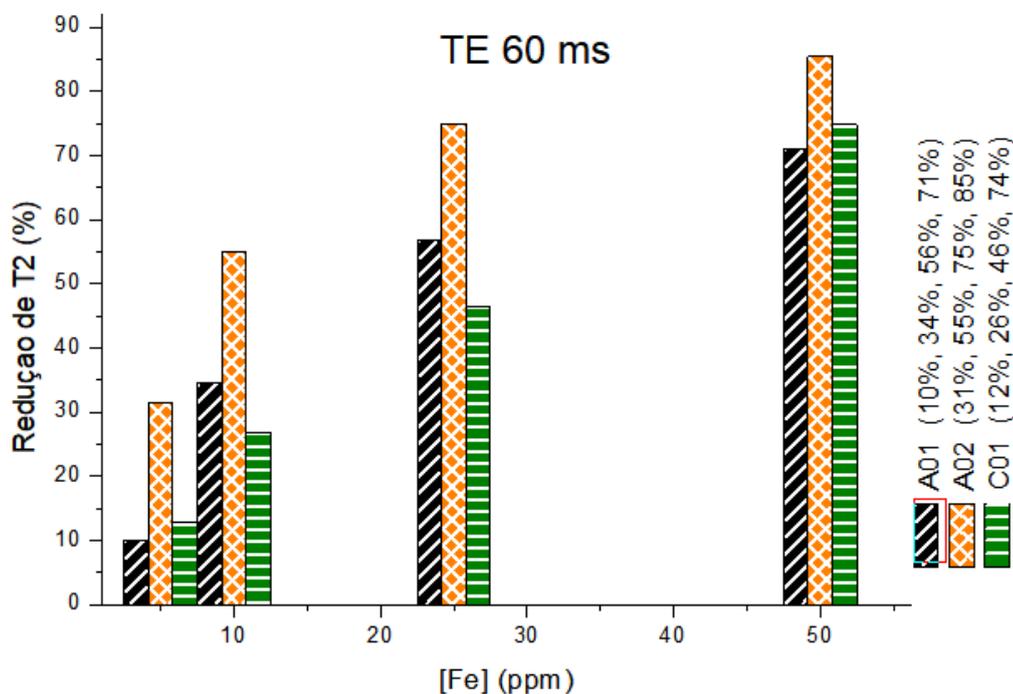
Fonte: Do Autor (2019).

Na Figura 31, a comparação é feita apenas com os dados da amostra A01 com os tempos de eco de 60, 90 e 120ms. Com isso foi possível verificar que o tempo de eco é um parâmetro importante para se conseguir a redução de sinal em imagens ponderadas em T2. Tempos de eco abaixo dos 60ms não são categorizados como imagens com ponderação T2.

A redução observada (Figura 31) corrobora com as Figura 29 e Figura 30, que demonstram um maior efeito da redução do sinal com o aumento da concentração de SPIONs bem como com o aumento do tempo de eco em sequências de IRM com ponderação T2, amostra A01.

Quando comparadas entre si, e submetidas ao mesmo parâmetro, TE de 60ms, (Figura 32) todas as amostras demonstraram redução significativa do sinal quando comparadas a amostra controle (0 ppm).

Figura 32 - Percentual da redução do sinal em relação ao controle para sequências com ponderação T2 (C01)



Fonte: Do Autor (2019).

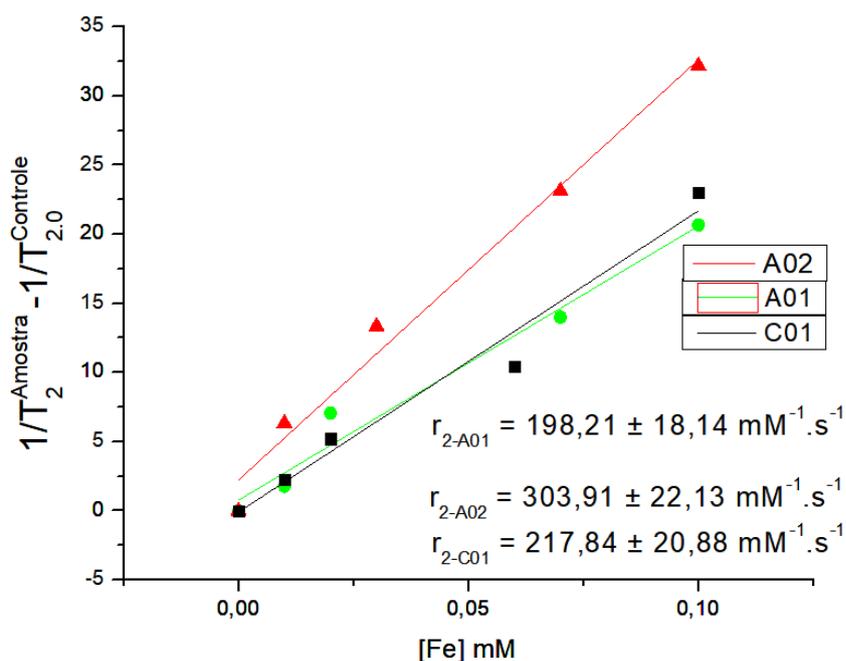
A amostra C01, também teve redução de sinal com o aumento de concentração SPIONs. A amostra A02, que difere da A01 apenas na sua proporção estequiométrica (A02, 2:1 e A01, 8:1 de Fe^{3+} para o polímero), mesmo tendo uma

concentração menor de ferro teve a maior redução do sinal quando comparada ao controle, possivelmente pelo seu valor de magnetização transversal elevado (A01 – 22,24034 emu/g, A02 – 65,007825 emu/g e C01 – 37,8134875 emu/g) o mais alto das três amostras. Zottis (2015, apud HERMAN et al.,2011) destaca que as nanopartículas em questão obtiveram resultados semelhantes ou superiores a outros trabalhos com nanopartículas com características de síntese e concentrações semelhantes das amostras A01, A02 e C01.

4.2 Relaxividade longitudinal (r_1) e transversal (r_2).

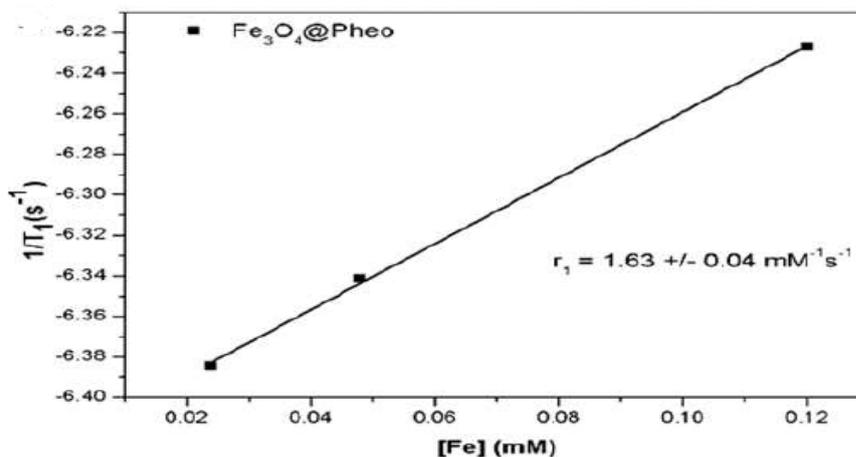
A Figura 33 mostra uma dependência linear e o ajuste da curva forneceu boas correlações ($R^2_{A01} = 0,9673$, $R^2_{A02} = 0,9791$ e $R^2_{C01} = 0,9642$ para r_2). Quando comparamos os resultados da taxa de relaxividade r_{2-C01} (Figura 33) da amostra C01 com os resultados obtidos por Zottis (2015) para a relaxividade r_{1-C01} (Figura 34), pode-se observar que os valores de r_{2-C01} frente aos valores de r_{1-C01} , são muito maiores ($r_{2-C01} = 217,8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, $r_{1-C01} = 1,63 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Este resultado indica que, pelo menos, a SPION C01 apresenta característica como realce de agente de contraste T2 negativo para IRM (ZOTTIS, 2015).

Figura 33 - Gráfico da Relaxividade Transversal (r_2)



Fonte: Do Autor (2019).

Figura 34 - Gráfico da Relaxividade Longitudinal (r_1)



Fonte: ZOTTIS, (2015).

O valor de $r_{2-C01} = 217,84 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ foi superior que os de outras SPIONs recobertas por outras substâncias, como quitosana, NPMs@POA, entre outras encontradas na literatura, apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Comparativo da relaxividade r_2 e r_1 de nanopartículas com recobrimentos diferentes.

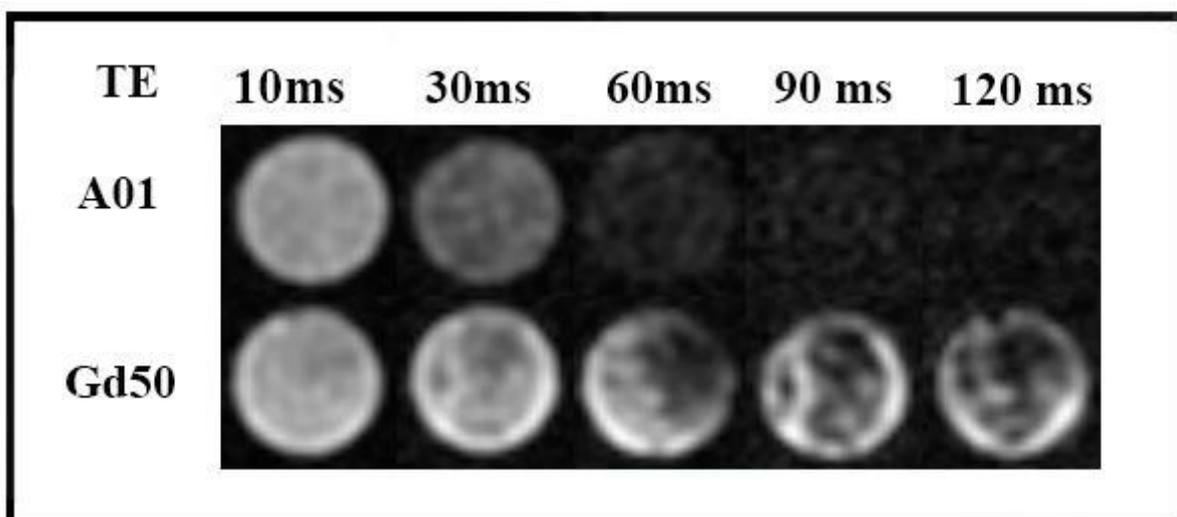
Recobrimento	Diâmetro		r_1	$R_2 (r_2/r_1)$
	Hidrodinâmico	r_2		
	Médio			
Pheomelanina (C01)	90	217,84	1,63 (ZOTTIS, 2015)	133,64
Ácido Cítrico	150	155,7	3,5	44,5
Ácido Poliacrílico	172	232,4	3,9	59,6
Quitosana	130	64,31	9,44	6,8
Copolímero				
F127/Ácido Oleico	71	63,4	1,33	47,7
Lactoferrina	75	75,6	-	-

Fonte: (ZOTTIS, 2015, apud JEDLOVSZKYHAJDÚ et al.,2012, SANJAI et al.,2014, QIN et al., 2007 e XIE et al., 2011)

4.3 Comparações com gadolínio

Nos ensaios realizados, uma amostra de gadolínio com 50 ppm foi utilizada para marcar o início da distribuição das amostras. Uma comparação entre a amostra A01 e a amostra contendo o agente de contraste gadolínio deixa claro o efeito de redução do sinal nas imagens causado pelas nanopartículas superparamagnéticas (Figura 35). Observa-se uma redução acentuada para valores de TE maiores que 60ms. Imagens em ponderações T2 possuem TE maiores que 60ms e TR maiores que 650ms. Imagens com ponderação em T1 possuem baixos valores de TE e baixos valores de TR menores que 650 ms.

Figura 35 – Comparativo da intensidade de sinal do agente de contraste gadolínio e a amostra A01 para sequências variando Tempo de Eco de 10 até 120 ms para 50ppm.



Fonte: Do Autor (2019).

Isso explica a imagem com gadolínio ter um sinal mais forte em TE 10ms (ponderação T1), caracterizando um agente de contraste positivo, enquanto para a amostra A01 com TE de 120 ms (ponderação T2) a imagem apresenta um hipossinal, caracterizando um agente de contraste negativo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresentou a capacidade que as SPIONs têm de alterar a susceptibilidade magnética do tecido e, por consequência, a intensidade de sinal gerado em um exame de ressonância magnética.

Quanto às características como agente de contraste negativo para IRM envolvendo as suspensões A01, A02 e C01, comprovou-se, através dos resultados obtidos da taxa de relaxação, que as nanopartículas apresentaram o efeito de redução de sinal em sequências com ponderação T2, além de apresentarem uma taxa de relaxividade transversal elevada ($r_{2-A01} = 198,21$, $r_{2-A02} = 303,91$ e $r_{2-C01} = 217,84 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), com valores superiores ou iguais em relação às outras nanopartículas preparadas pelo mesmo método desenvolvido no trabalho do grupo Nanotec.

A Figura 35 confirma o efeito de contraste negativo em ponderações T2 com a diminuição do sinal gerado nas imagens. Com valores de TE superiores a 60 ms, pode-se observar uma queda acentuada da intensidade de sinal da amostra A01. E mesmo as amostras A02 e C01 apresentam a mesma redução com valor de TE de 60 ms (Figura 30).

Foi possível concluir que o uso das SPIONs pode ser um meio viável como meio de agente de contraste na obtenção IRM de forma que pode atender aos objetivos propostos pelo presente trabalho.

É interessante deixar claro que os resultados positivos alcançados nesse trabalho abordam apenas uma de muitas propriedades que precisam ser testadas antes do uso efetivo das nanopartículas superparamagnéticas como agentes de contraste em exames de ressonância magnética. Sua efetividade clínica como agente de contraste negativo não pode ser atestada apenas pelo estudo da redução de sinal nas imagens, testes comprovando sua segurança (toxicidade baixa) entre outros parâmetros, são de suma importância antes da liberação para uso clínico.

5.1 Sugestões para trabalhos futuros

As amostras utilizadas nesse trabalho, não foram funcionalizadas, ou seja, não possuem nenhum grupo químico funcional em sua superfície (moléculas,

polímeros, aminas, enzimas), de modo a lhes conferir as características físico-químicas desses grupos. Para trabalhos futuros sugere-se testes com SPIONs funcionalizada e com outras substâncias recobridoras, afim de estudar o efeito da funcionalização na intensidade do sinal gerado em IRM e verificar se tais amostras podem ser utilizadas como agentes de contrastes negativos em exames de imagem por ressonância magnética para serem úteis futuramente como sondas marcadoras de tumores malignos.

REFERÊNCIAS

AHMAD, T.; et al. Chitosan-coated nickel-ferrite nanoparticles as contrast agents in magnetic resonance imaging. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials** 2015, 381, 151.

AL-ABADLEH, H. A. Review of the bulk and surface chemistry of iron in atmospherically relevant systems containing humic-like substances. **RSC Advances** 2015, 5, 45785.

AMARO JUNIOR, E.; YAMASHITA, H. Aspectos básicos de tomografia computadorizada e ressonância magnética. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 23, supl. 1, p. 2-3, May 2001. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462001000500002&ng=en&nrm=iso. Acesso on 21 Oct. 2018.

ALVES, Tatiana Midori Martins Telles. **Síntese e caracterização de nanopartículas de óxidos de ferro para aplicações biomédicas**. 2007. 99f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física Gleb Wataghin, Campinas, SP. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/278299>. Acesso em: 8 ago. 2018.

BASSALO, José Maria. **Momentos Magnéticos, Ressonância Magnética Nuclear e os Prêmios Nobel de Física (PNF) de 1943, 1944 e 1952 e de Fisiologia ou Medicina (PNF/M) de 2003**. Disponível em: <http://www.searadaciencia.ufc.br/folclore/folclore211.htm>. Acesso em: 17 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Cancer - INCA (Org.). **Câncer de mama**. 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>. Acesso em: 17 nov. 2018.

CARVALHO, A., et al., Enhanced contrast efficiency in MRI by PEGylated magnetoliposomes loaded with PEGylated SPION: effect of SPION coating and microenvironment. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, (2014). 43: p. 521-6.

CARVALHO, Rui Filipe Silva.; **Nanopartículas como potenciais agentes de contraste para Imagem de Ressonância Magnética: caracterização físico-química de polioxometalatos (POMs) contendo íons lantanídeos(III) e suas nanopartículas revestidas de sílica**. 2011. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioquímica, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011. Disponível em: <https://estudogeral.uc.pt/handle/10316/19051>. Acesso em: 17 nov. 2018.

CASANOVA, Monise C. R. **Síntese, Caracterização e Estudo da Estabilidade de Nanopartículas Metálicas Estabilizadas com Polieletrólitos e Tióis**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

COSTA, T. G. et al. **Studies on Synthetic and Natural Melanin and Its Affinity for Fe(III) Ion**. Bioinorganic Chemistry and Applications, 2012.

ELIAS JUNIOR, J. et al. Complicações do uso intravenoso de agentes de contraste à base de gadolínio para ressonância magnética. **RadiolBras**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 263–267, Aug. 2008 . Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842008000400013&lng=en&nrm=iso. access on 11 June 2018.

FRANCISQUINI, E; SCHOENMAKER, J; SOUZA, J. A. **Nanopartículas magnéticas e suas Aplicações**. UFABC - Universidade Federal do ABC: São Paulo, 2015.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2010.

GONÇALVES, M.; RAMALHO, T. Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging: A Review. **Revista Virtual de Química**. 9. 2017. 10.21577/1984-6835.20170087.

HAGE, M. C. F. N. S.; IWASAKI, M. Imagem por ressonância magnética: princípios básicos. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1275-1283, July 2009. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000400051&lng=en&nrm=iso. access on 21 Oct. 2018.

JUNIOR, W. B. **Nanopartículas Magnéticas Metálicas Recobertas com Óxido de Ferro: Intensificação das Propriedades Magnéticas da Nanopartícula e Funcionalização para Aplicação em Biomedicina**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2011.

KARAM, M. A. H.. Risco de Fibrose Sistêmica Nefrogênica com o Uso de Contraste à Base de Gadolínio em Doença Renal Crônica. **J Bras Nefrol**. São Paulo, 30/1:66-71, Jan 2008. Availabre from <http://bjn.org.br/export-pdf/111/30-01-11.pdf>. Access on 21 Oct. 2018.

LAURENT, S.; Et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. **Chemical Reviews**, (2008). 108: p. 2064–2110.

LEE, S.H., et al., Paramagnetic inorganic nanoparticles as T1 MRI contrast agents. **Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol**, (2014). 6(2): p. 196–209.

LEITE, C. C. Gadolínio e fibrose nefrogênica sistêmica: novas diretrizes. **Radiol Bras**, São Paulo , v. 43, n. 2, p. IV-V, Mar. 2010 . Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/rb/v43n2/a01v43n2.pdf> . acessos em 03 nov. 2018.

_____. Gadolínio e fibrose nefrogênica sistêmica: o que todo médico deve saber. **Radiol Bras**, São Paulo , v. 40(4): IV-V, Jul - Ago. 2007 . Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/rb/v40n4/01.pdf>. acessos em 03 nov. 2018.

LI, J. et al.; T1-T2 molecular magnetic resonance imaging of renal carcinoma cells based on nano-contrast agentes. **International journal of nanomedicine** vol. 13 4607-4625. 10 Aug. 2018, doi:10.2147/IJN.S168660

- LIMA-TENÓRIO, M. K.; PINEDA, E. A. G.; AHMAD, N. M.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Magnetic nanoparticles: In vivo cancer diagnosis and therapy**. International Journal of Pharmaceutics. 2015; 493: 313–327
- MAAR, J. H.; LENARDAO, E. J.; **A contribuição brasileira de Alcindo Flores Cabral à classificação periódica dos elementos**. Sci. stud., São Paulo, v. 10, n. 4, p. 773-798, 2012. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-1662012000400008&lng=en&nrm=iso. access on 20 June 2018.
- MAMANI, J. B. et al. **Monitoramento in vivo por imagem por ressonância magnética de células C6 de glioma marcadas com nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro**. Einstein (São Paulo), São Paulo, v. 10, n. 2, p. 164-170, June 2012. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000200009&lng=en&nrm=iso. access on 10 Nov. 2018.
- MARQUES, E. F. Da nanociência à tecnologia: A realidade do futuro. **Revista de Ciência Elementar**, Porto, v. 2, n. 3, jul./ set. 2014. Disponível em: . Acesso em: 09 de jun. 2016.
- MAZZOLA, A. A.; Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional. **Revista Brasileira de Física Médica**. 2009, 3(1), p. 117-29.
- MOLINS, R. **Opportunities and Threats from Nanotechnology in Health, Food, Agriculture and the Environment**. Comunicca. Costa Rica, IICA, Fourth year; Second phase, jan, 2008.
- MUNDIM, J. S. et al. Fibrose sistêmica nefrogênica: uma complicação grave do uso do gadolínio em pacientes com insuficiência renal. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 55, n. 2, p. 220-225, 2009. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302009000200030&lng=en&nrm=iso. access on 03 Nov. 2018.
- PANTA, P. C. **Obtenção de Nanopartículas de Óxido de Ferro por Coprecipitação, sua Estabilização com Surfactantes e Caracterização quanto a Morfologia, Cristalinidade e Comportamento Magnético**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- PAVIA, D.L. et al., **Introdução à Espectroscopia**, Ed. Cengage Learning, 2010
- PEREIRA, Gabriela Cabrita;. **Preparação e caracterização de nanopartículas magnéticas como agentes de contraste para imagem por ressonância magnética**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Biomédica, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2016.
- PRODANOV, C. C.; FREITAS, E. C. **Metodologia do trabalho científico: métodos e técnicas de pesquisa e do trabalho acadêmico**. 2. ed. Novo Hamburgo/RS: Feevale, 2013. Disponível em: <http://migre.me/eqVxf>.

SCHÄFER, Thaynara Marjô Zanette. **Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de óxido de ferro (Fe₃O₄)**. 2017. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2017.

SILVA, André Luís Bonfim Bathista e. **Elementos históricos de ressonância magnética nuclear**. 2004. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/ea000238.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2018.

STEPHEN, Z.R., F.M. KIEVIT, and M. Zhang, **Magnetite nanoparticles for medical MR imaging**. *Materials Today*, (2011). 14(7–8): p. 330–338.

SIVAKUMAR, B.; ASWATHY, R.G.; NAGAOKA Y. **Multifunctional carboxymethyl cellulose-based magnetic nanovector as a theragnostic system for folate receptor targeted chemotherapy, imaging, and hyperthermia against cancer**. *Langmuir*. 2013; 29(10): 3453–3466.

SOUZA, Aryane Tofanello de;. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro para aplicações biomédicas** – um estudo citotóxico em linhagem celular de carcinoma cervical humano (células HeLa) - São José do Rio Preto : [s.n.], 2011.

REBELO, Marina de Sá. **Imagens por ressonância magnética**. São Paulo: Incor-hc Fmusp, 2018. 96 slides, color. Disponível em: http://www.incor.usp.br/sites/spdweb/wp-content/uploads/2019/02/MRI_Fisica_2007.pdf. Acesso em: 12 jun. 2019.

RIBEIRO, S. M.; AJZEN, S. A.; TRINDADE, J. C.. Comparação dos métodos de imagem no diagnóstico dos tumores renais e calcificações nestas neoplasias. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo , v. 50, n. 4, p. 403-412, dez. 2004 . Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-4230200400040031&ng=pt&nrm=iso. acessos em 13 out. 2018.

RIBEIRO, B.B.P., BISOL, T.B., ZOTTIS, A.D. **Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro estabilizadas por biopolímeros para aplicações em imagem por ressonância magnética para o diagnóstico de câncer de mama**. Sepex, 2017. IFSC

THOMAS, R., I.K. Park, and Y.Y. Jeong,. Magnetic iron oxide nanoparticles for multimodal imaging and therapy of cancer. **Int J Mol Sci**, (2013). 14(8): p. 15910-30.

THOREK, D.L., et al., Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging. **Ann Biomed Eng**, (2006). 34(1): p. 23–38.

VERGARA, S. C. **Projetos e relatórios de pesquisa em administração**. São Paulo: Atlas, 2009.

VILAÇA, M.L.C. Pesquisa e ensino: Considerações e reflexões. **Revista E-escrita**. Volume 1. Número2. Maio - Agosto de 2010. Disponível em: http://www.uniabeu.edu.br/publica/index.php/RE/article/viewFile/26/pdf_23 Acesso em: 9 de junho de 2018.

VIEIRA, S.; OLIVEIRA, L. N.; CARNEIRO, A. A.. Princípios físicos da elastografia por ressonância magnética. **Revista Brasileira de Ensino de Física**. 36. 1-15. 2014; 10.1590/S1806-11172014000200001.

ZALICH, M. A. **Physical Properties of Magnetic Macromolecule-Metal and Macromolecule-Metal Oxide Nanoparticle Complexes**. 2005. Tese 64 (Doutorado em Química) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 2005.

ZOTTIS, Alexandre Dagostini. **SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E TESTES in VITRO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE Fe₃O₄ PARA ATUAREM COMO AGENTES DE CONTRASTES NEGATIVOS T₂ PARA O DIAGNÓSTICO DE CÂNCER DE MAMA**. 2015. 203 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

ZOTTIS, A. D. et al. Pheomelanin-coated iron oxide magnetic nanoparticles: a promising candidate for negative T₂ contrast enhancement in magnetic resonance imaging. **Chem Commun (Camb)**, v. 51, n. 56, p. 11194-7, Jun 30 2015.