



**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO**

**ÁREA DE CIÊNCIAS TECNOLÓGICAS**

**Curso de Mestrado em Nanociências**

**ARGLEYDSON LEÃO DIAS**

**APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS COMO MEIO DE  
CONTRASTE EM MEDICINA NUCLEAR E TOMOGRAFIA  
COMPUTADORIZADA**

Santa Maria, RS

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**ARGLEYDSON LEÃO DIAS**

**APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS COMO  
MEIO DE CONTRASTE EM MEDICINA NUCLEAR E  
TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA**

Dissertação apresentada ao Curso de  
Mestrado em Nanociências do Centro  
Universitário Franciscano de Santa Maria  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Mestre em Nanociências.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> **Roseli Künzel**

Santa Maria, RS

2009

**CENTRO UNIVERSITÁRIO FRANCISCANO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO PESQUISA E EXTENSÃO**  
**CURSO DE MESTRADO ACADÊMICO EM NANOCIÊNCIAS**

A COMISSÃO EXAMINADORA, ABAIXO-ASSINADA, APROVA A DISSERTAÇÃO:

**APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS COMO MEIO DE**  
**CONTRASTE EM MEDICINA NUCLEAR E TOMOGRAFIA**  
**COMPUTADORIZADA**

Elaborada por:

ARGLEYDSON LEÃO DIAS

COMISSÃO EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Roseli Künzel - UNIFRA

Presidente

---

Prof. Dr. Evamberto Garcia de Góes - FURG

---

Prof Dr Rafael Noal Moresco - UFSM

Santa Maria, Março de 2009

*Dedico este trabalho a minha irmã Glória  
e aos meus pais, José e Candida,  
a quem tudo devo.*

## AGRADECIMENTOS

Dedico meus agradecimentos às todos que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho:

- ✓ A Deus, sou grato por todas as oportunidades que me foram dadas;
- ✓ Aos colegas de graduação e pós-graduação da UNIFRA, pelo incentivo, troca de saberes e amizade;
- ✓ Aos demais professores do Mestrado em Nanociências, que colaboraram na minha formação acadêmica;
- ✓ À UNIFRA pelo apoio financeiro durante minha formação;
- ✓ a Clínica Radiológica Caridade - DIX por disponibilizar seu equipamento de tomografia computadorizada para aquisição das imagens;
- ✓ Ao Físico e téc. em radiologia Valnir de Paula, pelo auxílio na aquisição das imagens em Radiologia;
- ✓ À Dra Clarissa P. Bornemann, ao Prof. Dr. Clóvis Rogério Bornemann e ao Prof. Dr. João Eduardo Oliveira Irion, pela ajuda com a análise das imagens em Medicina Nuclear;
- ✓ Aos meus familiares, pelo apoio nas minhas decisões;
- ✓ A minha namorada Aline Minuzzi Becker pelo apoio e compreensão;
- ✓ A Profa. Dra. Solange Hoezel, pela ajuda neste trabalho;
- ✓ Ao Veterinário e aluno do mestrado José Dilmar Obregon do Carmo e sua esposa Maria Ciocari do Carmo, pela ajuda no trabalho;
- ✓ À Claudia Turra pela ajuda com as imagens em MN;
- ✓ À Profa. Dra Emília Lima, pelo envio das nanopartículas;
- ✓ À Profa. Solange B. Fagan, pelos ensinamentos em simulação computacional;
- ✓ À Profa. Dra. Roseli Künzel, pela orientação, tolerância, paciência, amizade e pelos ensinamentos.

## RESUMO

As pesquisas desenvolvidas nos últimos anos evidenciam o alto potencial de aplicação de ferrofluidos em diversas áreas biomédicas. Uma das áreas de maior interesse, em particular, é o uso de nanopartículas magnéticas biocompatíveis como agentes de contraste no diagnóstico e no tratamento do câncer. Neste trabalho avaliamos a aplicação do fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com ácido dimercaptosuccínico (FM-DMSA), em meio aquoso, como meio de contraste em medicina nuclear e em tomografia computadorizada. A aplicação em medicina nuclear envolveu a realização de estudos radioquímicos e a aquisição de imagens *in vivo* de ratos. Os estudos radioquímicos revelaram que aproximadamente 31% do tecnécio permaneceu na forma livre, não se ligando totalmente ao composto FM – DMSA, comprometendo a localização do composto nos diferentes órgãos do animal. A aplicação das nanopartículas em tomografia computadorizada foi realizada utilizando-se um objeto simulador de cabeça onde foram dispostas seringas que continham diferentes volumes de FM-DMSA e iodo, diluídos em água, a fim de comparar o contraste na imagem gerada por estes dois compostos. Os resultados obtidos evidenciaram que a atenuação pelo FM-DMSA é aproximadamente cinco vezes menor que os valores obtidos para o iodo. Embora a atenuação produzida pelo composto FM-DMSA seja menor que a produzida pelo iodo, esse composto apresenta propriedades favoráveis para aplicações como meio de contraste em tomografia computadorizada, pois o seu número atômico efetivo é muito maior que o número atômico de tecidos moles e os valores de HU(Unidades de Hounsfield) produzidos na imagem estão na faixa daqueles observados para tecidos ósseos.

**Palavras chave:** nanopartículas magnéticas, medicina nuclear, tomografia computadorizada.

## ABSTRACT

The research developed in recent years shows the high potential of use of ferrofluids in biomedical applications. One major area, in particular, is the use of biocompatible magnetic nanoparticles as contrast agents in the cancer diagnostic and treatment. In this work we evaluate the application of a fluid composed by magnetic nanoparticles of magnetite stabilized by coating with dimercaptosuccinic acid (DMSA-FM) in an aqueous medium as a contrast agent in nuclear medicine and computed tomography. The application in nuclear medicine were carried out firstly performing radiochemical studies and second by performing *in vivo* images of rats. The radiochemical studies shows that about 31% of technetium remained in the free form, not bounded totally to the FM - DMSA, and so compromising the location of the compound in several organs of the animal. The application of nanoparticles in computed tomography was performed by using a head simulator object where syringes containing different amounts of FM-DMSA and iodine, diluted in water were attached in order to compare the contrast produced in the image by these two compounds. The results showed that the attenuation by the FM-DMSA is approximately five times lower than the values produced by the iodine. Although the attenuation produced by the compound FM-DMSA is less than that produced by iodine, the compound shows favorable properties for applications as a contrast agent in computed tomography, since its effective atomic number is much larger than those of soft tissues and the HU values measured at the images are in the range of those produced by bone tissues.

**Keywords:** magnetic nanoparticles, nuclear medicine, computed tomography



## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 O esquema de funcionamento de um gerador seco.....	8
Figura 3.2 O esquema de decaimento do $^{99}\text{Mo}$ / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . ....	8
Figura 3.3 A curva de decaimento do molibdênio –99 e curvas de crescimento do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , ilustrando a resposta em eluições contínuas, incluindo uma eluição parcial. A atividade relativa é plotada em escala logarítmica, por isso a curva de decaimento do $^{99}\text{Mo}$ é uma linha reta (THRALL <i>et al.</i> , 2001).....	9
Figura 3.4 Formula estrutural do DMSA.....	11
Figura 3.5 Um sistema de radiocromatografia em duas partes para controle de qualidade do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -disfosfonato (THRALL <i>et al.</i> , 2001).....	13
Figura 3.6 O esquema simplificado de uma câmara de cintilação (THRALL <i>et al.</i> , 2001). ....	14
Figura 3.7 Escala dos coeficientes de Atenuação para a formação da imagem. (CARLOS, 2004).....	18
Figura 3.8 Perfil de atenuação e de intensidade para um dado ângulo. (CARLOS, 2004) .....	18
Figura 3.9 Cada célula de uma matriz de imagem em TC é uma representação bidimensional (pixel) de um volume de tecido (voxel) (CARLOS, 2004) .....	19
Figura 3.10 Representação das etapas de formação da imagem a partir do Método da Retroprojeção Filtrada (CARLOS, 2004).....	21
Figura 3.11 Imagem do fígado demonstrando metástases. A, Ajuste de janela larga. Não são observadas metástases (seta). B, Um ajuste de janela mais apropriado que realça a presença a presença da lesão (HAAGA <i>et al.</i> , 1981) .....	24
Figura 3.12 <i>Scan</i> longitudinal (escanograma) do abdômem. A, <i>Scan</i> longitudinal típico de um <i>scanner</i> de terceira geração. B, <i>Scan</i> axial feito na localização da linha tracejada em A. A linha tracejada é a localização selecionada pelo operador na imagem longitudinal para a imagem axial (PAULA, 2004).....	24
Figura 3.13 Tomografia do tórax na altura do mediastino usado uma janela de CT=500. ....	26
Figura 3.14 Tomografia do tórax na altura do mediastino usado uma janela de CT=-850. ....	26
Figura 3.15 Diferentes tamanhos de nanopartículas e sistemas de entrega de drogas. (Fonte: ARRUEBO <i>et al.</i> , 2007).....	27
Figura 4.1 Amostra de nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA.....	30

Figura 4.2 Ilustração da altura de 1cm de solução na cuba para a realização dos estudos radioquímicos. ....	31
Figura 4.3 Ilustração das linhas de chegada e de partida na tira cromatográfica, a cor vermelha é apenas para ilustrar na imagem o local onde foi marcado com lápis. ....	32
Figura 4.4 Calibrador de Dose Mark V – Modelo 34-164 .....	33
Figura 4.5 Papel indicador de PH e a escala padrão existente da caixa da embalagem. ....	34
Figura 4.6 Amostra de iodo utilizada. ....	36
Figura 4.7 Vista superior do objeto simulador de cabeça com as seringas dispostas nos 4 orifícios externos. ....	37
Figura 4.8 Vista lateral do objeto simulador de cabeça e a disposição das seringas.....	38
Figura 4.9 Tomógrafo utilizado para aquisição das imagens. ....	38
Figura 4.10 Ilustração do posicionamento do objeto simulador no tomógrafo para aquisição das imagens. ....	39
Figura 5.1 Imagens em medicina nuclear de ratos 15 min após a administração de $^{99m}\text{Tc}$ puro. ....	43
Figura 5.2 Imagens em medicina nuclear de ratos adquiridas 15 min após a administração de DMSA - $^{99m}\text{Tc}$ . ....	44
Figura 5.3 Imagens em medicina nuclear de ratos adquiridas 15 min após a administração de nanopartículas de óxido de ferro, envoltas em DMSA - $^{99m}\text{Tc}$ .....	45
Figura 5.4 Imagem do Phantom em TC para 90kV e 200mAs para diferentes soluções de FM-DMSA, onde: (a) seringa1, 32HU, (b)seringa2, 45HU, (c)seringa3, 54HU, (d) seringa4, 59HU. ....	46
Figura 5.5 Variação do número de HU em função do volume de FM-DMSA diluído em água e da tensão aplicada ao tubo de raios X.....	47
Figura 5.6 Imagem do Phantom em TC para diferentes soluções de iodo e um regime de 90kV e 200mAs, onde: (a) seringa1, 736HU, (b)seringa2, 1122HU, (c)seringa3, 1733HU, (d) seringa4, 2976HU.....	48
Figura 5.7 Variação do número de HU em função do volume de iodo diluído em água e da tensão aplicada ao tubo de raios X. ....	49
Figura 5.8 Ilustração da variação dos valores de HU em função da concentração de ferro na amostra FM – DMSA, na tensão de 90 kV. ....	50
Figura 5.9 Ilustração da variação dos valores de HU em função da concentração de ferro na amostra FM – DMSA, na tensão de 120 kV. ....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Valores de CT para cada tecido. ....	25
Tabela 4.1 Material administrado e seus respectivos volumes e dose utilizados em cada grupo para imagens em MN. ....	34
Tabela 4.2 Volume de nanopartículas e água usada em cada seringa. ....	35
Tabela 4.3 Volume de iodo e água usada em cada seringa. ....	36
Tabela 4.4 Ilustração das técnicas usadas para a aquisição das imagens em tomografia computadorizada. ....	37
Tabela 5.1 Valores lidos no curiômetro para cada pedaço da fita cromatográfica para o composto $^{99m}\text{Tc} - \text{DMSA}$ . ....	40
Tabela 5.2 Valores lidos no curiômetro para cada pedaço da fita cromatográfica, $^{99m}\text{Tc} - \text{FM-DMSA}$ . ....	40
Tabela 5.3 Valores obtidos de porcentagem de Tecnécio livre, Colóide e Pureza. ....	41
Tabela 5.4 Valores de pH medido para cada uma das amostras. ....	41
Tabela 5.5 Contraste de cada seringa com diferentes concentrações de FM-DMSA para 90kV e 120kV. ....	46
Tabela 5.6 Contraste de cada seringa com diferentes volumes de iodo para 90kV e 120kV...	48
Tabela 5.7 Comparação entre os números de Hounsfield para as FM-DMSA extrapolados para os mesmos valores de concentração do iodo na solução, para a tensão de 120 kV .....	51
Tabela 5.8 Comparação entre os números de Hounsfield para as FM-DMSA extrapolados para os mesmos valores de concentração do iodo na solução, para a tensão de 90 kV. ....	51

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO .....</b>	<b>4</b>
2.1	Objetivo geral .....	4
2.2	Objetivos específicos .....	4
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>5</b>
3.1	Medicina nuclear.....	5
3.1.1	Decaimento Radioativo.....	6
3.1.2	O Gerador de Radionuclídeos $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ .....	7
3.1.3	Radiofármacos .....	10
3.1.4	Controle de Qualidade dos Radiofármacos.....	12
3.1.5	Câmara de Cintilação .....	13
3.2	Tomografia computadorizada (TC) .....	15
3.2.1	Formação da Imagem Tomográfica.....	16
3.2.1.1	Aquisição de dados.....	16
3.2.1.2	Reconstrução da imagem .....	18
3.2.1.3	Apresentação da Imagem .....	21
3.2.2	Manipulação da Imagem, Pós-processamento .....	21
3.2.3	Manipulação da Imagem em TC.....	23
3.2.4	Unidade de Haunsfiel.....	25
3.3	Fluidos magnéticos .....	26
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>30</b>
4.1	Nanopartículas magnéticas .....	30
4.2	Preparação do radiofarmaco e imagens em MN .....	31
4.2.1	Controle Radioquímico.....	31
4.2.2	Avaliação do pH das Amostras.....	33
4.2.3	Testes <i>In-vivo</i> .....	34
4.3	Contraste em tomografia computadorizada .....	35
4.3.1	Preparação das Amostras .....	35
4.3.2	Aquisição de Imagens em Tomografia Computadorizada.....	36
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>40</b>

5.1	Preparação do radiofarmaco e imagens em MN .....	40
5.1.1	Controle radioquímico .....	40
5.1.2	PH das amostras .....	41
5.1.3	Testes <i>in-vivo</i> .....	42
5.1.4	Imagens de biodistribuição do radioisótopo $^{99m}\text{Tc}$ .....	42
5.1.5	Imagens de biodistribuição do radiofármaco DMSA - $^{99m}\text{Tc}$ .....	43
5.1.6	Biodistribuição do fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA ligado ao $^{99m}\text{Tc}$ .....	44
5.2	Contraste em tomografia computadorizada .....	45
<b>CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS .....</b>		<b>52</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>		<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente as imagens médicas desempenham um papel fundamental na prática da medicina moderna. Várias modalidades de imagens podem ser empregadas para obter informações metabólicas, funcionais ou anatômicas como auxílio para um diagnóstico médico adequado. Dentre as diversas modalidades, a medicina nuclear e a tomografia computadorizada têm se destacado por fornecer imagens que contemplam importantes informações diagnósticas.

A medicina nuclear emprega fontes abertas de radiação com finalidade diagnóstica ou terapêutica. Os radionuclídeos são incorporados aos compostos químicos ou fármacos, sem ação farmacológica, que possuem características bioquímicas, fisiológicas ou metabólicas favoráveis para fins de diagnóstico (SAHA, 2001). O fármaco serve como um vetor para conduzir o radioisótopo até os órgãos e tecidos do corpo que são objetos de estudo. O radiofármaco ao ser administrado ao paciente irá se agregar a um dado órgão ou tecido e o radioisótopo por meio de decaimentos radiativos, emitirá radiação gama( $\gamma$ ) que será registrada por uma câmara de cintilação, localizada externamente ao corpo do paciente. Aproximadamente 95% dos fármacos usados em medicina nuclear são marcados com o radionuclídeo  $^{99m}\text{Tc}$ . A ampla utilização deste radioisótopo se deve ao fato deste elemento não emitir radiação corpuscular (prótons, elétrons, partículas alfa), ser de fácil obtenção, emitir radiação  $\gamma$  de espectro monoenergético com energia de 140 keV, e a possibilidade de formar complexos com vários agentes químicos (SAHA, 2001, CHANDRA, 2004). É importante que o radiofármaco esteja distribuído preferencialmente no órgão a ser estudado, uma vez que a captação em regiões adjacentes pode comprometer a visualização dos detalhes morfológicos e estruturais da região de interesse. Um radiofármaco deve possuir características de captação e registro apropriadas a fim de fornecer um diagnóstico adequado com a menor dose de radiação possível para o paciente.

A tomografia computadorizada é uma das técnicas de imagens médicas mais empregadas atualmente na prática clínica. É um método de diagnóstico rápido, as imagens são obtidas em frações de segundos, fornece informações anatômicas, e com o avanço das técnicas de imagens, permite obter também informações fisiológicas. Ao contrário da radiologia convencional, onde existe a superposição das estruturas analisadas, na tomografia computadorizada a imagem obtida corresponde a uma secção transversal da região de

interesse no corpo do paciente, sem a interferência das estruturas que não estão contidas no plano de corte. Uma imagem produzida em um equipamento de tomografia computadorizada é apresentada na forma de fatias finas do corpo, obtidas a partir de múltiplas medidas de absorção de raios X por meio de detectores posicionados externamente ao corpo do paciente (WOLBARST, 2005).

O contraste da imagem em tomografia computadorizada (TC) depende de como as diferentes estruturas no corpo do paciente absorvem os raios X incidentes. A interação do feixe de raios X com os tecidos que compõem a região de interesse no corpo do paciente depende principalmente da densidade e do número atômico dos mesmos. Tecidos que possuem baixo número atômico e baixa densidade absorvem menos a radiação e são responsáveis pelas tonalidades mais escuras na imagem. Por outro lado, tecidos que possuem alta densidade e alto número atômico absorvem mais a radiação incidente e são responsáveis pelas regiões mais claras nas imagens tomográficas. No entanto, em alguns casos, as estruturas a serem analisadas possuem densidade e número atômico muito semelhante, e por isso, tornando-se necessário a utilização de meios de contraste. Os meios de contraste usados, em radiologia, são substâncias radiopacas que permitem a diferenciação na imagem produzida entre tecidos normais e tecidos com patologias vascularizadas (HENWOOD, 2003; DOYON, 2004). A eficácia de um meio de contraste, para aplicação em tomografia diagnóstica, não depende apenas das propriedades farmacológicas de suas moléculas constituintes, mas principalmente da sua capacidade em atenuar a radiação.

Nas diversas modalidades de diagnóstico, além da preocupação com o desenvolvimento de detectores e sistemas de imagens mais sensíveis existe também a preocupação para o desenvolvimento de novos tipos de agentes de contraste, com o propósito de aumentar a sensibilidade e a eficácia no diagnóstico de patologias específicas (MATSUURA *et. al*, 2008). Atualmente, as nanoestruturas se apresentam como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos tipos de agentes de contraste para aplicação em todas as modalidades clínicas de imagens médicas, incluindo a ressonância magnética, a tomografia computadorizada, ultrason e medicina nuclear (GOULD P., 2004 (a); LESLIE *et al*, 2005; GOULD P., 2006 (b); GALPERIN *et. al*, 2007; VALOIS *et al*, 2008)

Atualmente tem se pesquisado muito sobre as Nanopartículas Magnéticas para aplicações biomédicas. As nanopartículas, devido ao seu tamanho ( $\sim 10^{-9}$  m), possuem a capacidade de transpor as barreiras biológicas e físicas a que estão sujeitos os fármacos administrados pelos métodos convencionais. Elas possuem algumas características muito

interessantes como: uma grande área superficial em relação ao seu volume, possibilidade de recobri-las com diversos tipos de ligantes específicos e são capazes de formar monodomínios magnéticos (LACAVA *et al*, 2004). Uma nanopartícula, com tamanho típico menor que 50nm, pode facilmente penetrar na maioria das células, enquanto que aquelas menores que 20nm podem atravessar vasos. Dessa forma, as nanopartículas podem interagir com biomoléculas tanto na superfície da célula quanto no seu interior (BRIGGER *et al*, 2002). Além disso, as nanopartículas têm a capacidade de aumentar a captação do fármaco encapsulado pelas células e protegê-lo da degradação. Acredita-se que a aplicação da nanotecnologia no diagnóstico do câncer permitirá a localização do tumor mesmo quando este ainda estiver restrito a uma única célula.

As nanopartículas magnéticas têm se apresentado como um excelente meio de contraste em ressonância magnética, principalmente na aquisição de imagens de fígado. No entanto, o fluído magnético é recoberto com DMSA (ácido 2-3dimercaptosuccinico), que é um fármaco usado para a aquisição de imagens renais em medicina nuclear. Além disso, o fluído magnético possui alta concentração de ferro, que possui um número atômico elevado. Essas características indicam a possibilidade de aplicação das nanopartículas magnéticas como meio de contraste em tomografia computadorizada e medicina nuclear (MN).

O trabalho está estruturado da seguinte forma:

1. na unidade 2 estão apresentados os objetivos deste trabalho.
2. na unidade 3 estão apresentados os conceitos teóricos fundamentais relacionados ao objeto de estudo deste trabalho, onde serão abordados os conceitos básicos envolvidos com a formação da imagem em medicina nuclear e tomografia computadorizada, bem como as características das nanopartículas magnéticas.
3. na unidade 4 estão descritos os procedimentos experimentais envolvidos no processo de aquisição das imagens *in vivo* em medicina nuclear. Estão descritos também os procedimentos experimentais usados para a aquisição em TC para diferentes concentrações de nanopartículas e energias de feixe.
4. na unidade 5 estão apresentados os resultados e a discussão.
5. na unidade 6 estão apresentados as conclusões e as perspectivas de realizações de estudos futuros.



## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a aplicação de nanopartículas magnéticas encobertas com DMSA como meios de contraste em medicina nuclear e em TC.

### 2.2 Objetivos específicos

O propósito da aplicação em medicina nuclear é avaliar a possibilidade de ligação das nanopartículas ao radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ , assim como a sua utilização na aquisição de imagens *in vivo*.

A aplicação das nanopartículas magnéticas em tomografia computadorizada teve como propósito avaliar a atenuação da radiação em função da energia dos fótons e da concentração de nanopartículas na amostra.

Além disso, a eficiência na atenuação da radiação pela nanopartículas magnéticas será comparada aos resultados obtidos com o iodo, que é o meio de contraste padrão usado em tomografia computadorizada.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo apresentaremos as bases teóricas da medicina nuclear, da tomografia computadorizada e as propriedades das nanopartículas magnéticas, as quais podem ser utilizadas para veicular e potencializar a distribuição de fármacos.

#### 3.1 Medicina nuclear

A descoberta dos raios X em 1895 por Wilhem Conrad Roentgen representou uma enorme contribuição para o avanço da ciência médica, o que lhe concedeu um prêmio Nobel em 1901. Um ano após a descoberta dos raios X por Roentgen, Henri Becquerel descobre a radioatividade natural, e, em 1913, Georg de Hevesy introduziu o conceito de marcador radioativo, recebendo com este o prêmio Nobel em 1943, o qual é utilizado atualmente e é o princípio da prática em medicina nuclear. A partir deste período iniciaram-se diversas pesquisas relacionadas à utilização de radionuclídeos no diagnóstico médico. O primeiro mapeador retilíneo foi desenvolvido em 1950 por Benedict Cassen, o qual foi modificado por David Kuhl, em 1952.

O primeiro scanner de corpo inteiro foi desenvolvido, no ano de 1951, pelo físico H. Anger. Nos anos 60, uma série de diferentes versões de câmaras de cintilação foram propostas, contudo, o aprimoramento e a sofisticação da Medicina Nuclear começaram nos anos 70, com o uso de cristais com diâmetros maiores e com a técnica de emissão tomográfica proposta por Dave Khull, em 1971. Nessa mesma época, o físico George Hounsfield inseriu a técnica de tomografia computadorizada. No fim dos anos 70, gama câmaras tomográficas do tipo SPECT (*single photon emission computed tomography*) foram desenvolvidas por R. Jaszczak e começaram a se tornar conhecidas nos diversos serviços de medicina nuclear (CASTRO *et al.*, 2000).

A medicina nuclear é uma especialidade médica que emprega técnicas seguras e indolores para formar imagens do corpo e tratamento de patologias. A medicina nuclear é singular por mostrar dados anatômicos e funcionais dos órgãos, ao contrário da radiologia, que tipicamente mostra apenas a estrutura anatômica dos órgãos. Os exames de medicina nuclear podem detectar precocemente anormalidades na função ou estrutura de um órgão do corpo. Esta detecção precoce permite que determinadas enfermidades sejam tratadas nos

estágios iniciais, quando existe uma maior chance de prognóstico bem sucedido e recuperação do paciente.

A formação das imagens diagnósticas tem como base os processos de interação da radiação com os tecidos biológicos. Na medicina nuclear as imagens são formadas a partir dos raios gamas emitidos pelo radioisótopo agregado ao órgão de interesse no corpo do paciente. Os radiofármacos consistem basicamente de um radioisótopo, que permite o rastreamento através do uso de detectores de radiação, ligado a um fármaco, que por sua vez é responsável pela especificidade do traçador. A interferência diagnóstica é obtida a partir da avaliação temporal e espacial da distribuição do material radioativo. A farmacocinética dos radiotraçadores e a captação seletiva pelos tecidos são as bases do seu uso no diagnóstico.

Atualmente a maioria das imagens diagnósticas em medicina nuclear são realizadas com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$  ligado a um fármaco específico para cada órgão. O  $^{99m}\text{Tc}$  é obtido a partir do processo de decaimento isomérico do  $^{99}\text{Mo}$  e possui uma meia-vida de 6 horas. A sua ampla utilização deve-se ao fato de ser um emissor de radiação gama monoenergética com energia de 140 keV, que corresponde a uma região onde o detector da câmara de cintilação possui uma alta eficiência de detecção. Além disso, esse radioisótopo é de fácil aquisição, não emite nenhum tipo de radiação corpuscular (partículas alfa ou elétrons), e pode ser facilmente ligado a diferentes compostos químicos.

### 3.1.1 Decaimento Radioativo

A radiatividade, descoberta em 1896 por Henri Becquerel, é um processo pelo qual um núcleo instável pode emitir espontaneamente partículas alfa, partículas beta ( $\beta^+$ ,  $\beta^-$ ), raios  $\gamma$  e neutrinos até atingir uma configuração estável entre o número de nêutrons e o número de prótons (SIMON *et al*, 2003). Para uma amostra radiativa que contém um número  $N$  de átomos radiativos de um dado radionuclídeo, o número de átomos que se desintegram durante um certo tempo é proporcional ao número de átomos radioativos da amostra (SIMON *et al*, 2003):

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N \quad (1)$$

Onde  $N$  é o número de átomos radioativos presentes na amostra no instante  $t$  e  $\lambda$  é a constante de decaimento radiativo que possui unidades de 1/segundo. O termo  $dN_t/dt$  expressa a variação do número de átomos no intervalo de tempo. A integral da equação (1) fornece (SIMON *et al*, 2003):

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (2)$$

Onde  $N_0$  é o número de elétrons radioativos no instante de tempo  $t = 0$ .

A meia vida de uma amostra radiativa é definida como o tempo necessário para que o número de átomos de uma amostra decaia a metade do seu valor em  $t = 0$  e é expressa como:

$$T_{1/2} = 0,693/\lambda \quad (3)$$

A meia-vida de diferentes isótopos pode variar de milhões de anos até frações de segundos. De acordo com a equação (3), quanto mais longa for a meia-vida física, menor será a constante de decaimento. Na medicina nuclear a maioria dos radionuclídeos tem meia-vida de horas ou dias, tempo suficiente para serem enviados do local de produção ao hospital, para que possam marcar os radiofarmacos e permitir a imagem. O uso de radioisótopos com meia-vida menor só é possível se houver ciclotrons ou aceleradores especiais juntos aos locais de utilização.

A relação entre o número de átomos de uma amostra radiativa e a sua atividade é dada por (SIMON *et al*, 2003):

$$A = \lambda N \quad (4)$$

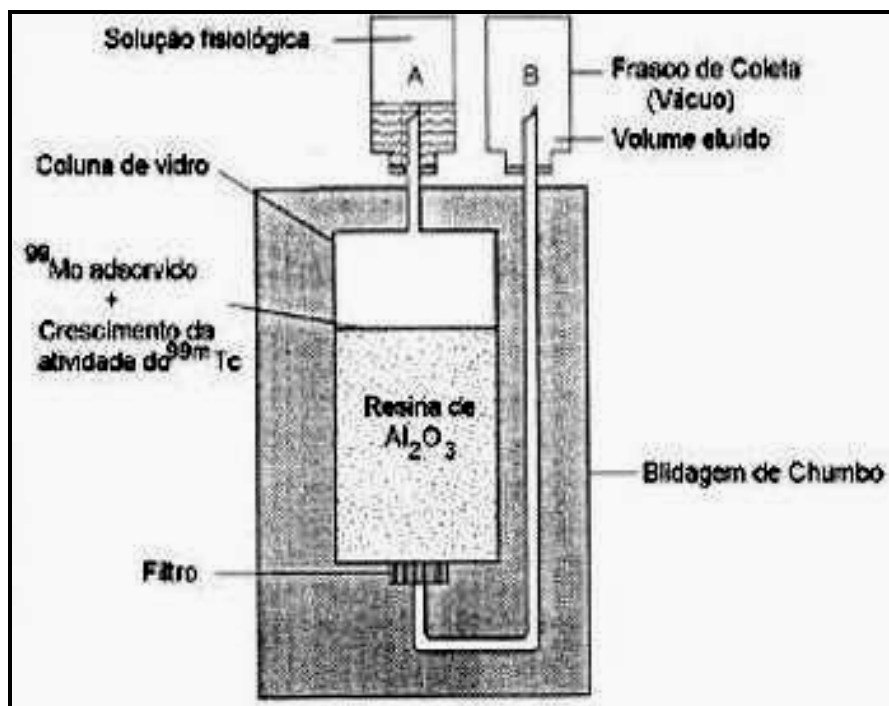
As unidades de atividade são o Curie, que é a unidade original, e o Becquerel, definido pelo Sistema Internacional de unidades (SI), e podem ser relacionados por:

$$1 \text{ Ci} = 3,7 \times 10^{10} \text{ desintegrações/segundo} = 3,7 \times 10^{10} \text{ Bq.}$$

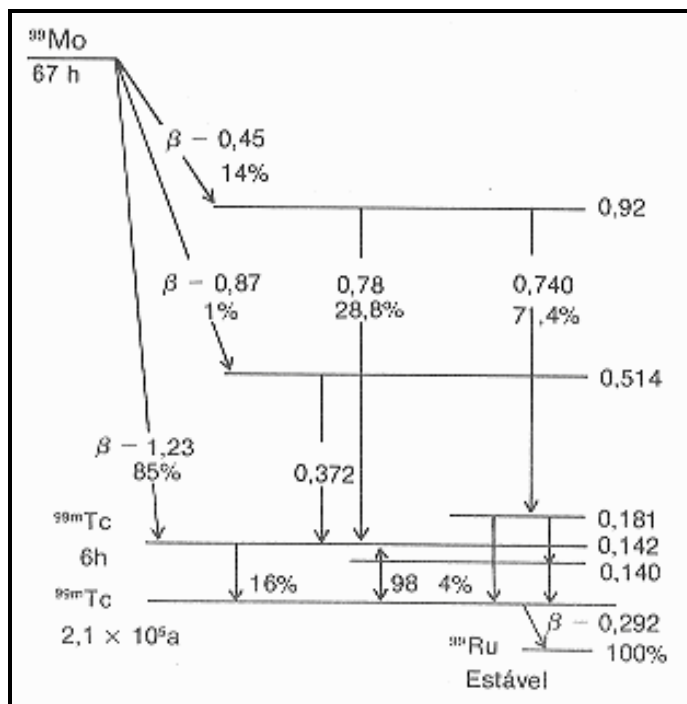
### 3.1.2 O Gerador de Radionuclídeos $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$

Os radioisótopos naturais possuem meia vida muito longa e, portanto não devem ser usados para aplicações médicas. Os radioisótopos usados em medicina nuclear são produzidos artificialmente em aceleradores ciclotrons, reatores nucleares ou geradores de radionuclídeos. O elemento  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  é obtido a partir de um sistema de gerador de radionuclídeos  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

A Figura 3.1 ilustra o princípio de funcionamento de um gerador. O gerador de tecnécio é constituído por uma coluna de alumina impregnada com  $^{99}\text{Mo}$ . O  $^{99}\text{Mo}$  possui meia vida de 66 horas e decai para o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , com meia vida de 6 horas, por meio de um decaimento  $\beta^-$  (Figura 3.2) e é descrito pela equação 2.



**Figura 3.1** O esquema de funcionamento de um gerador seco.



**Figura 3.2** O esquema de decaimento do  $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

O crescimento radiativo do  $^{99m}\text{Tc}$  pode ser representado pela seguinte expressão (HENDEE et. al, 2002):

$$N_2 = (N_2)_0 e^{-\lambda_2 t} + \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_0 (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) \quad (5)$$

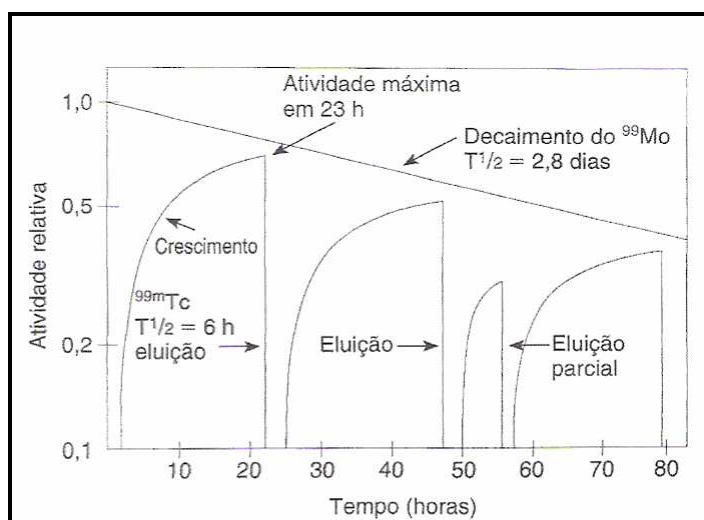
Onde:

$N_0$  é o número de átomos do nuclídeo-pai ( $^{99}\text{Mo}$ ) no tempo  $t=0$

$\lambda_1$  é a constante de decaimento do nuclídeo-pai

$\lambda_2$  é a constante de decaimento do nuclídeo-filho ( $^{99m}\text{Tc}$ )

$(N_2)_0$  é o número de átomos do nuclídeo-filho no tempo  $t=0$



**Figura 3.3** A curva de decaimento do molibdênio –99 e curvas de crescimento do  $^{99m}\text{Tc}$ , ilustrando a resposta em eluições contínuas, incluindo uma eluição parcial. A atividade relativa é plotada em escala logarítmica, por isso a curva de decaimento do  $^{99}\text{Mo}$  é uma linha reta (THRALL et al, 2001).

O equilíbrio transiente entre o nuclídeo-pai ( $^{99}\text{Mo}$ ) e nuclídeo-filho ( $^{99m}\text{Tc}$ ) é atingido quando as atividades do  $^{99}\text{Mo}$  e do  $^{99m}\text{Tc}$  são aproximadamente iguais. A Figura 3.3 mostra a relação entre o decaimento do  $^{99}\text{Mo}$  e o máximo de crescimento do  $^{99m}\text{Tc}$ , atingido 23 horas depois de ocorrer a eluição. Após ocorrer a eluição o equilíbrio radioativo se dá novamente num intervalo de vinte e três horas. Pode-se realizar, no entanto, eluições parciais sem estar no estado de equilíbrio. O que permite a obtenção de eluições com diferentes concentrações radioativas de  $^{99m}\text{Tc}$ .

A extração do  $^{99m}\text{Tc}$  é feita passando-se uma solução salina estéril e apirogênica da coluna de alumina do gerador (Figura 3.1). O  $^{99m}\text{Tc}$  tem pouca afinidade com a alumina e é

rapidamente incorporado e passa a ser uma solução de pertecnetato ( $^{99m}\text{TcO}_4$ ) em alta concentração radioativa e com meia-vida física de seis horas, a coluna é fechada nas extremidades e duas agulhas de aço inoxidável permitem a entrada e a saída do líquido eluente, que é conduzido do frasco no qual vem acondicionado para o frasco coletor (Figura 3.1). O  $^{99}\text{Mo}$  não é solúvel na solução salina e permanece na alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ).

O  $^{99m}\text{Tc}$  é um elemento do Grupo VIIB, ele possui 7 elétrons na última camada e perde os 7 elétrons para assumir estado de oxidação +7 ( $Z=43$ ,  $1s^2$ ,  $2s^2$ ,  $2p^6$ ,  $3s^2$ ,  $3p^6$ ,  $4s^2$ ,  $4p^6$ ,  $3d^{10}$ ,  $4d^6, 5s^1$ ). Em solução aquosa seu grau de oxidação varia de (-I) a (+VII), sendo que os estados VII, IV e III são estáveis em presença de água, outros estados de oxidação são mais estáveis em presença de ligantes específicos. A forma mais estável em solução aquosa é  $\text{TcO}_4^-$  (VII): a química deste metal de transição pode ser considerada a partir deste íon.

### 3.1.3 Radiofármacos

A substância radioativa introduzida no paciente (por via intravenosa, oral, ou inalação) num exame de medicina nuclear chama-se radiofármaco. Um radiofármaco é constituído por um agente químico (fármaco) marcado por um radionuclídeo. O agente químico deve ser específico para um órgão ou compartimento, preferivelmente com uma captação diferenciada para tecidos normais e patológicos. Em alguns casos, o próprio radionuclídeo serve também como agente. É o caso dos isótopos radioativos do iodo  $^{131}\text{I}$  e  $^{123}\text{I}$ , que são utilizados em exames de tireóide e dispensam o fármaco para sua vetorização.

Um radiofármaco é usado na maioria dos casos para obter informações diagnósticas e única e não deve produzir efeitos farmacológicos sendo administrado em dose única. A grande vantagem da capacidade diagnóstica em MN encontra-se na variedade dos radiofármacos. Os melhores são aqueles que mostram a fisiologia ou a fisiopatologia do sistema em estudo. Os radiofármacos têm uma propriedade muito desejável, a de não perturbar a função dos órgãos, ao contrário de outros tipos de drogas diagnósticas.

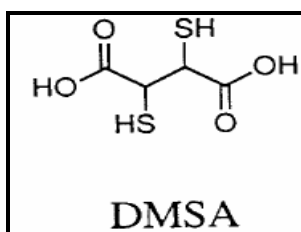
Os radiofármacos estão classificados em radiofármacos de perfusão (ou 1ª geração) e radiofármacos específicos (ou 2ª geração) (DILWORTH *et al.*, 1998). Os radiofármacos de perfusão são transportados no sangue e atingem o órgão alvo na proporção do fluxo sanguíneo. Não têm locais específicos de ligação e pensa-se que são distribuídos de acordo

com tamanho e carga do composto. Os radiofármacos específicos são direcionados por moléculas biologicamente ativas, como, por exemplo, anticorpos e peptídeos, que se ligam a receptores celulares ou são transportados para o interior de determinadas células. A capacidade da biomolécula reconhecer os receptores vai determinar a fixação do radiofármaco no tecido pretendido e não deverá ser alterada com a incorporação do radionuclídeo (JURISSON *et al.*, 1999; FICHNA *et al.*, 2003).

Um dos radiofármacos mais utilizados em MN é o ácido dimercaptosuccínico (DMSA, Figura 3.4) marcado com  $^{99m}\text{Tc}$ , no estado de oxidação III, ( $\text{Tc-}^{99m}\text{-DMSA}$ ). Este radiofármaco é usado para a obtenção de imagens renais em SPECT, entretanto, o mesmo composto com estado de oxidação V é considerado o traçador ideal no diagnóstico do câncer medular de tireóide, tumores em tecidos moles, de tumores de pescoço e cabeça, osteosarcomas e tumores ósseos.

O processo de marcação do DMSA com  $\text{Tc}^{99m}$  ocorre por complexação, que é uma atração eletrostática entre um íon e um agente quelante, neste caso o DMSA representado na figura 2.4, de modo que não há transferência de elétrons entre estes. Quanto às cargas, a estrutura final terá como carga a somatória das cargas individuais de cada participante do complexo.

O agente quelante é qualquer estrutura da qual façam parte dois ou mais átomos possuidores de pares de elétrons não utilizados em ligações químicas primárias, mais sim usados como ímãs eletrostáticos para se prenderem a íons metálicos.



**Figura 3.4** Formula estrutural do DMSA.

A captação renal do complexo  $^{99m}\text{Tc-DMSA}$  após administração por via intravenosa é cerca de 24% da dose administrada, após 1 hora, acumulando-se parte nos sítios distal e proximal do córtex e em extensão na medula renal, glomérulo, túbulos coletores e vasos sanguíneos.

Sua ligação nos rins é provavelmente devido à sua ligação a metalotioneína, uma proteína ligante de metais pesados que possui cerca de 50 grupos mercapto por molécula. A

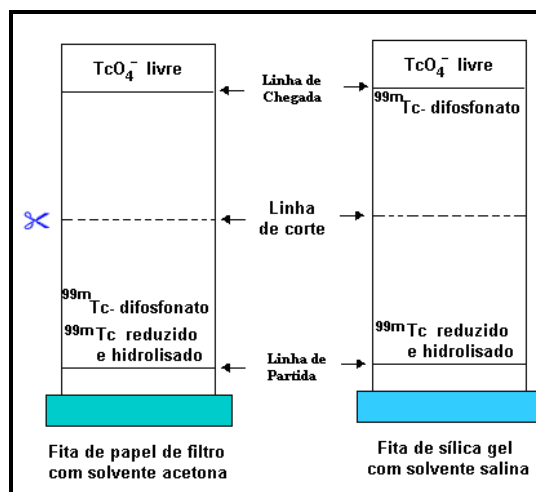


filtração glomerular do complexo é insignificante, já que se apresenta, em grande extensão (75-90%) ligada às proteínas plasmáticas. Apresenta uma liberação renal lenta, com aproximadamente 37% da dose injetada excretada em 24 horas.

#### 3.1.4 Controle de Qualidade dos Radiofármacos

A química difícil do  $^{99m}\text{Tc}$  ressalta a importância de checar o produto final quanto à pureza radioquímica, que é definida como a percentagem do total da radioatividade que se encontra na forma radioquímica desejada. Por exemplo, se 5% da atividade de  $^{99m}\text{Tc}$  permanece livre na forma de pertecnetato de sódio, podemos dizer que a pureza radioquímica é de 95%, assumindo que não há outras impurezas. Cada radiofármaco tem uma pureza radioquímica específica, segundo os requisitos da USP ou da FDA (*Food and Drug Administration*), tipicamente de 90%. As causas de impurezas radioquímicas são: marcação inicial pobre, radiólise, decomposição, mudança de pH, exposição à luz ou presença de agentes oxidantes ou redutores (THRALL *et al.*, 2001).

Em diversos radiofármacos a presença de impureza radioquímica pode ser reconhecida pela alteração da biodistribuição, no entanto é muito importante identificar a preparação incorreta antes de ser injetada no paciente. Alguns sistemas foram desenvolvidos para testar a pureza radioquímica. O teste mais básico é a cromatografia em camada delgada, com grande diversidade de produtos disponíveis no mercado. A radiocromatografia é realizada da mesma forma que a cromatografia convencional. Para radiofármacos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$ , faz-se o teste para pesquisar a presença de pertecnetato livre, reduzido e hidrolisado insolúvel. Por exemplo, o pertecnetato migra para a linha de chegada com o solvente (na cromatografia de camada delgada, usando acetona como solvente) enquanto o  $^{99m}\text{Tc}$ -difosfonato e o  $^{99m}\text{Tc}$  reduzido e hidrolisado permanecem na origem. Para pesquisa seletiva de  $^{99m}\text{Tc}$  reduzido e hidrolisado, usa-se preferencialmente fita de sílica gel com solução salina (NaCl) como solvente. Neste sistema, tanto o pertecnetato quanto o  $^{99m}\text{Tc}$ -difosfonato migram para a linha de chegada, enquanto o  $^{99m}\text{Tc}$  reduzido e hidrolisado permanece na linha de partida, ver Figura 3.5. A combinação destes dois procedimentos permite a avaliação individualizada de cada um dos três componentes.



**Figura 3.5** Um sistema de radiocromatografia em duas partes para controle de qualidade do  $^{99m}\text{Tc}$ -disfosfonato (THRALL *et al.*, 2001).

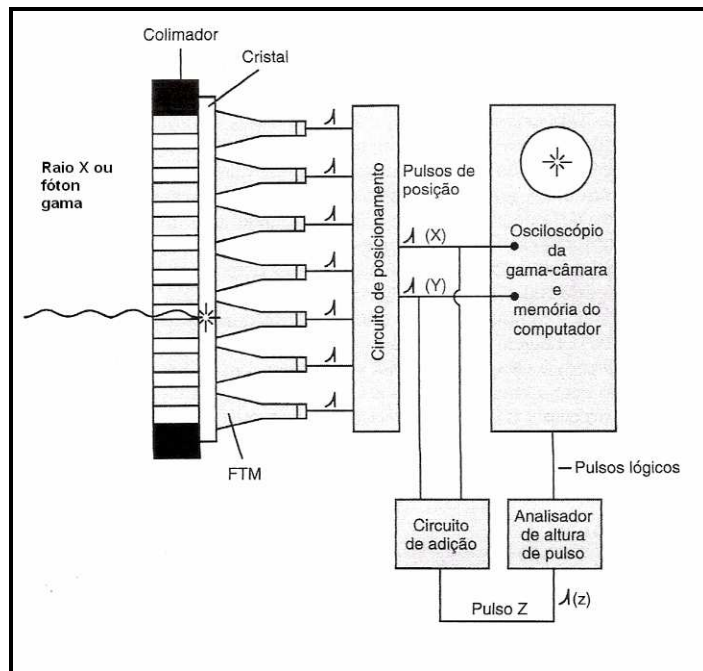
### 3.1.5 Câmara de Cintilação

A câmara de cintilação, ou gama câmara, consiste no instrumento de obtenção de imagens mais utilizado na MN. Ela também é chamada de câmara Anger em homenagem a Hal O. Anger. As gamas câmaras podem ser usadas para a aquisição de imagens dinâmicas ou imagens estáticas da área de interesse no paciente (SAHA, 2001).

Uma câmara de cintilação é composta pelo colimador, cristal de iodeto de sódio dopado com tálio ( $\text{NaI(Tl)}$ ), acoplamento óptico, conjunto de tubos fotomultiplicadores (FTM), circuitos de pré-processamento de sinais, blindagens radioativas e magnéticas (Figura 3.6). Os equipamentos modernos dispõem de unidades de aquisição e processamento de imagens completamente microprocessadas que permitem obter imagens planares e tomográficas de alta qualidade.

Para que haja uma correlação entre o ponto de interação no cristal e a região em que ocorre a emissão da radiação no interior do corpo do paciente, é necessário selecionar entre todas as direções em que os raios  $\gamma$  são emitidos, aquelas de interesse. Essa função pertence aos colimadores. A maioria dos colimadores são compostos de uma liga metálica de chumbo e tungstênio. A espessura dos septos (aberturas por onde passa a radiação) depende da energia da radiação emitida pelo radioisótopo. A função dos colimadores é absorver os fótons espalhados, isto é, aqueles raios  $\gamma$  que incidirem no cristal segundo uma trajetória inadequada são absorvidos pelo colimador e, portanto, não atingirão o cristal. Deste modo, os

colimadores estabelecem uma relação biunívoca entre a posição de emissão dos raios  $\gamma$  e a posição em que estes interagem com o cristal de NaI(Tl).



**Figura 3.6** O esquema simplificado de uma câmara de cintilação (THRALL *et al.*, 2001).

O cristal de NaI(Tl) tem por função transformar os raios  $\gamma$  em luz visível. A dopagem com tálio é utilizada para que os fótons de luz produzidos no cristal estejam na faixa de comprimentos de onda do visível. Os tubos fotomultiplicadores e os dispositivos eletrônicos captam a radiação do local de origem gerando mapas da distribuição da radioatividade no corpo do paciente, as imagens. Os tubos fotomultiplicadores (FTM) são opticamente acoplados ao cristal de NaI(Tl) a fim de evitar perdas do sinal produzido na interface. Além disso, transformam os fótons de luz em corrente elétrica e amplificam o sinal. Posteriormente, o sinal é processado por um circuito de posicionamento para calcular as coordenadas de  $x$  e  $y$  e o pulso  $Z$ . A determinação da posição em que ocorreu a cintilação no interior do cristal de NaI(Tl) é realizada analisando-se a altura de cada pulso gerado pelos vários tubos fotomultiplicadores acoplados ao cristal. O pulso  $Z$  é então relacionado com a janela de energia pré-definida pelo analisador de altura de pulsos. O dispositivo eletrônico responsável por essa análise é o analisador de altura de pulso (PHA - *Pulse Height Analyser*). Sua função consiste em comparar a altura do pulso  $Z$  proveniente dos tubos fotomultiplicadores com as referências internas da câmara de cintilação, obtidas por meio de calibrações. A escolha, pelo operador, da energia de fotopico e do percentual de tolerância na variação da mesma (janela)

é transformada em níveis de tensão no PHA, o que permite a seleção do pulso Z gerado por cada raio  $\gamma$  que incide no cristal. Se o evento for aceito, ele será gravado espacialmente na localização determinada pelos pulsos  $x$  e  $y$  (THRALL *et al.*, 2001). O sinal é então enviado para um computador onde a imagem pode ser processada e analisada.

### 3.2 Tomografia computadorizada (TC)

A TC é uma técnica radiodiagnóstica recente que foi descoberta no ano de 1972 por Hounsfield, na Inglaterra, inicialmente aplicada somente para explorações cerebrais, hoje seu uso se estende para todas as regiões do corpo. Ela é uma técnica não invasiva de exame de estruturas internas do corpo, produzindo uma imagem bi-dimensional chamada corte *slice*, que revela a distribuição espacial destas estruturas. Na obtenção das imagens tomográficas, os raios X atravessam o objeto ao longo de diferentes caminhos e direções, resultando numa imagem que apresenta as diferenças nas densidades das estruturas ao longo destes caminhos, como um corte bidimensional do objeto (corte axial) (GARCIA,1998). Cada corte representa uma certa espessura finita (determinada pelas condições de imageamento). Os cortes podem ser agrupados numa série de fatias equidistantes para produzir um mapa contínuo e tridimensional das variações de densidade no objeto.

A TC contribuiu fortemente para os avanços tecnológicos no campo do diagnóstico por imagem. Os fatores decisivos para isso foram: aperfeiçoamentos na geração de raios X e seus métodos de detecção, a transformada de Randon e o desenvolvimento dos computadores. Uma das vantagens da TC é que a imagem obtida é uma secção transversal do paciente, sem a interferência das estruturas não contidas no plano de corte ao contrário da radiografia convencional onde existe a superposição das estruturas analisadas no filme radiográfico. Uma imagem de TC é uma apresentação na forma de uma fatia fina do corpo desenvolvida por múltiplas medidas de absorção de raios X feitas ao redor da periferia do corpo (DOUGLAS, 2002).

O equipamento de TC utiliza, basicamente, uma fonte de raios X, um conjunto de detectores e um poderoso sistema computadorizado para adquirir e apresentar imagens do corpo humano. O método de formação dos tomogramas “cortes transversais” computadorizados é bem mais complexo do que a imagem radiográfica convencional.

### 3.2.1 Formação da Imagem Tomográfica

O processo de formação de imagem tomográfica (TC) é bastante complexo, bem mais que a imagem radiográfica convencional. Pode-se dividi-lo em 3 fases: a) aquisição de dados, b) reconstrução matemática da imagem e, c) formação e apresentação da imagem.

#### 3.2.1.1 Aquisição de dados

Também conhecida como fase de varredura ou explosão. Tem início com a exposição de uma região do corpo a um feixe de raios X, colimado na forma de um leque fino. Os fótons que atravessam o corpo posicionado no centro da varredura atingem um conjunto de detectores, posicionados diametralmente opostos ao tubo de raios X. Os detectores individualmente recebem apenas a projeção da seção em análise no determinado ângulo de visão. Um “raio” em TC é uma estreita e pequena parte do feixe de raios X que sai do ponto focal e intercepta um único elemento detector. A leitura do sinal do detector é proporcional à intensidade da radiação, portanto o sinal gerado no detector é uma medida da atenuação do feixe ao longo do caminho percorrido por ele. Ao atravessar um corpo a radiação é atenuada exponencialmente. O ponto chave em tomografia é determinar a atenuação ao longo do caminho percorrido pela radiação em diferentes ângulos e usar esta informação para reconstruir uma imagem da fatia do tecido. A atenuação depende da densidade atômica efetiva (átomos/volume), número atômico Z do absorvedor e da energia dos fótons. A atenuação da radiação pode ser expressa por:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (6)$$

Onde I é a intensidade transmitida,  $I_0$  é a intensidade não atenuada, x é a espessura do objeto, e  $\mu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) é o coeficiente de atenuação linear. O coeficiente de atenuação linear, para um feixe de radiação monoenergético, pode ser obtido como:

$$\mu = (1/x) \cdot (\ln I_0/I) \quad (7)$$

Em tomografia os valores de I e  $I_0$  são conhecidos (medidos pelos detectores), x também é conhecido, pode-se então calcular o valor de  $\mu$ .

O coeficiente de atenuação linear  $\mu$  é o parâmetro do material que descreve a redução da intensidade da radiação por unidade de comprimento da intensidade de um feixe de raio X que atravessa um meio o material [HAAGA *et al.* , 1981]. Para fótons na faixa de energia usada no diagnóstico em tomografia ( $< 150$  keV) e para materiais biológicos, existem três processos responsáveis pela interação da radiação com a matéria.

O primeiro mecanismo é a absorção fotoelétrica, que é importante para fótons de baixas energias ou para núcleos de alto Z (número atômico). Nesse tipo de interação o fóton é completamente absorvido por um átomo do material, sendo em seguida ejetado um elétron acompanhado em geral pela emissão de um raio X característico (CARLOS, 2004).

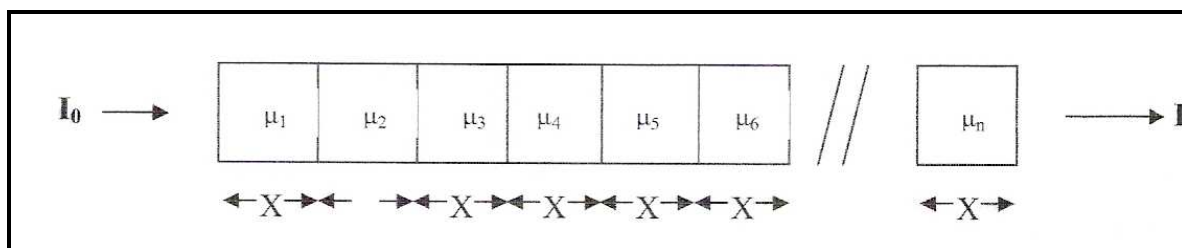
O segundo mecanismo é o espalhamento Rayleigh e é importante somente para fótons de baixa energia (menor que 20 keV). Neste tipo de interação no ocorre transferência de energia para o meio material, o fóton é desviado da sua direção original por um pequeno ângulo.

O terceiro mecanismo é o espalhamento Compton, que é predominante para fótons de alta energia. Isto se deve principalmente a uma diminuição da seção de choque fotoelétrica com o aumento das energias. Na água, por exemplo, os processos fotoelétricos somam cerca de 95% das interações para fótons de 10keV, enquanto que a 60 keV, 93% das interações se devem ao espalhamento Compton. Como em tomografia os feixes de radiação possuem energia superior a 20 keV a atenuação da radiação pode ser atribuída principalmente aos efeito fotoelétrico e espalhamento. A atenuação total pode ser descrita por,

$$I = I_0 e^{-(\mu_p + \mu_c) x} \quad (8)$$

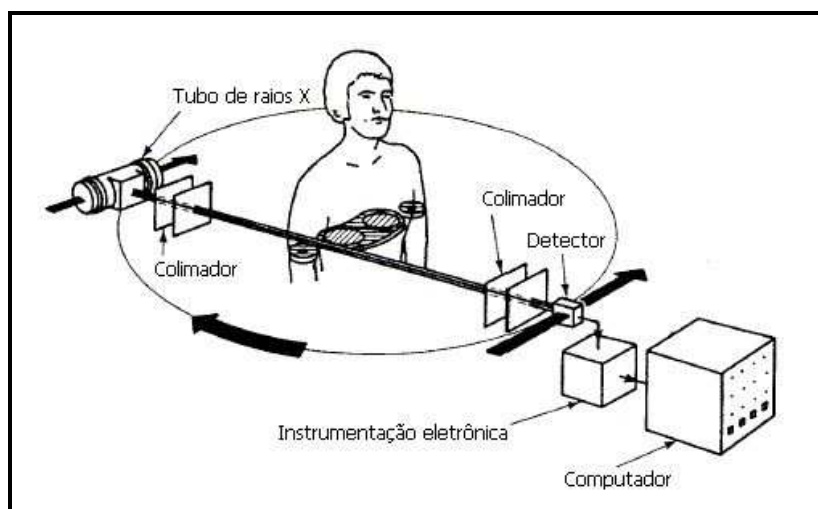
Onde  $\mu_p$  é o coeficiente de atenuação linear resultante da absorção fotoelétrica e  $\mu_c$  é o coeficiente de atenuação linear resultante do efeito Compton. Em razão do perfil de corte ser composto de tecidos diferentes, a seção de corte é dividida em pequenas regiões de mesmo comprimento X, ao longo do caminho percorrido pela radiação, cada região é caracterizado pelo seu coeficiente médio de atenuação linear (Figura 3.7).

Os dados da projeção são usados para a reconstrução da imagem. O objetivo real desta etapa é calcular os coeficientes de atenuação em cada ponto (pixel) no objeto,  $\mu_{(x,y)}$ , com base nos coeficientes de atenuação lineares através do objeto em diferentes direções.



**Figura 3.7** Escala dos coeficientes de Atenuação para a formação da imagem. (CARLOS, 2004)

Uma projeção é composta por um conjunto de medidas de atenuação dos raios X, denominado "perfil de atenuação". Para produzir a imagem é necessário um conjunto de perfis de atenuação obtidos em diferentes ângulos de projeção. Estes dados são obtidos pela rotação do tubo de raios X em torno da seção do corpo. Durante a rotação, as leituras dos detectores são registradas em intervalos fixos de tempo (ver figura 3.8). O ângulo mínimo de varredura necessário para obter a imagem através do mapeamento dos coeficientes lineares de atenuação da seção é  $180^\circ$ . O número total de medições de atenuação durante a varredura de corte é dado pelo produto de número de projeções e o número de raios por projeção. Cada imagem requer cerca de 100.000 a 1.000.000 medições (CARLOS, 2004), dependendo do modelo do tomógrafo e da técnica selecionada.

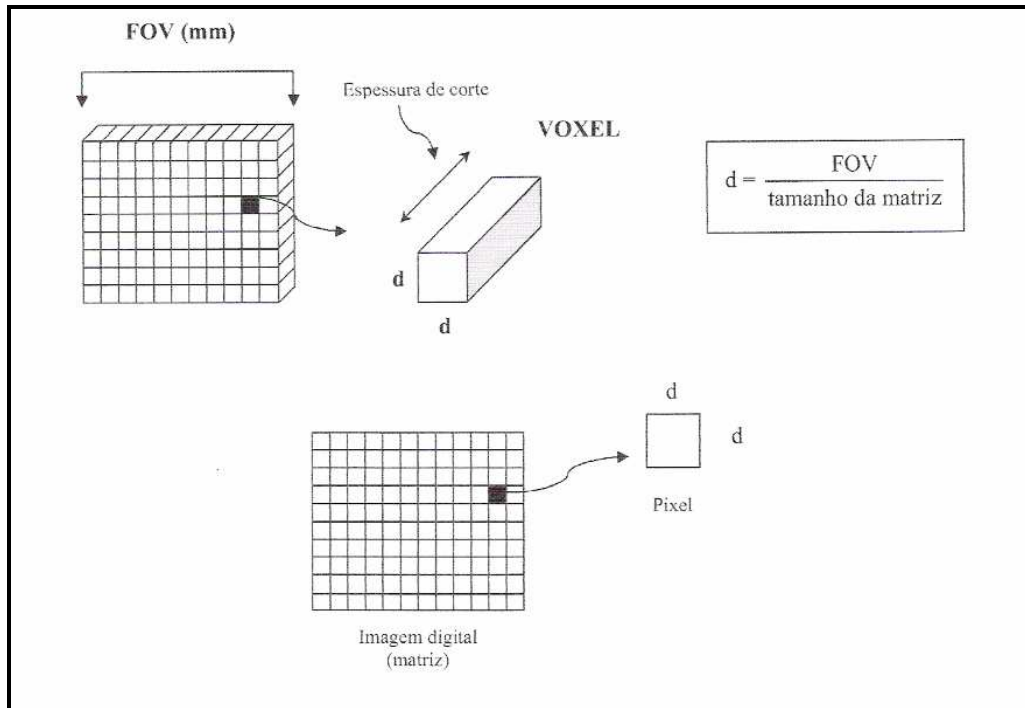


**Figura 3.8** Perfil de atenuação e de intensidade para um dado ângulo. (CARLOS, 2004)

### 3.2.1.2 Reconstrução da imagem

A seção analisada do objeto de natureza tridimensional é dividida em *voxels* (elementos de volume), e cada *voxel* é representado na matriz de reconstrução

bidimensional por um *pixel* (contração da expressão inglesa *picture element*, ou elemento de imagem). A altura do *voxel* é a própria espessura do corte, e a base é estabelecida pela razão entre o campo de visão e o tamanho da matriz. O campo de visão (FOV) é o diâmetro máximo da imagem reconstruído, selecionado pelo operador. A matriz de reconstrução, que possui valores fixos, é em geral, de 512 x 512 ou de 1024 x 1024 *pixels*, dependendo das características de cada tomógrafo. Essas quantidades estão representadas na Figura 3.9.



**Figura 3.9** Cada célula de uma matriz de imagem em TC é uma representação bidimensional (pixel) de um volume de tecido (voxel) (CARLOS, 2004)

Algoritmos matemáticos transformam os dados brutos em imagem numérica ou digital. Na TC cada elemento de matriz recebe um valor numérico, denominado de número de TC. O número de TC em cada *pixel* está relacionado ao coeficiente linear médio de atenuação ( $\mu_t$ ) do voxel que ele representa. O número de TC é definido por:

$$N^{\circ} \text{ TC} = \frac{\mu_t - \mu_w}{K}, \quad (12)$$

onde  $\mu_t$  é o coeficiente de atenuação do tecido medido,  $\mu_w$  é o coeficiente de atenuação da



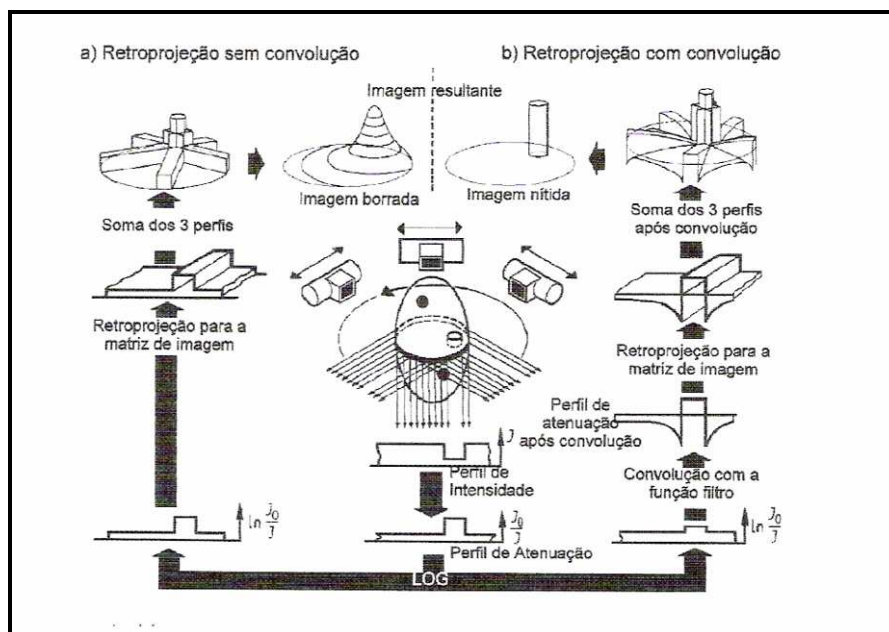
água, e  $K$  é uma constante ou fator de contraste. Se a unidade utilizada é a de Hounsfield (UH),  $K$  assume o valor 1000. Os números de TC são estabelecidos com base em uma referência relativa, no caso com a água. O número de TC para a água por definição é 0 (zero). Para tecidos menos densos do que a água o valor do número de TC é negativo, para tecidos mais densos é positivo. O número de TC de um material depende da composição química e densidade do material e da energia média dos fótons incidentes.

O coeficiente de atenuação linear ( $\mu$ ), entre outros fatores, depende da energia da radiação. Por exemplo, o coeficiente de atenuação linear para a água a 60 keV, 84 keV, e 122 keV vale, respectivamente,  $0,206 \text{ cm}^{-1}$ ,  $0,180 \text{ cm}^{-1}$ , e  $0,166 \text{ cm}^{-1}$  (CARLOS, 2004). Em TC usam-se tensões em torno de 120 kV e alta filtragem, produzindo uma energia média dos fótons entre 50 e 70 keV. As razões para isto são:

1. Reduzir a dependência do coeficiente com a energia do fóton.
2. Reduzir o contraste relativo entre osso e tecidos moles.
3. Produzir um alto fluxo de fótons no detector.

Há vários métodos matemáticos para a reconstrução de imagens de TC: Métodos Iterativos (Técnica de Reconstrução Algébrica, Mínimos Quadrados Iterativo, Técnica de Reconstrução Iterativa Simultânea), Retroprojeção pura, Retroprojeção filtrada e Transformada de Fourier. O método da retroprojeção filtrada é quase exclusivamente usado. O método de retroprojeção consiste em superpor os sinais projetados do perfil de atenuação para trás, ao longo da direção em que os dados de projeção foram coletados.

Na Figura 3.10 ilustramos a formação da imagem a partir de três das muitas projeções realizadas na varredura real. É possível observar uma silhueta borrada do objeto. Com um número muito maior de projeções, o borrão permanece devido à contribuição dos prolongamentos dos perfis que caem fora da imagem do detalhe analisado. Para evitar o borrão as projeções são pré-processadas e submetidas a uma convolução com uma função filtro, antes da retroprojeção (b). O filtro matemático também é conhecido por "kernel", isto é núcleo. A convolução produz sinais que contêm componentes positivas e negativas, que se cancelam na retroprojeção. Há diferentes filtros matemáticos disponíveis que são selecionadas de acordo com a necessidade clínica.



**Figura 3.10** Representação das etapas de formação da imagem a partir do Método da Retroprojeção Filtrada (CARLOS, 2004)

### 3.2.1.3 Apresentação da Imagem

O computador calcula os números de TC, que podem ser visualizados como imagem numérica, mas a imagem é mais útil ao radiologista se convertida em tons de cinza. A fase final é a conversão da imagem digital em uma imagem de vídeo, para que possa ser diretamente observada em um monitor de TV e posteriormente documentada em filme.

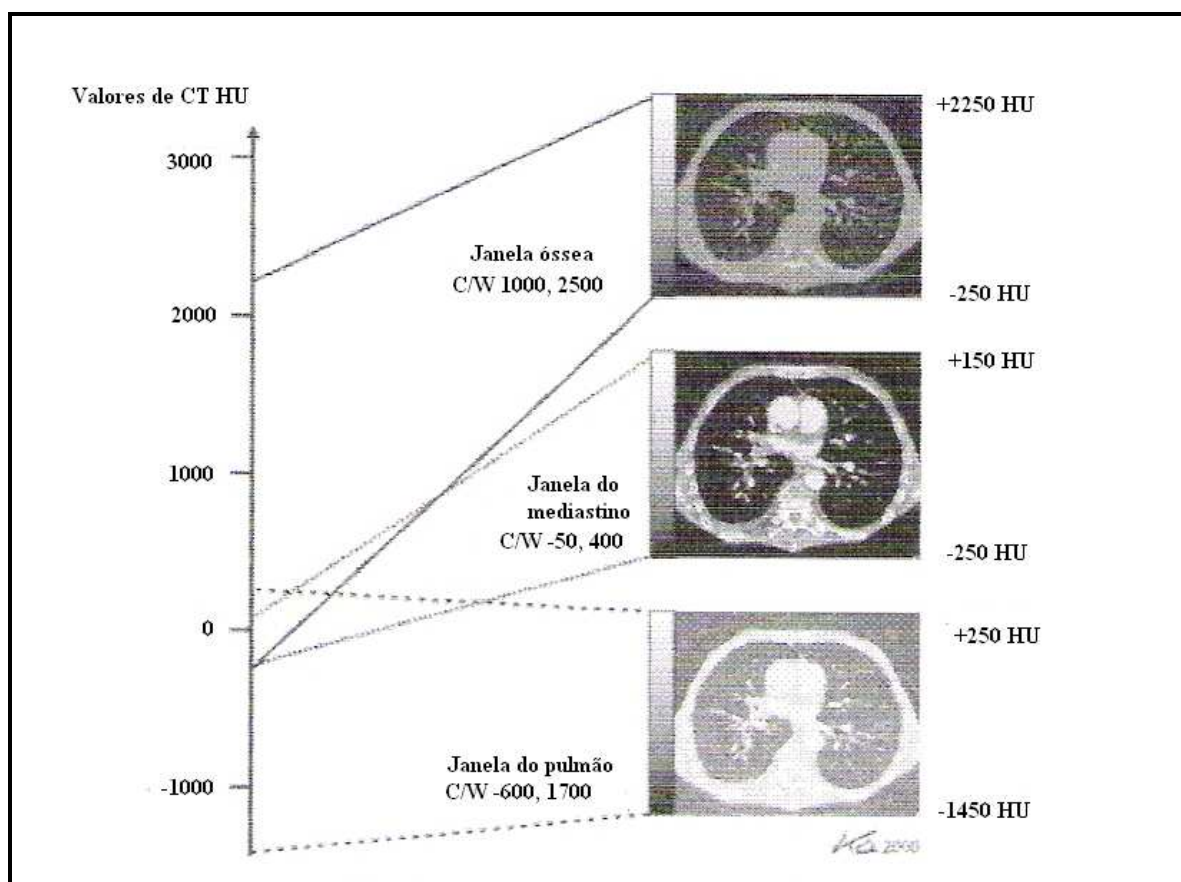
### 3.2.2 Manipulação da Imagem, Pós-processamento

A manipulação de imagem pertence ao domínio do processamento digital de imagem, e pode-se defini-la como: "os processos que modificam uma imagem ou um conjunto de imagens para melhorar a visualização da informação útil". A manipulação da imagem é um processo que não produz qualquer informação adicional, ou seja, o conteúdo na imagem processada é sempre menor ou igual aquele na imagem original.

Um conceito importante na manipulação da imagem é o de "janela". A janela em TC refere-se à técnica pela qual manipula-se a escala de cinza da imagem, ao selecionar a faixa dos números de TC da imagem numérica que será mostrada em tons de cinza. Os

limites da faixa podem ser alterados pelo observador a fim de fornecer uma visualização otimizada das estruturas de interesse, variando-se o contraste entre elas. A seleção da janela é realizada por meio de dois dispositivos de controle, a largura da janela (WW - *Window Width*) e o centro da janela (WL - *Window Level*) (CARLOS, 2004). A largura da janela determina a faixa de números de TC que será apresentada em tons de cinza no monitor, portanto determina o contraste da imagem. O centro da janela corresponde ao número de TC que será mostrado em tom de cinza médio. O centro é escolhido aproximadamente como o valor médio do número de TC das estruturas de interesse. Este procedimento é ilustrado na Figura 3.11.

Tanto WW quanto WL são modificados para que a imagem possa ser ajustada de acordo com tecido de interesse e a necessidade do observador. Como exemplo, se o tecido de interesse é osso, o WW deve incluir os maiores números de TC na escala, por outro lado, se as estruturas de interesse contêm ar, os números de TC devem ser mais baixos na escala.



**Figura 3.11** Janela em TC: a seleção dos parâmetros determina o contraste da imagem (CARLOS, 2004).

### 3.2.3 Manipulação da Imagem em TC

Vários aspectos de manipulação são incorporados em *scanners*, porém o mais importante, sem dúvida é a capacidade de variar o nível e o número de tons de cinza na imagem. Via de regra o olho humano não pode perceber diferenças de contraste menores que cerca de 10% enquanto que os *scanners* de TC podem facilmente demonstrar diferenças menores que 1%. Assim a pequena diferença de resolução de densidade medida pelo *scanner* de TC deve ser exagerada para permitir que o radiologista a veja. Isso é realizado com um “écran de visualização interativo”, que permite ao técnico ou radiologista selecionar uma pequena faixa de tons de cinza de toda a escala de número TC e reajustar os limites de preto e branco. Por exemplo, os números TC de tecidos hepáticos situam-se aproximadamente na faixa de 40 a 90 UH em uma escala de Hounsfield de  $\pm 1.000$ . Se uma parte da escala com um número TC igual a 40 UH ou menor é estabelecida como preto, e um número TC igual a 90 UH ou maior é estabelecido como branco, então a escala de visualização é de 50 UH, e toda a faixa de tecidos hepáticos cobre uma faixa de contraste de 100% (PAULA, 2004).

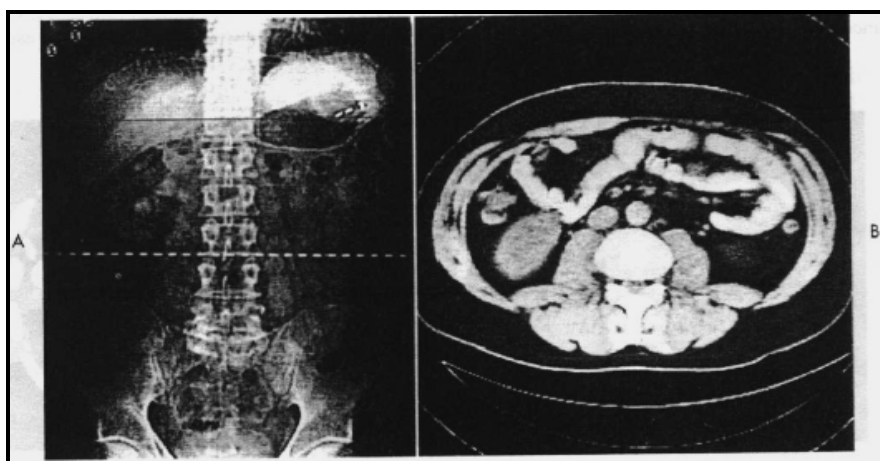
Agora, uma alteração de densidade de 10 UH na escala original, que representa uma alteração de contraste de 1% real, é convertida em uma alteração de contraste de 20% (10/50) na faixa ajustada. Isso produz um grande aumento do contraste visual. A faixa de números TC selecionados para amplificação da escala de cinza é denominada *largura da janela* e geralmente pode ser selecionada em *scanners* de 1 a toda a escala. (No ajuste de um todos os pixels são pretos ou brancos) (HAAGA *et al.*, 1981). A posição nesta escala, onde a imagem é centralizada, é denominada *nível da janela*. Na Figura 3.11 é mostrada uma imagem do fígado com diferentes ajustes da janela. A importância da exibição interativa e da escolha de ajustes é demonstrada neste exemplo, observando-se que em janelas largas as metástases hepáticas não são visualizadas.



**Figura 3.11** Imagem do fígado demonstrando metástases. A, Ajuste de janela larga. Não são observadas metástases (seta). B, Um ajuste de janela mais apropriado que realça a presença a presença da lesão (HAAGA *et al.*, 1981)

Outro aspecto importante é o uso do *scan* longitudinal (escanograma). Neste procedimento, o tubo é estacionário e a imagem é concluída movendo-se o paciente entre o tubo e o detector para produzir uma imagem que se assemelhe a uma imagem de radiografia convencional. Com a maioria dos *scanners* modernos, o tubo pode ser fixado em um dentre vários ângulos para produzir imagens sagitais, coronais, laterais ou oblíquas.

O uso freqüente do *scan* longitudinal é para ajudar no posicionamento do paciente para obter o corte exato necessário. O operador observa o *scan* longitudinal, seleciona a localização exata e a inclinação do *gantry* para obter o efeito desejado, e coloca o cursor do computador naquela localização e inclinação; o *scanner* então, automaticamente, move o paciente para a posição correta e obtém a imagem (Figura 2.12).



**Figura 3.12** *Scan* longitudinal (escanograma) do abdome. A, *Scan* longitudinal típico de um *scanner* de terceira geração. B, *Scan* axial feito na localização da linha tracejada em A. A linha tracejada é a localização selecionada pelo operador na imagem longitudinal para a imagem axial (PAULA, 2004).

### 3.2.4 Unidade de Haunsfiel

O coeficiente de atenuação linear média  $\mu_t$  de cada pixel é comparado com o coeficiente da água,  $\mu_a$ , definindo o número CT:

$$CT = 1000(\mu_t - \mu_a) / \mu_a \quad (13)$$

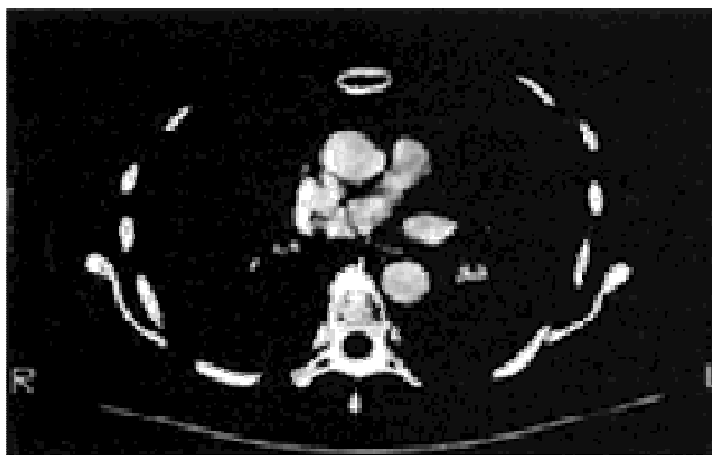
A água é utilizada como referência porque seu coeficiente de atenuação é similar ao dos tecidos moles, e é um material fácil de obter para calibrar os aparelhos. O coeficiente 1000 é utilizado para obter números inteiros.

O número CT, ou coeficiente de Hounsfield, é definido como -1000 para o ar e 0 para a água, Tabela 3.1. Para os tecidos em geral, ele depende da energia do feixe empregado. Por exemplo, para 80 keV, se o coeficiente de atenuação linear típico de ossos é de  $0,38 \text{ cm}^{-1}$ , e da água  $0,19 \text{ cm}^{-1}$ , o número CT dos ossos é de +1000. Pode ser ainda maior para ossos corticais. Estes valores também variam de aparelho para aparelho, já que os coeficientes dependem da distribuição de energia do feixe. A radiação observada,  $I$ , está relacionada com a radiação na fonte,  $I_0$ , por  $I = I_0 e^{-\mu x}$

**Tabela 3.1** Valores de CT para cada tecido.

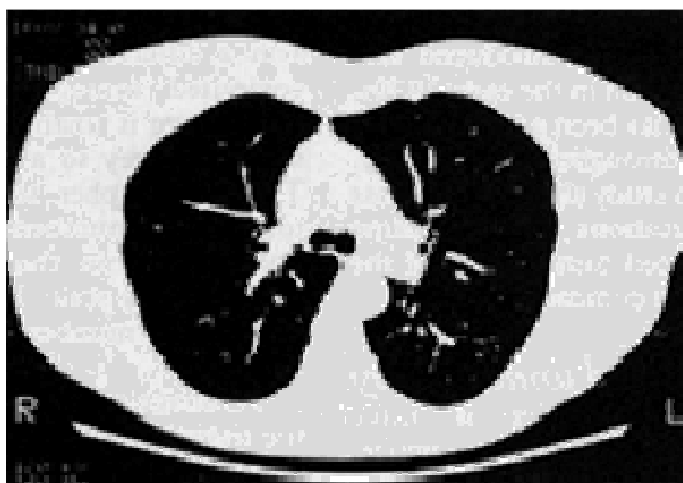
<b>Tecido</b>	<b>CT</b>
Ar	-1000
Pulmão	-900 a -400
Gordura	-110 a -65
Água	0
Rim	30
Sangue normal	35 a 55
Sangue coagulado	80
Músculo	40 a 60
Fígado	50 a 85
Ossos	130 a 250

Por convenção, altos valores de CT são imageados como branco, e baixo como preto. Como o olho humano não pode distinguir os milhares de coeficientes, utilizamos a técnica de janelas (windowing), para graficar somente os valores em uma certa faixa. Por exemplo, uma tomografia do tórax na altura do mediastino, usa uma janela de  $CT=500$ , com níveis de -211 a 289, em intervalos de 39, Figura 3.13. Os pulmões, que têm CT muito menor, são escuros.



**Figura 3.13** Tomografia do tórax na altura do mediastino usado uma janela de CT=500.

Para observar os pulmões, usamos uma janela de CT=-850, em níveis muito mais baixo, próximo de -1000, e o mediastino fica completamente branco, Figura 3.14.

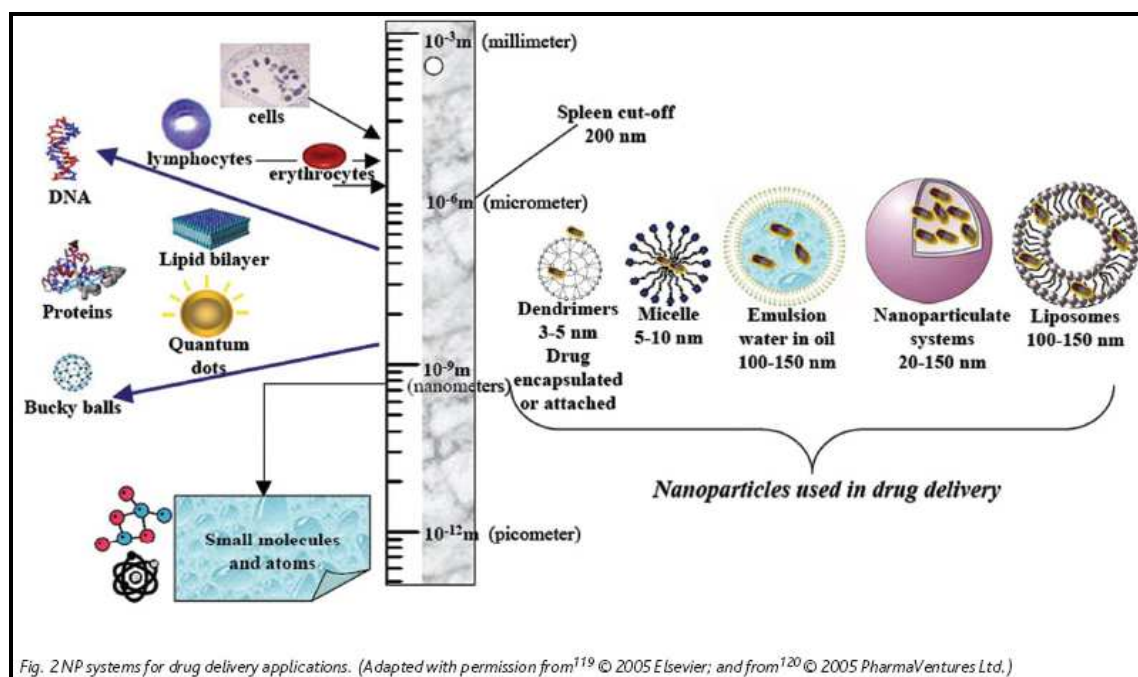


**Figura 3.14** Tomografia do tórax na altura do mediastino usado uma janela de CT=-850.

### 3.3 Fluidos magnéticos

Os fluidos magnéticos são dispersões constituídas de nanopartículas magnéticas por uma camada molecular estabilizante, como, por exemplo, ácido cítrico, ácido poliaspártico, dextran e DMSA, num solvente carreador orgânico ou inorgânico (HALBREICH et al., 1998; MASSART, 1982). As nanopartículas magnéticas possuem tamanhos controláveis da ordem de poucos nanômetros, o que as coloca em dimensões menores ou comparáveis às de células (10–100  $\mu\text{m}$ ), vírus (20–450 nm), proteínas (5–50 nm) ou genes (2 nm de largura e 10–100 nm de comprimento), Figura 3.15, e as torna adequadas às aplicações que envolvam entidades

biológicas dessa ordem de grandeza, Elas podem ser sintetizadas a partir de várias ferritas cúbicas, cuja composição geral é  $MFe_2O_4$ , onde o M representa um metal divalente que pode ser cobalto, magnetita, manganês, níquel ou zinco (SUN et al., 2004). Dentre estes, nanopartículas de magnetita ( $Fe_3O_4$ ), com tamanho entre 4 e 15 nm, são frequentemente utilizadas para obtenção de soluções coloidais (denomina-se solução coloidal toda a mistura homogênea constituída de partículas com tamanho médio entre 1 a 100nm) estáveis em meio fisiológico (MASSART, 1982; SUN *et al.*, 2004)



**Figura 3.15** Diferentes tamanhos de nanopartículas e sistemas de entrega de drogas. (Fonte: ARRUEBO *et al.*, 2007)

Nos fluidos magnéticos, a interação da nanopartícula magnética com o solvente carreador é forte o bastante para que o comportamento magnético das nanopartículas seja transmitido para a dispersão como um todo (MASSART, 1982; ROSENSWEIG, 1985). Esta propriedade, juntamente com o fato da camada estabilizante permitir que outros agentes, como por exemplo, anticorpos ou quimioterápicos, sejam associados às nanopartículas magnéticas, tem despertado o interesse de vários centros de pesquisa no que se refere ao emprego de tais dispersões para o diagnóstico e tratamento de patologias (BERKOVISKY *et al.*, 1993)

Estudos demonstraram a aplicabilidade dos fluidos magnéticos na condução de fármacos para alvos específicos no organismo, empregando-se magnetos externos



(MAINARDES; SILVA, 2004). Já com a associação dos fluidos magnéticos à hipertermia, uma nova modalidade terapêutica está sendo desenvolvida, a magnetohipertermia. Nesta terapia um campo magnético é utilizado para induzir a vibração das nanopartículas magnéticas e, por conseguinte, o aumento da temperatura leva à lise e à morte da célula alvo (ITO et al., 2004). Um outro emprego dos fluidos magnéticos é na magnetoforese, processo pelo qual ocorre a separação de células por meio de um campo magnético (DA SILVA et al., 1997). Os fluidos magnéticos podem ser utilizados ainda como agentes de contraste em exames de imagem por ressonância magnética (WEISSLEDER *et al.*, 1990).

Aliado a isso, a possibilidade da utilização dos fluidos magnéticos para estimular a migração transendotelial dos leucócitos em modelos animais de inflamação pulmonar tem sido relatada na literatura (AZEVEDO et al., 2004; CHAVES, 2002; CHAVES *et al.*, 2005; GARCIA, 2005). Chaves, em 2002, demonstrou, por meio de análise em microscopia de luz e ressonância magnética, que o Fluido Magnético contendo nanopartículas magnéticas recobertas por DMSA (FM-DMSA) apresenta, nas primeiras vinte e quatro horas após a sua administração endovenosa, distribuição preferencial para o pulmão, onde desencadeia um quadro inflamatório de moderado a severo, caracterizado pela migração transendotelial dos leucócitos para o parênquima pulmonar. Tais achados foram confirmados posteriormente por Azevedo e colaboradores, em 2004. De forma semelhante, Chaves e colaboradores, em 2005, observaram, por meio de imunohistoquímica, que o processo inflamatório desencadeado pelo FM-DMSA é acompanhado pelo aumento dos níveis de expressão da citocina interleucina-1 (IL-1 ) no pulmão. Esses mesmos autores discutiram ainda que a expressão de tal citocina pode estar relacionada com o estímulo pró-migratório induzido pelo FM-DMSA. Já Garcia, em 2005 avaliando os efeitos subcrônicos e crônicos do FM-DMSA no período de até noventa dias após a sua administração endovenosa, relataram que a migração dos leucócitos pode se estender pelo parênquima pulmonar e alcançar o epitélio de alvéolos e brônquios; e que, por conseguinte, o FM-DMSA pode servir como um modelo de estudo *in vivo* para a análise concomitante da migração transendotelial e transepitelial dos leucócitos no pulmão. Já no que se refere aos outros fluidos magnéticos, estudos demonstraram que a distribuição preferencial para o pulmão encontrada com o FM-DMSA não se aplica para as demais dispersões também constituídas por nanopartículas magnéticas de magnetita, mas com diferentes coberturas estabilizantes (CHAVES, 2002; GARCIA, 2005). Garcia, em 2005, discutiu que o comportamento biológico dos fluidos magnéticos muda de acordo com a finalidade que a sua cobertura apresenta em relação aos diferentes tecidos do organismo. Desta maneira, vale a

pena ressaltar que, até o momento, apenas o FM-DMSA apresentou um comportamento interessante no ponto de vista do emprego dos fluidos magnéticos como um agente estimulador da migração transendotelial dos leucócitos em modelos animais de inflamação pulmonar.

Enfim, para essas e inúmeras outras aplicações nas áreas de medicina e biologia, as características e comportamentos peculiares das nanopartículas magnéticas têm muitas vantagens a oferecer. Cabe à comunidade científica aprimorar cada vez mais os métodos de sínteses desses materiais a fim de obter as melhores amostras com as melhores respostas magnéticas possíveis, pois assim se pode diminuir a quantidade de material utilizado e, conseqüentemente, os possíveis efeitos deletérios que qualquer material estranho ao corpo humano pode produzir.

## 4 METODOLOGIA

Neste capítulo descreveremos as abordagens metodológicas utilizadas neste trabalho, as quais envolvem o estudo da interação do fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA (FM-DMSA) com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$  e a eficiência dessas nanopartículas em atenuar a radiação quando usadas como meios de contraste em tomografia computadorizada.

### 4.1 Nanopartículas magnéticas

O fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita, Figura 4.1, estabilizadas pelo recobrimento com DMSA (FM-DMSA), em meio aquoso, foi produzido, caracterizado e gentilmente cedido pela Profa. Dra. Emília Lima, do Laboratório de Química da Universidade de Goiás (Goiás, Brasil). A amostra possui diâmetro médio, determinado por difração de raios X, de 9 nm. O potencial zeta das nanopartículas funcionalizadas na suspensão coloidal foi de -55,1 mV. O diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas em suspensão corresponde a 106,9 nm. A concentração total de ferro na amostra foi de 24,6 mg/ml. O número de partículas/ml, determinado a partir de análise química e do tamanho das partículas, obtidos a partir do espectro de difração de raios X, corresponde a  $1,88 \times 10^{16}$  partículas/ml.



**Figura 4.1** Amostra de nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA.

## 4.2 Preparação do radiofarmaco e imagens em MN

Os estudos realizados em medicina nuclear tiveram como propósito comparar a biodistribuição do FM-DMSA com a biodistribuição do fármaco DMSA, ambos associados ao radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ . Os estudos realizados envolveram a determinação da pureza radioquímica das amostras DMSA +  $^{99m}\text{Tc}$  e FM-DMSA +  $^{99m}\text{Tc}$ , determinação do pH destes compostos e do eluato  $^{99m}\text{Tc}$ , bem como a aquisição de imagens *in vivo*.

### 4.2.1 Controle Radioquímico

A determinação da pureza radioquímica dos radiofármacos foi realizada por meio da técnica de cromatografia líquida planar. O controle radioquímico do radiofármaco  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA (ácido dimercaptosuccínico marcado com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ ) foi realizado adicionando-se aproximadamente 50 ml de solvente em duas cubas, uma com acetona, para avaliar o percentual de colóide, e outra com solução salina, para avaliar o percentual de tecnécio livre, mantendo em ambos os casos a altura da solução dentro das cubas igual a 1 cm, Figura 4.2.



**Figura 4.2** Ilustração da altura de 1cm de solução na cuba para a realização dos estudos radioquímicos.

As cubas foram fechadas por aproximadamente 10 minutos, para permitir a saturação do ambiente interno. O processo de marcação do DMSA com o  $^{99m}\text{Tc}$  foi realizado usando-se uma seringa comercial com tamanho igual a 5 ml. Nesta seringa adicionou-se 35 mCi de

$^{99m}\text{Tc}$  e solução salina (NaCl 0,9%). A quantidade de solução total foi fixado em 2 ml. A solução de  $^{99m}\text{Tc}$  foi injetada no frasco (que continha 1,2 mg de Ácido dimercaptosuccínico (DMSA), 0,7 mg Ácido L-ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), 50 mg Inositol ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ), 0,42 mg Cloreto estânico anidro ( $\text{SnCl}_2$ ) ) e agitado sob inversão durante 30 segundos. Posteriormente, o composto ficou em repouso por 10 minutos. O procedimento de marcação das nanopartículas com  $^{99m}\text{Tc}$  foi o mesmo descrito anteriormente, substituindo apenas o DMSA por 100 $\mu\text{l}$  de FM-DMSA.

Para facilitar a leitura, as tiras cromatográficas foram marcadas com um lápis nas linhas definidas como linha de partida (LP) e linha de chegada (LC). A linha de chegada encontra-se a 1,0 cm do topo da tira, e a linha de partida a 1,5 cm da base da tira, conforme ilustra a Figura 4.3.



**Figura 4.3** Ilustração das linhas de chegada e de partida na tira cromatográfica, a cor vermelha é apenas para ilustrar na imagem o local onde foi marcado com lápis.

Com o auxílio de uma seringa de 1 ml, o radiofármaco foi extraído do interior do frasco e uma gota do mesmo foi colocado em duas tiras cromatográficas na posição correspondente a linha de partida. Posteriormente, uma das tiras cromatográficas foi colocada na cuba com acetona e a outra na cuba com solução salina, mantendo a extremidade das fitas com a linha de partida para baixo. Após a migração do solvente, avaliado por inspeção visual, as tiras foram cortadas a uma distância de 3,7 cm da linha de partida. A leitura individual da atividade na linha de chegada e na linha de partida de cada uma das fitas foi realizada em uma câmara de ionização do tipo poço (Calibrador de Dose Mark V – Modelo 34-164), Figura 4.4.

O percentual de tecnécio livre (%Tc<sub>livre</sub>) nos compostos DMSA + <sup>99m</sup>Tc e FM-DMSA + <sup>99m</sup>Tc foi calculado usando-se a seguinte expressão:

$$\%Tc_{livre} = 100 \frac{Lc}{(Lc + Lp)},$$

onde Lc corresponde a leitura da atividade na porção da tira cromatográfica referente a linha de chegada e Lp a atividade referente a porção da tira da linha de partida.

O percentual de colóide (%colóide) foi obtida a partir da seguinte equação:

$$\%colóide = 100 \frac{Lp}{(Lc + Lp)}.$$

O percentual de pureza radioquímica (%pureza), para o sistema orgânico (acetona como solvente) foi calculado através da equação:

$$\%pureza_{Rad} = 100 - \%Tc_{livre}$$

Para o sistema aquoso (solução salina como solvente) da equação:

$$\%pureza_{col} = 100 - \%colóide$$



**Figura 4.4** Calibrador de Dose Mark V – Modelo 34-164

#### 4.2.2 Avaliação do pH das Amostras

O pH das amostras foi avaliado usando-se uma tira de papel indicador que apresentará, quando em contacto com a solução, cores diferentes para cada gama de pH, ilustrado na

Figura 4.5. O valor do pH foi estimado a partir da comparação da cor apresentada pela tira de papel exposta adequadamente aos compostos analisados com as cores da escala padrão fornecida pelo fabricante.



**Figura 4.5** Papel indicador de PH e a escala padrão existente da caixa da embalagem.

#### 4.2.3 Testes *In-vivo*

Foram realizadas imagens, em uma câmara de cintilação, de ratos wistar machos com massa entre 250 e 300 gramas cada. Os ratos foram anestesiados por inalação com Éter etílico e após foram administrados o radiotraçador e o radiofármaco por via intravenosa (veia caudal).

Para a realização das imagens em medicina nuclear foram utilizados 3 grupos de ratos (com 5 animais em cada grupo), sendo que para cada grupo foi administrado um composto diferente. Os compostos químicos, o volume e a atividade de  $^{99m}\text{Tc}$  administrados para cada grupo está ilustrada na Tabela 4.1. A aquisição das imagens foi realizada em um equipamento de marca GE, modelo MILLENIUM MPR. As imagens foram adquiridas 15 minutos após a administração dos compostos radioativos aos grupos de ratos.

As imagens da distribuição radioativa para os diferentes grupos de animais foram adquiridas usando-se um colimador do tipo LEHR (*Low Energy High Resolution*), e o número de contagens por imagem foi fixado em 600 Contagem/min.

**Tabela 4.1** Material administrado e seus respectivos volumes e dose utilizados em cada grupo para imagens em MN.

Grupo	Material administrado	Volume administrado ( $\mu\text{l}$ )	Dose (kBq)
1	$^{99m}\text{Tc}$	100	1850
2	$^{99m}\text{Tc}$ + DMSA	100	1850
3	$^{99m}\text{Tc}$ + FM-DMSA	100	1850

### 4.3 Contraste em tomografia computadorizada

Os estudos realizados em TC tiveram com o propósito avaliar o contraste na imagem variando-se o volume de nanopartículas em uma solução aquosa. A eficiência de absorção da radiação em função da energia do feixe de radiação foi avaliada usando-se feixes de radiação produzidos por um equipamento de tomografia computadorizada. O mesmo procedimento foi realizado variando o volume de iodo na mesma proporção usada para as nanopartículas.

#### 4.3.1 Preparação das Amostras

O FM-DMSA foi diluído em diferentes volumes em água a fim de avaliar a influência da concentração de nanopartículas no contraste produzido na imagem de raios X. A Tabela 4.2 mostra o volume de nanopartículas utilizadas e o volume de água na qual elas foram diluídas. As soluções de FM-DMSA e água foram preparadas em seringas e o volume total da solução em todos os casos foi igual a 1,0 ml, a fim de evitar o efeito da variação de espessura de material na atenuação da radiação. Para avaliar a atenuação da radiação pelo material da seringa foram realizadas imagens das seringas vazias.

**Tabela 4.2** Volume de nanopartículas e água usada em cada seringa.

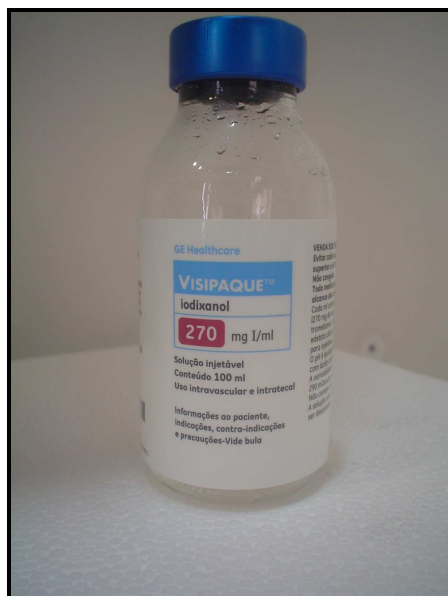
Seringa	Volume de FM-DMSA (ml)	Volume de água (ml)	Volume total da solução (ml)
1	0,1	0,9	1,0
2	0,2	0,8	1,0
3	0,3	0,7	1,0
4	0,4	0,6	1,0
5	0,6	0,4	1,0
6	1,0	0,0	1,0
7	0,0	1,0	1,0
8	0,0	0,0	0,0

O contraste de iodo utilizado neste trabalho, usado na rotina clínica como meio de contraste em tomografia computadorizada, é de marca GE-Healthcare, e possui concentração de 270mg I/ml, Figura 4.6. O procedimento de preparação das amostras de iodo para estudos de atenuação em tomografia computadorizada foi o mesmo descrito anteriormente para o FM-DMSA. Os volumes de iodo e água em cada seringa estão ilustrados na Tabela 4.3.



**Tabela 4.3** Volume de iodo e água usada em cada seringa.

Seringa	Volume de iodo (ml)	Volume de água (ml)	Volume total da solução (ml)
1	0,1	0,9	1,0
2	0,2	0,8	1,0
3	0,3	0,7	1,0
4	0,4	0,6	1,0
5	0,6	0,4	1,0
6	1,0	0,0	1,0
7	0,0	1,0	1,0
8	0,0	0,0	0,0



**Figura 4.6** Amostra de iodo utilizada.

#### 4.3.2 Aquisição de Imagens em Tomografia Computadorizada

Para a aquisição das imagens utilizou-se um objeto simulador de cabeça projetado especialmente para ser usado em procedimentos de controle de qualidade em tomografia computadorizada. O objeto simulador é composto de acrílico e possui formato cilíndrico, com espessura de 9,5 cm e diâmetro de 16 cm. O objeto simulador possui 5 orifícios, sendo um central e quatro orifícios periféricos. As seringas contendo as amostras foram posicionadas apenas nos quatro orifícios periféricos para evitar o efeito da atenuação da radiação por diferentes espessuras de acrílico. Conforme mencionado anteriormente, o volume de material para todas as seringas foi igual a 1,0 ml, variando apenas a concentração de FM-DMSA, iodo e água na solução. A Figura 4.7 mostra a visão superior do objeto simulador e a disposição

das seringas nos orifícios. A Figura 4.8 mostra uma visão lateral do objeto simulador e da disposição das seringas com as amostras de material cujas proporções estão ilustradas nas Tabelas 4.2 e 4.3.

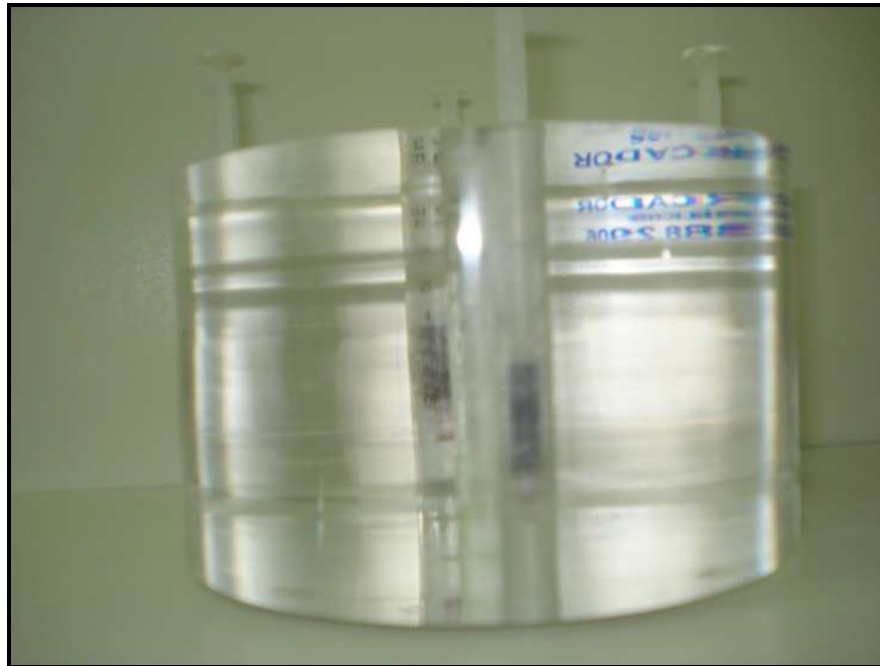
O processo de aquisição de imagens foi realizado em um equipamento clínico de TC da marca PHILIPS, modelo Brilliance, Figura 3.9, e que opera entre 90 e 140 kV e entre 30 e 395 mA. As imagens foram obtidas utilizando-se 90 e 120 kV, 200 mA e espessura do corte igual a 2 mm (Tabela 4.4). Os parâmetros de aquisição de imagens foram os mesmos para todas as amostras descritas no item 4.3.1. A Figura 4.10 mostra o objeto simulador posicionado no tomógrafo para aquisição das imagens.

**Tabela 4.4** Ilustração das técnicas usadas para a aquisição das imagens em tomografia computadorizada.

Técnica	kV	mA	Espessura do corte tomográfico (mm)
1	90	225	2
2	120	225	2



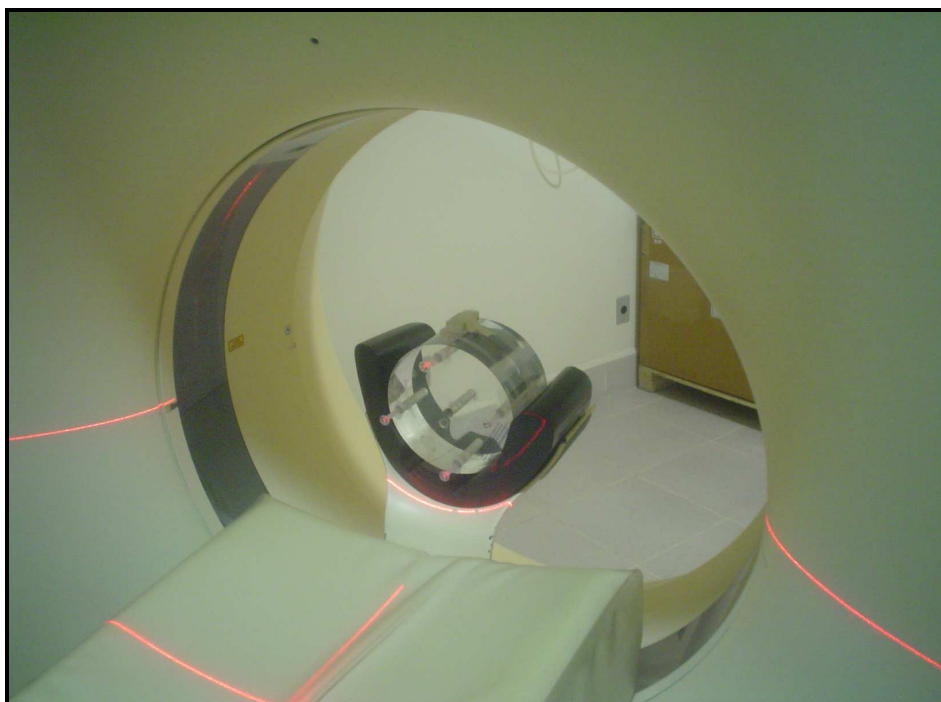
**Figura 4.7** Vista superior do objeto simulador de cabeça com as seringas dispostas nos 4 orifícios externos.



**Figura 4.8** Vista lateral do objeto simulador de cabeça e a disposição das seringas.



**Figura 4.9** Tomógrafo utilizado para aquisição das imagens.



**Figura 4.10** Ilustração do posicionamento do objeto simulador no tomógrafo para aquisição das imagens.

As imagens tomográficas obtidas foram analisadas usando-se o programa computacional eFilm. O contraste da imagem em função da tensão e do volume de FM-DMSA/iodo foi avaliado em termos do número de Hounsfield (HU).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados de aplicação do fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA (FM-DMSA), em meio aquoso, em testes *in-vivo* em medicina nuclear.

### 5.1 Preparação do radiofarmaco e imagens em MN

Nesta seção serão descritos os resultados obtidos relativos ao controle radioquímico, pH e imagens *in-vivo* em medicina nuclear.

#### 5.1.1 Controle radioquímico

As Tabelas 5.1 e 5.2, ilustram os resultados obtidos para os testes de controle radioquímico realizados para os compostos químicos usados para a aquisição de imagens *in vivo*. A Tabela 5.1 mostra a atividade na fita cromatográfica registrada pelo curiômetro nas fitas cromatográficas. Conforme discutido na seção 4.2.1, a fita cromatográfica foi cortada em duas partes para a realização da leitura da atividade no curiômetro nas regiões correspondentes a linha de partida (LP) e a linha de chegada (LC). A divisão da fita em duas partes foi necessária para realizar a leitura correta da atividade da amostra nas linhas de chegada e de partida, evitando que a leitura de um dos lados da tira tivesse a contribuição da atividade presente na extremidade oposta.

**Tabela 5.1** Valores lidos no curiômetro para cada pedaço da fita cromatográfica para o composto  $^{99m}\text{Tc} - \text{DMSA}$ .

	NaCl (kBq)	Acetonitrila (kBq)
<b>LP</b>	37	620,49
<b>LC</b>	728,16	12,95

**Tabela 5.2** Valores lidos no curiômetro para cada pedaço da fita cromatográfica,  $^{99m}\text{Tc} - \text{FM-DMSA}$ .

	NaCl (kBq)	Acetonitrila (kBq)
<b>LP</b>	66,6	259
<b>LC</b>	288,6	118,4

A Tabela 5.3 mostra os valores calculados de tecnécio livre, colóide e a pureza radioquímica dos compostos  $^{99m}\text{Tc}$  – DMSA e  $^{99m}\text{Tc}$ -FM-DMSA.

**Tabela 5.3** Valores obtidos de porcentagem de Tecnécio livre, Colóide e Pureza.

Material	Acetona (%TcLivre)	NaCl (%Colóide)	Acetona %Pureza	NaCl %Pureza
$^{99m}\text{Tc}$ - DMSA	2	5	98	95
$^{99m}\text{Tc}$ – FM-DMSA	31	18	69	82

Os resultados ilustrados na Tabela 4.3 mostram que o percentual de tecnécio livre para o composto  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA é de 2% enquanto que para o composto  $^{99m}\text{Tc}$ -FM-DMSA é de 31%. Esse resultado evidencia que a ligação do  $^{99m}\text{Tc}$  ao composto FM-DMSA é menor que para o fármaco DMSA puro. A menor ligação ao tecnécio pelo composto FM-DMSA pode ser devido ao menor quantidade de ligações do tipo SH, livres para realizarem a ligação com o tecnécio, devido a elas já estarem em grande parte ligadas as nanopartículas.

Para que obtivéssemos bons resultados nos Testes Radioquímicos a porcentagem de pureza para o sistema orgânico (acetona como solvente) não poderia ser menor que 95%, assim como para o sistema aquoso (NaCl como solvente) a porcentagem de pureza não poderia ser menor que 95%. Encontramos um bom resultado para  $^{99m}\text{Tc}$  - DMSA pois este teve resultados acima de 95% para o sistema orgânico e para o sistema aquoso, já para a amostra de  $^{99m}\text{Tc}$  – FM-DMSA ficou abaixo dos 95% para os dois sistemas. Repetimos a marcação para esta amostra três vezes mas foram obtidos resultados muito próximos, mostrando que as NPs não se ligam totalmente ao  $^{99m}\text{Tc}$  não obtendo assim uma boa marcação,

#### 5.1.2 PH das amostras

A Tabela 5.4 ilustra os valores de pH obtidos para o  $^{99m}\text{Tc}$ , para o composto  $\text{Tc}^{99m}$  + FM-DMSA, e para o composto  $\text{Tc}^{99m}$  + nanopartículas de óxido de ferro envoltas em DMSA.

**Tabela 5.4** Valores de pH medido para cada uma das amostras.

Material	pH
$^{99m}\text{Tc}$	6
$^{99m}\text{Tc}$ + DMSA	4
$^{99m}\text{Tc}$ + FM-DMSA	5,5

Os valores de PH obtido para as amostras se encontra na faixa entre 4 e 6, que esta dentro da região definida como pH ácido. A região de pH ácido vai de 0 a 6.

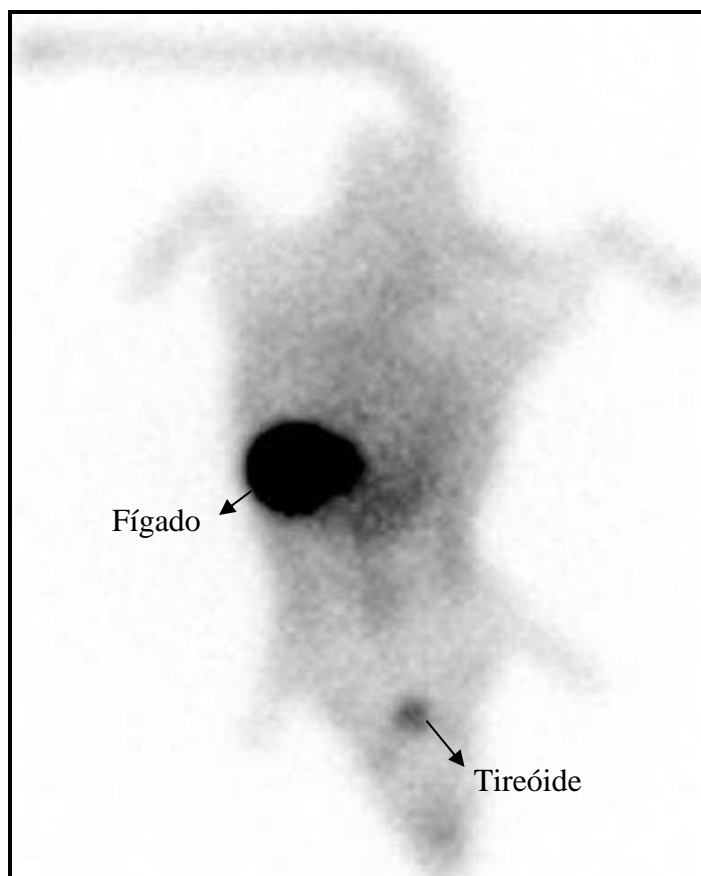
### 5.1.3 Testes *in-vivo*

Apresentaremos a seguir os resultados de biodistribuição dos compostos obtidos por meio de imagens realizadas em uma câmara de cintilação.

### 5.1.4 Imagens de biodistribuição do radioisótopo $^{99m}\text{Tc}$

A Figura 5.1 ilustra a imagem da distribuição radioativa obtida a partir da administração do radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$  a um grupo de ratos. Conforme mencionado anteriormente, a imagem foi adquirida 15 min após a administração do composto radioativo por via intravenosa. Os níveis de cinza de cada região da imagem forneceram indicativos do grau de concentração do composto radioativo aos tecidos correspondentes. As regiões mais escuras correspondem a tecidos onde houve maior agregação do composto enquanto que nas regiões mais claras a agregação do radioisótopo aos tecidos foi menor. Na Figura 5.1 as setas indicam os órgãos onde houve uma maior concentração do radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$  administrado de forma pura.

Verificou-se, portanto que a maior concentração, ou seja, maior emissão de raios  $\gamma$  tem origem nas regiões correspondentes a tiróide e ao fígado, o que esta correto, pois quando o  $^{99m}\text{Tc}$  esta em sua forma livre (sem a presença de fármaco) ele se fixa nestes órgãos.



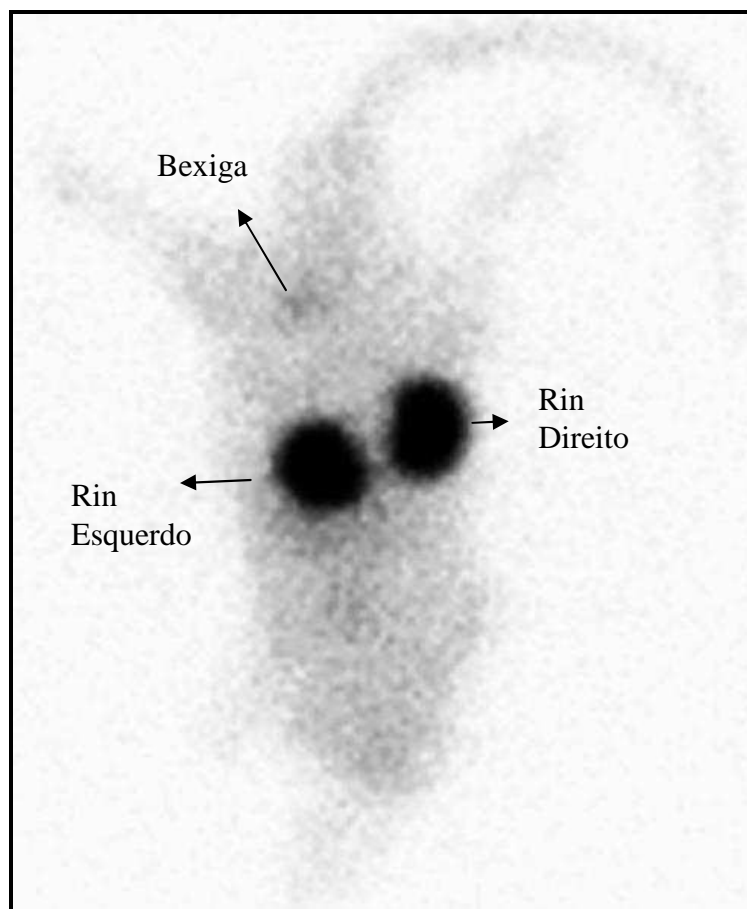
**Figura 5.1** Imagens em medicina nuclear de ratos 15 min após a administração de  $^{99m}\text{Tc}$  puro.

#### 5.1.5 Imagens de biodistribuição do radiofármaco DMSA - $^{99m}\text{Tc}$

O radiofármaco DMSA -  $^{99m}\text{Tc}$  é usado na prática clínica em medicina nuclear para realizar imagens do córtex renal. A Figura 5.2 ilustra uma imagem da biodistribuição do radiofármaco DMSA -  $^{99m}\text{Tc}$  15 min após administração intravenosa em ratos, por meio da veia caudal. As setas na figura indicam a localização dos rins (direito e esquerdo) e da bexiga do rato. De acordo com essa imagem, a maior concentração do radiofármaco encontra-se nos rins. Verificou-se também que o radiofármaco está sendo eliminado para a bexiga.

O resultado mostrado na Figura 5.2 está em concordância com a prática clínica e serve para certificar o processo de marcação do fármaco com o radioisótopo e os procedimentos de aquisição de imagens na câmara de cintilação.

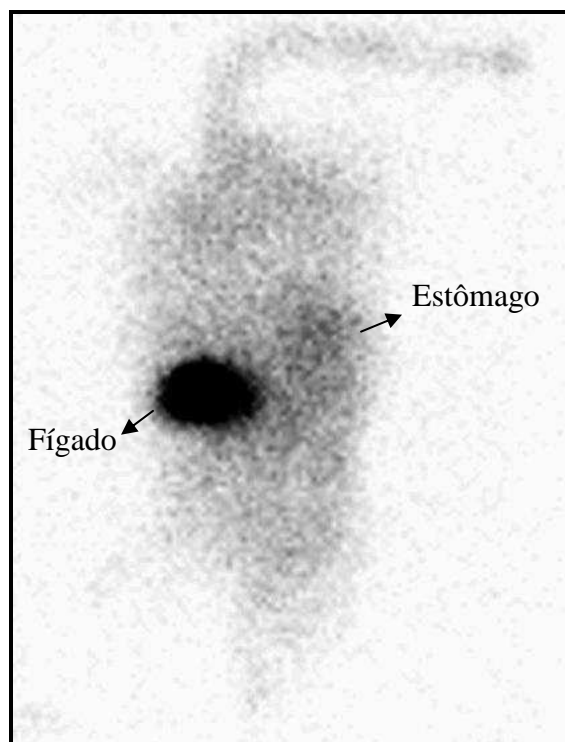




**Figura 5.2** Imagens em medicina nuclear de ratos adquiridas 15 min após a administração de DMSA -  $^{99m}\text{Tc}$ .

#### 5.1.6 Biodistribuição do fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA ligado ao $^{99m}\text{Tc}$

A Figura 5.3 ilustra uma imagem da biodistribuição do radiofármaco de fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA marcado com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$  15 min após administração intravenosa em ratos, por meio da veia caudal. As setas na figura indicam a localização do fígado e do estômago do rato. De acordo com essa imagem a maior concentração do radiofármaco encontra-se no fígado, em uma captação menor no estômago do rato. Comparando a Figura 5.1 com a Figura 5.3, observou-se que para a biodistribuição do  $^{99m}\text{Tc}$  puro houve captação do elemento radiativo pela tireóide. A imagem da biodistribuição do FM-DMSA não mostra captação do radiofármaco pela tireóide. Por outro lado na Figura 5.3 observou-se uma pequena concentração no estômago do rato.



**Figura 5.3** Imagens em medicina nuclear de ratos adquiridas 15 min após a administração de nanopartículas de óxido de ferro, envoltas em DMSA -  $^{99m}\text{Tc}$

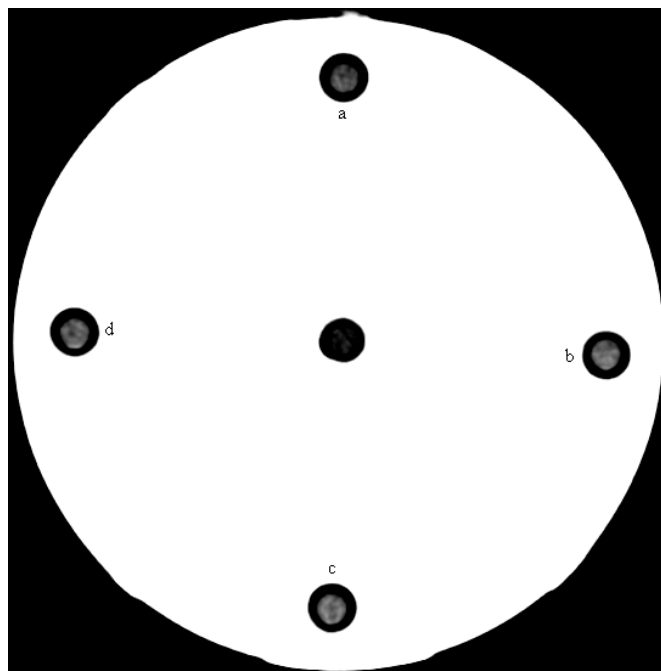
Trabalhos na literatura mostraram que nanopartículas de magnetita não recobertas por DMSA tem uma concentração preferencial no fígado e estômago (MANUEL *et. al*, 2007), já para FM-DMSA observou-se uma maior concentração nos pulmões (CAROLINE *et. al*, 2008), o que não foi observado neste trabalho.

No entanto, sugere-se realizar novos estudos com o propósito de aumentar a eficiência de marcação do composto FM-DMSA com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ . A realização de imagens em diferentes intervalos de tempo poderia auxiliar na localização das nanopartículas ou avaliar a migração das nanopartículas para diversos órgãos. Sugere-se, também, a realização de estudos histológicos *ex-vivo* para a análise do órgão e avaliar a concentração de nanopartículas.

## 5.2 Contraste em tomografia computadorizada

A Figura 5.4 ilustra uma imagem do objeto simulador de cabeça obtida no equipamento de TC para uma tensão de 90 kV e 200 mAs. Os feixes de raios X foram gerados por um equipamento de TC e, como mencionado anteriormente, não foi posicionado nenhuma seringa

no orifício central para evitar diferenças de atenuação pelo acrílico nos fótons detectados. Nos demais orifícios estavam posicionadas seringas que continham uma solução de água com FM-DMSA.



**Figura 5.4** Imagem do Phantom em TC para 90kV e 200mAs para diferentes soluções de FM-DMSA, onde: (a) seringa1, 32HU, (b)seringa2, 45HU, (c)seringa3, 54HU, (d) seringa4, 59HU.

A Tabela 4.5 ilustra os números de Hounsfield (HU) obtidos a partir das imagens de atenuação em TC nas tensões 90 e 120 kV, em função do volume de FM-DMSA na solução.

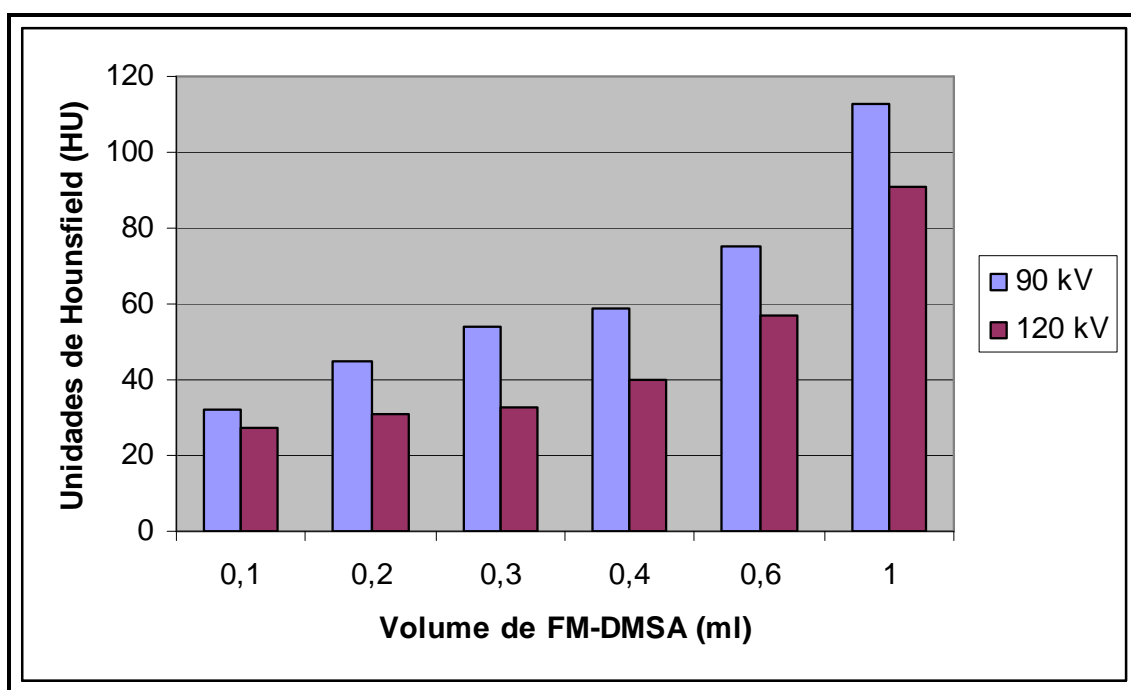
**Tabela 5.5** Contraste de cada seringa com diferentes concentrações de FM-DMSA para 90kV e 120kV.

Seringa	Volume de FM-DMSA (ml)	Volume de água (ml)	Contraste (HU) para 90kV	Contraste (HU) para 120kV
1	0,1	0,9	32	27
2	0,2	0,8	45	31
3	0,3	0,7	54	33
4	0,4	0,6	59	40
5	0,6	0,4	75	57
6	1,0	0,0	113	91
7	0,0	1,0	0	0
8	0,0	0,0	-1000	-1000

A Figura 5.5 ilustra a variação do número de Hounsfield em função da concentração de nanopartículas na solução. Verifica-se que o número de Hounsfield aumenta em função da concentração de nanopartículas na solução. Comparando-se os dados obtidos para 90 e 120

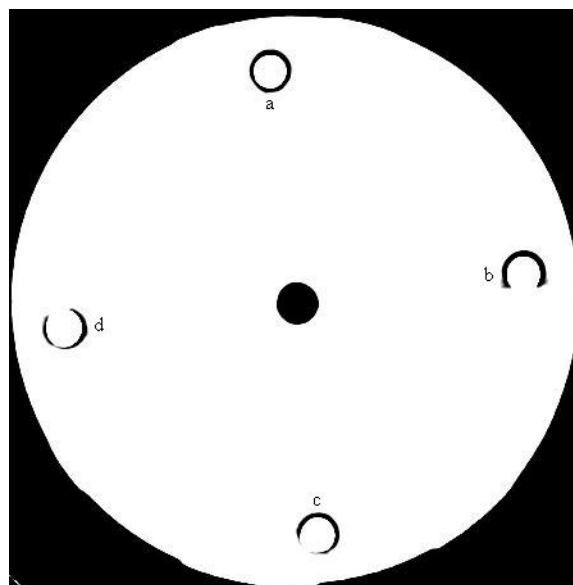
kV é possível observar que o número de Hounsfield para as amostras é menor em 120 kV que em 90 kV para todas as concentrações das soluções apresentadas na Tabela 5.5.

O resultado obtido a partir dos dados é esperado uma vez que aumentando o volume de nanopartículas na solução aumenta a densidade. O aumento da densidade da amostra resulta em um maior número de interações dos fótons de raios x com os átomos da amostra, que resulta em uma maior atenuação da radiação. É possível verificar na Figura 5.4 que os orifícios com um maior número de HU possuem tons de cinza mais claros, o que corresponde a uma concentração maior de nanopartículas e maior número atômico efetivo da solução.



**Figura 5.5** Variação do número de HU em função do volume de FM-DMSA diluído em água e da tensão aplicada ao tubo de raios X.

A Figura 5.6 ilustra a imagem do objeto simulador de cabeça, onde foram posicionadas seringas nos orifícios externos com diferentes volumes de iodo diluído em água, obtida para uma tensão de 90 kV e 200 mAs.



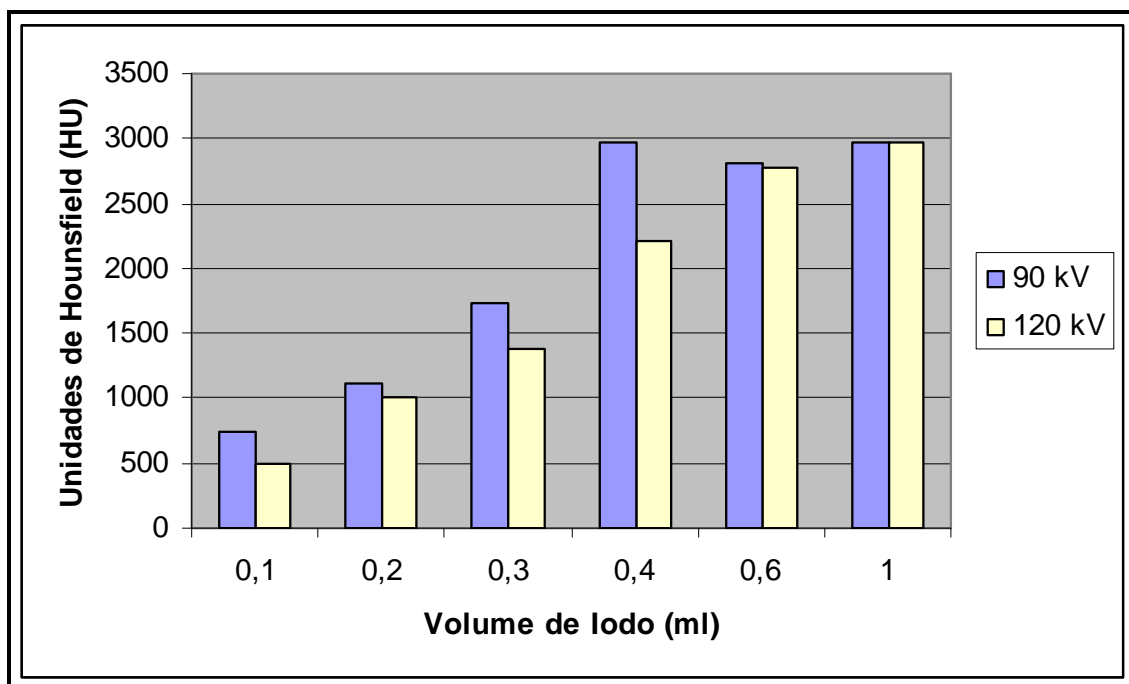
**Figura 5.6** Imagem do Phantom em TC para diferentes soluções de iodo e um regime de 90kV e 200mAs, onde: (a) seringa1, 736HU, (b)seringa2, 1122HU, (c)seringa3, 1733HU, (d) seringa4, 2976HU.

A Tabela 5.6 ilustra os números de Hounsfield (HU) calculado a partir do contraste das imagens de atenuação, nas tensões de 90 e 120 kV, em função do volume de iodo na solução.

**Tabela 5.6** Contraste de cada seringa com diferentes volumes de iodo para 90kV e 120kV.

Seringa	Volume de Iodo (ml)	Volume de água (ml)	Contraste (HU) para 90kV	Contraste (HU) para 120kV
1	0,1	0,9	736,3	496,8
2	0,2	0,8	1122,2	999,9
3	0,3	0,7	1733,2	1370,6
4	0,4	0,6	2976	2212,9
5	0,6	0,4	2818,2	2774,9
6	1,0	0,0	2976	2976
7	0,0	1,0	0	0
8	0,0	0,0	-1000	-1000

A Figura 5.7 ilustra a variação do número de Hounsfield em função do volume de iodo na solução. Os resultados mostram que o número de Hounsfield aumenta em função da concentração de iodo. Comparando-se os dados obtidos para 90 e 120 kV é possível observar que o número de Hounsfield para as amostras é menor em 120 kV que em 90 kV

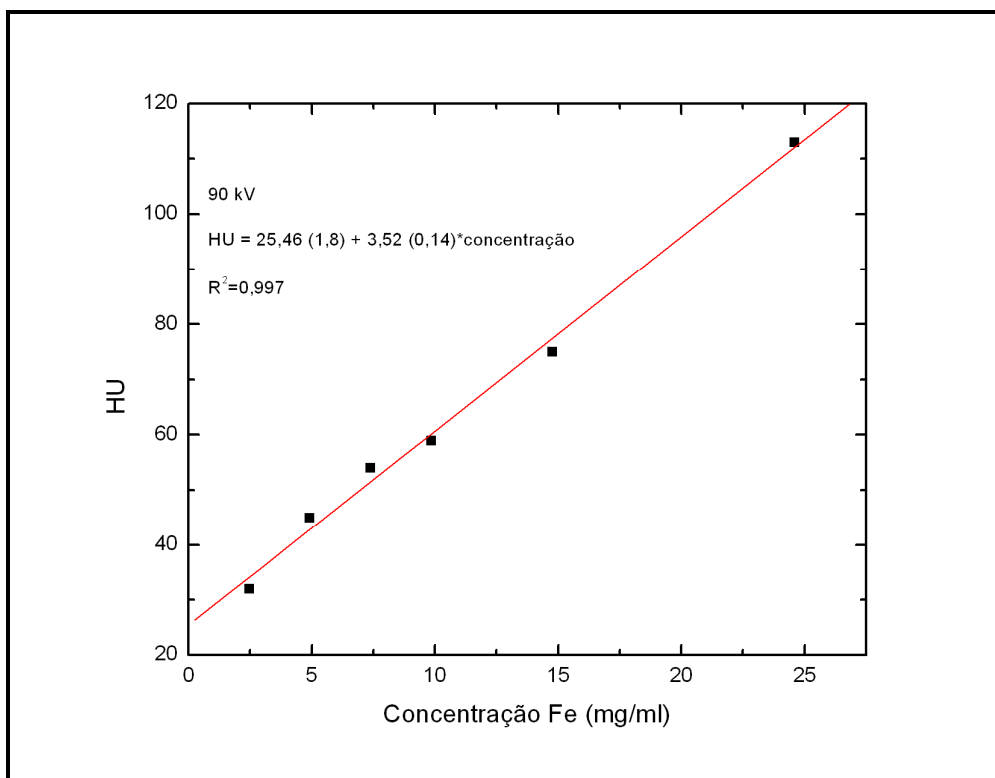


**Figura 5.7** Variação do número de HU em função do volume de iodo diluído em água e da tensão aplicada ao tubo de raios X.

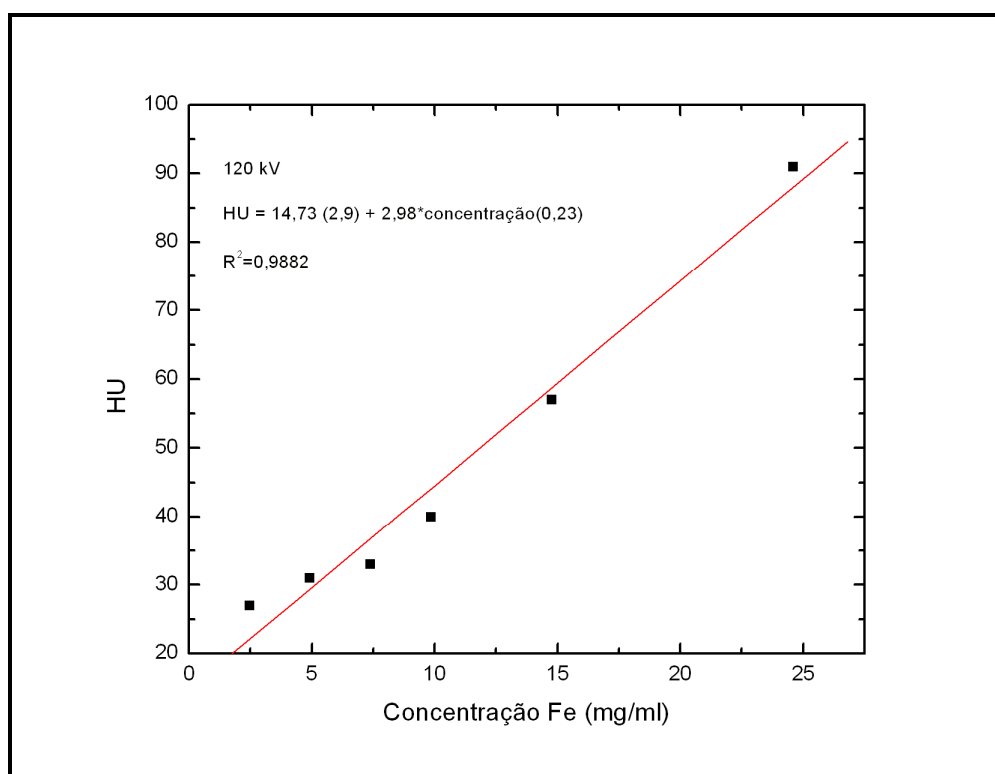
Da mesma forma que no caso das FM-DMSA para maiores volumes de iodo na solução iodo+água, a densidade da amostra aumenta o que resulta em valores mais altos para o número de Hounsfield.

Comparando os resultados ilustrados nas Tabelas 5.5 e 5.6 verifica-se que os valores para o número de Hounsfield são muito maiores para as soluções água+iodo. Esse resultado pode ser entendido com base na concentração de iodo e da concentração de ferro na solução de FM-DMSA. A concentração de iodo que utilizamos é de 270 mg/ml enquanto que a concentração de ferro no composto FM-DMSA é de 24,6 mg/ml. Portanto a concentração de iodo é aproximadamente 10 vezes maior que a concentração de ferro na solução. Por outro lado, as diferenças também estão relacionadas as diferença de número atômico e densidade do iodo, com  $Z=53$  e densidade igual à  $4,93 \text{ g/cm}^3$ , e o número atômico e densidade do ferro, com  $Z=26$  e densidade  $7,87 \text{ g/cm}^3$ .

A fim de comparar os valores de Hounsfield nos mesmos valores de concentração para as duas substâncias, a concentração de ferro nas FM-DMSA foram ajustados em função da concentração de iodo. As Figuras 5.8 e 5.9 ilustram a variação do número de Hounsfield em função da concentração de ferro nas tensões de 90 e 120 kV. Os dados foram ajustados linearmente usando o método de mínimos quadrados.



**Figura 5.8** Ilustração da variação dos valores de HU em função da concentração de ferro na amostra FM – DMSA, na tensão de 90 kV.



**Figura 5.9** Ilustração da variação dos valores de HU em função da concentração de ferro na amostra FM – DMSA, na tensão de 120 kV.

Os coeficientes das retas ajustados estão apresentados nas Figuras 5.8 e 5.9, bem como as respectivas incertezas. As retas ajustadas foram utilizadas para estimar o número de Hounsfield nos mesmos valores de concentração de iodo na solução com água. Os valores obtidos estão ilustrados nas Figuras 5.7 e 5.8.

**Tabela 5.7** Comparação entre os números de Hounsfield para as FM-DMSA extrapolados para os mesmos valores de concentração do iodo na solução, para a tensão de 120 kV

<b>Concentração de Fe FM-DMSA (mg/ml)</b>	<b>Concentração de iodo (mg/ml)</b>	<b>HU IODO</b>	<b>HU FM-DMSA</b>	<b>HU FM-DMSA/IODO</b>
27	27	497	95	0,2
54	54	999	176	0,18
81	81	1370	256	0,19
108	108	2213	337	0,15
162	162	2775	498	0,18
270	270	2976	819	0,28

**Tabela 5.8** Comparação entre os números de Hounsfield para as FM-DMSA extrapolados para os mesmos valores de concentração do iodo na solução, para a tensão de 90 kV.

<b>Concentração de Fe FM-DMSA (mg/ml)</b>	<b>Concentração de iodo (mg/ml)</b>	<b>HU IODO</b>	<b>HU FM-DMSA</b>	<b>HU FM-DMSA/IODO</b>
27	27	736	120	0,16
54	54	1122	215	0,19
81	81	1733	310	0,18
108	108	2976	405	0,14
162	162	2818	595	0,21
270	270	2976	976	0,33

Nas Tabelas 5.7 e 5.8 as duas primeiras colunas ilustram as concentrações de Ferro na solução de FM-DMSA, em mg/ml, e a concentração de iodo, em mg/ml. A coluna 3 ilustra os valores de HU calculados a partir dos dados experimentais para o iodo. Na coluna 4 estão ilustrados os valores calculados de HU a partir dos ajustes lineares apresentados nas Figuras 5.8 e 5.9. Na coluna 5 está ilustrada a razão entre os valores de HU FM-DMSA/iodo em função da concentração. Os resultados obtidos mostram que os valores de HU para composto FM-DMSA são aproximadamente 5 vezes menor que os valores obtidos para o iodo.



## CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

As pesquisas desenvolvidas nos últimos anos evidenciam o alto potencial de aplicação de ferrofluidos em diversas áreas biomédicas. Uma das áreas de maior interesse, em particular, é o uso de nanopartículas magnéticas biocompatíveis como agentes de contraste no diagnóstico e no tratamento do câncer. Embora apresentem características favoráveis para aplicações em diversas modalidades de diagnóstico médico, tais como a presença de ferro em sua composição e, em alguns casos, recobrimento com o fármaco DMSA, a maioria dos estudos realizados concentram-se apenas na sua utilização com meios de contraste para aquisição de imagens em ressonância magnética nuclear (BRUNKE et. al, 2006). Neste trabalho avaliamos a aplicação do fluido magnético contendo nanopartículas de magnetita estabilizadas pelo recobrimento com DMSA (FM-DMSA), em meio aquoso, como meios de contraste em imagens diagnósticas em medicina nuclear e em tomografia computadorizada.

A aplicação em medicina nuclear envolveu estudos de marcação do FM-DMSA com o radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ . Os testes de pureza radioquímica mostraram que para a ligação do FM-DMSA ao radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$  resultou em 31% de tecnécio livre. Esse resultado sugere que houve uma baixa eficiência na ligação entre o FM-DMSA ao radioisótopo  $^{99m}\text{Tc}$ . A baixa ligação pode ser devido a menor quantidade de ligações do tipo SH livres para realizarem a ligação com o tecnécio, por elas já estarem em grande parte ligadas as nanopartículas. Em medicina nuclear a aquisição das imagens foram realizadas usando três grupos de ratos, com cinco animais em cada grupo. Para um grupo de animais foi administrado  $^{99m}\text{Tc}$  puro, para o outro grupo administrou-se DMSA +  $^{99m}\text{Tc}$  e para o terceiro grupo foi administrado FM-DMSA +  $^{99m}\text{Tc}$ . As imagens obtidas com o  $^{99m}\text{Tc}$  puro mostraram alta captação pela tireóide e pelo fígado. Para o caso do DMSA +  $^{99m}\text{Tc}$ , conforme esperado, mostrou uma alta captação pelos rins e pode-se visualizar nas imagens a excreção pela bexiga. Por outro lado, as imagens realizadas FM-DMSA +  $^{99m}\text{Tc}$  mostraram maior agregação do composto pelo fígado e, em menor proporção, pelo estômago. A realização de imagens em diferentes intervalos de tempo poderia auxiliar na localização das nanopartículas ou avaliar a migração das nanopartículas para diversos órgãos. A realização de estudos histológicos *ex-vivo* para a análise do órgão e avaliar a concentração de nanopartículas.

A aplicação das nanopartículas em tomografia computadorizada foi realizada com o auxílio de diferentes volumes de FM-DMSA e iodo diluídos em água. As imagens foram

obtidas em um equipamento clínico de tomografia computadorizada nas tensões de 90 e 120 kV. O contraste nas imagens foram avaliadas com base no número de Hounsfield. Observou-se que quanto maior a concentração de FM-DMSA ou iodo na solução, maior é o contraste. Por outro lado, para ambos os compostos o contraste da imagem é maior em 90 kV do que o observado em 120 kV.

Comparando os valores de Hounsfield calculados para o iodo e para o FM-DMSA observou-se que os valores de Hounsfield obtidos para o iodo são muito maiores que aqueles obtidos com o FM-DMSA. Esse resultado pode ser entendido com base na concentração de iodo (270 mg/ml) e da concentração de ferro (24,6 mg/ml) na solução de FM-DMSA. Portanto a concentração de iodo é aproximadamente 10 vezes maior que a concentração de ferro na solução, pois a solução foi obtida mantendo-se os volumes de água e dos compostos iodo e FM-DMSA constantes. A fim de uma comparação mais realística calculamos, por meio de um ajuste linear, os números de Hounsfield de forma que a concentração de FM-DMSA se igualasse as concentrações de iodo. Os resultados obtidos a partir desta extrapolação para as soluções com o composto FM-DMSA são aproximadamente cinco vezes menores que os valores obtidos para o iodo. As diferenças encontradas estão relacionadas às diferenças de número atômico e densidade do iodo, com  $Z=53$  e densidade igual à  $4,93 \text{ g/cm}^3$ , e o número atômico e densidade do ferro, com  $Z=26$  e densidade  $7,87 \text{ g/cm}^3$ .

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o composto FM-DMSA possui propriedades importantes para aplicação em medicina nuclear e tomografia computadorizada. Para o caso da tomografia computadorizada a absorção da radiação é muito maior que para os tecidos moles o que viabiliza a sua aplicação como agente de contraste. Os resultados obtidos mostram que a tomografia computadorizada se apresenta com um método rápido e eficiente para a localização dessas nanopartículas no corpo do paciente quando usadas para veiculação de fármacos ou tratamento de tumores. Entretanto, a aplicação clínica exige a realização de estudos de toxicidade, os quais podem definir se este tipo de material pode ou não ser administrado como meio de contraste em seres vivos futuramente sem que ocorram reações adversas. Futuramente pretendemos avaliar o contraste produzido pelas nanopartículas magnéticas em tomografia computadorizada a partir de estudos *in vivo*.

## BIBLIOGRAFIA

ARRUEBO M., et all, **Magnetic nanoparticles for drug delivery**, 2007.

AZEVEDO R. B.; GARCIA, M.P.; CHAVES, S. B. VELOSO, V. N. PARCA, R. M. LACAVA, Z. G.; MORAIS, P. C. **Lung leukocyte transepithelial migration induced by DMSA-coated magnetic nanoparticles**. *Molecular Biology of the cell*, United States, v15, Sppl., p 109A-110A, nov 2004.

AZEVEDO, R. B. **Interleukin-1 and interleukin-6 production in mice's lungs induced by 2,3 meso-dimercaptosuccinic-cated magnetic nanoparticles**. *Journal of Applied Physics*, United States, 2005.

BERKOVISKY, B. M.; MECVEDEV, V. F.; KRAVOV, M.S. **Magnetic fluids: engineering applications**. New York: Oxford University Press, 243p, 1993.

BRIGGER, J. MORIZET, G. AUBERT, H. CHACUN, M.J. TERRIER-LACOMBE, P. COUVREUR AND G. VASSAL, **Poly(ethylene glycol)-coated hexadecylcyanoacrylate nanospheres display a combined effect for brain tumor targeting**, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002.

BRUNKE, O., ODENBACH, S., JURGONS, R., ALEXIOU, C.,HILGER, I., BECKMAN, F.; **Determination of the magnetic particle distribution in tumor tissue by means of x-ray tomography**, *J. Phys.: Condens. Matter* ,2006.

CARLOS, MÁRCIA TEREZINHA. **Tomografia Computadorizada: Física da Imagem, Dosimetria e Radioproteção**. Rio de Janeiro: IRD, 2004.

CASTRO JR., AMAURY, ROSSI, GUILHERME E DIMENSTEIN, RENATO; **Guia Prático em Medicina Nuclear: a Instrumentação**. São Paulo: SENAC, 2000.

CHANDRA, R.; **Nuclear Medicine Physics: the basics**. s.l. : Lippincott Willian & Wilkins, 2004.

CHAVES, S. B. **Efeitos biológicos de fluidos magnéticos a base de magnetita recoberta por DMSA em camundongos: análise por microscopia de luz, imunohistoquímica e ressonância magnética**. 2002 54f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília.

CHAVES, S. B.; SILVA, L. P.; LACAVA, Z. G. M.; MORAIS, P. C.; AZEVEDO, R. B. **Interleukin-1 and interleukin-6 production in mice's lungs induced by 2,3 meso-dimercaptosuccinic-cated magnetic nanoparticles**. Journal of Applied Physics, United States, 2005.

DA SILVA, M.F.; SHÜTT, W.; TELLER, J.; HAFELI. U.; ZBOROWSKY, M. In: SHÜTT, W.; TELLER, J.; HAFELI. U.; ZBOROWSKY, M. **Scientific and clinical applications of Magnetic Carriers: na Overview**, 1997

DILWORTH, J.R.; PARROT, S.J. **The biomedical chemistry of thecnetium and rhenium**. Chem. Soc. Rev., 1998

DOUGLAS, S. KATZ, KEVIN R. MATH, STUART A. GROSKIN. **Segredos em Radiologia**, 2002.

DOYON, D. ;EMMANUEL A. C.; J. FRIJA ; ET AL. **Tomografia Computadorizada**, Medsi, 2004

EFILM WORKSTATION™. Acesso em 20 de Novembro de 2008; Disponível em <http://www.merge.com/estore/software.asp> .

FICHNA, J.; JANECKA, A. **Synthesis of target-specific radiolabeled peptides for diagnostic imaging**. Bioconjugate Chem., 2003.

GARCIA, EDUARDO A. C.; **Biofísica.**; 1998.

GARCIA, M. P. **Estudo in vivo dos efeitos sub-crônicos e crônicos de nanopartículas magnéticas à base de magnetita recobertas com DMSA**, 2005, 88f. tese (Doutorado em Ciências da Saúde).- Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília.

GALPERIN A., MARGEL D., BANIEL J., DANK G., BITON H., MARGEL S.; **Radiopaque iodinated polymeric nanoparticles for X-ray imaging applications**, Biomaterials, 2007.

GOULD P.; **Nanoparticles probe biosystems**; Materials today; 2004, (a).

GOULD P.; **Nanomagnetism shows in vivo potential**, nanotoday, 2006 (b).

HAAGA, JOHN R.; LANZIERI, CHARLES F.; SARTORIS, DAVID J.; ZERHOUNI, ELIAS: **A Tomografia Computadorizada**. 1981.

HALBREICH, A; A ROGER, J.; PONS, J.N.; GELDWERTH, D. DA SILVA, M. F.; ROUDIER, M.; BACRI, J.C.; **Biomedical applications of maghemite ferrofluid**. Biochimie, 1998.

HENDEE WILLIAM R., E. RUSSELL RITENOUR; **Medical Imaging Physics**; 2002

HENWOOD, SUZANNE, **Técnicas e Prática na Tomografia Computadorizada Clínica**, 2003.

ITO, A.; KUGA. Y.; HONDA.; KIKKAWA, H.; HORIUCHI, A.; WATANABE, Y.; KOBAYASHI, T. **Magnetite nanoparticle-loaded anti-her2 immunoliposomes for combination of antibody therapy with hyperthermia**. Cancer Letters, 2004.

JURISSON, S.S.; LYDON, J.D. **Potencial technecium small molecule, radiopharmaceuticals**. Chem. Rev, 1999.

LACAVA, ZULMIRA GUERRERO MARQUES E MORAIS, PAULO CÉSAR. **Aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas**; UNIVERSIA. [Online] 08 de 10 de 2004. [Citado em: 11 de 11 de 2008.] disponível em <http://www.universia.com.br/materia/materia.jsp?id=5285>; 2004.

LESLIE LACONTE, NITIN NITIN, GANG BAO, **Magnetic nanoparticles probes**; Nanotoday, 2005

MAINARDES; R. M. SILVA, L. P.; **Drug delivery systems: past present, and future**. Urrunt Drug Targest, 2004.

MASSART, R. Magnetic fluids and process for obtaining them. Us Patente # 4329241, 1982.

MATSUURA N.; J. A. ROWLANDS; Towards new functional nanostructures for medical imaging; Med. Phys.; 2008

PAULA, VALNIR, Apostila de Técnicas de Tomografia Computadorizada , 2004.

ROSENSWEIG, R. E.; **Ferrohydrodynamics**. New York: Cambridge University Press, 1985.

SAHA, GOPAL B.; **Physics an Radiobiology of Nuclear Medicine**, 2001.

SIMON C. R.; SORENSON, J. A.; PHELPS M. E.; **Physics in Nuclear Medicine**; 2003

SUN, S.; ZENG, H.; ROBINSON, D.B.; RAOUX, S.; RICE, P. M.; WANG, S. X.; LI, G.; **Monodisperse  $\text{MeFe}_2\text{O}_4$  (M=Fe, Co, Mn) nanoparticles**; Jpurnal of the American Chemical Society, 2004.

THRALL, J. H. E ZIESSMAN, H A. **Medicina Nuclear**, 2001.

VALOIS, C. R. A., NUNES E. S., JAEGER R. G., LIMA E. C. D., MORAIS P. C., AZEVEDO R. B.; **Expression Patterns of Cell Adhesion Molecules in Mice's Lung After**

**Administration of Meso-2,3-Dimercaptosuccinic Acid-Coated Maghemite Nanoparticles;**  
Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2008.

WEISSLEDER, R.; ELIZONDO, G.; WITTENBERG, J.; LEE, A. S.; JOSEPHSON, L.;  
BRADY, T.J.; **Ultasmall superparamagnetic iron-oxide: an intravenous contrast agent  
for assessing lymph nodes with MR imaging.** Radiology, 1990.

WOLBARST, A. B.; **Physics of Radiology**, 2005.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)