

TOMOGRAFIA POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X EM TECIDOS BIOLÓGICOS
UTILIZANDO RADIAÇÃO SÍNCROTRON

Carlos Roberto Ferreira de Castro

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA NUCLEAR.

Aprovada por:

Prof. Ricardo Tadeu Lopes - D.Sc.
Presidente

Profa. Regina Cély Barroso - D.Sc.

Profa. Silvana Moreira, D.Sc.

Prof. Carlos Roberto Appoloni, D.Sc

Prof. Luis Fernando de Oliveira - D.Sc.

Prof. Edgar Francisco Oliveira de Jesus - D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
NOVEMBRO DE 2006

CASTRO, CARLOS ROBERTO FERREIRA DE
Tomografia por Difração de Raios X em Tecidos
Biológicos Utilizando Radiação Síncrotron [Rio de
Janeiro] 2005.

XIII, 100 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, D.Sc.,
Engenharia Nuclear, 2006).

Tese – Universidade Federal do Rio de Janeiro,
COPPE.

1. Espalhamento Coerente
2. Tomografia Seletiva
3. Tecidos Biológicos

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

*Um homem não se sente privado
das glórias as quais nunca sonhou aspirar.*

AGRADECIMENTOS

Disse Newton: Se enxerguei mais longe é porque estou apoiado em ombro de gigante. Um homem da envergadura de Newton expressando-se dessa forma humilde (Newton não era humilde), nos encoraja a expressarmos dessa forma: Se cheguei até aqui é porque fui apoiado por uma mulher. Essa mulher tem um nome: professora Regina Cély Barroso. A ela toda minha gratidão.

Ao professor Ricardo Tadeu Lopes e à professora Regina Cély Barroso pela orientação.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron pelo apoio na realização das medidas, em especial ao Dr. Roosevelt Droppa Junior.

Ao Laboratório de Instrumentação Nuclear.

Ao professor Delson Braz pela amizade e a todos os colegas do LIN.

À minha esposa e filho pela cumplicidade.

Resumo da Tese apresentada a COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D. Sc.)

TOMOGRAFIA POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X EM TECIDOS BIOLÓGICOS UTILIZANDO RADIAÇÃO SÍNCROTRON

Carlos Roberto Ferreira de Castro

Novembro/2006

Orientadores: Ricardo Tadeu Lopes

Regina Cély Barroso

Programa: Engenharia Nuclear.

O potencial de aplicações da técnica de imagem usando o efeito do espalhamento coerente de raios X é hoje em dia de grande interesse entre a comunidade de Física Médica. Sabe-se que a estrutura molecular de tecidos biológicos patológicos difere dos tecidos considerados saudáveis. A distribuição angular do espalhamento coerente fornece informações detalhadas a respeito da amostra analisada e pode ser usada como uma “assinatura” do tipo de tecido do qual a amostra é composta. Este trabalho apresenta os perfis de espalhamento coerente de amostras de tecidos humanos saudáveis e neoplásicos (mama, útero e rim). As amostras foram medidas em pares, isto é, amostras saudáveis foram tiradas a uma distância do tumor. Estas medidas foram realizadas na linha Difração de Raios X de Alta Resolução (XRD2) no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). Os experimentos foram realizados com as amostras mantidas em formalina a 10%. Além disso, o uso da radiação síncrotron permite uma aquisição de dados mais rápida, o que é importante para a imagem. Estes resultados nos estimularam a aplicar a técnica como um novo método de imagem mamográfica. As amostras para esta fase consistiram de cilindros de Kapton® contendo tecido mamário saudável e com carcinoma ductal infiltrante. Algumas imagens preliminares obtidas na linha de Difração de Raios X (XRD1) do LNLS são apresentadas.

Abstract of thesis presented to COPPE/UFRJ as partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D. Sc.)

X-RAY DIFFRACTION TOMOGRAPHY IN BIOLOGICAL TISSUES USING SYNCHROTRON RADIATION

Carlos Roberto Ferreira de Castro

November/2006

Advisors: Ricardo Tadeu Lopes
Regina Cély Barroso

Department: Nuclear Engineering

The potential applications of coherent x-ray scatter imaging are nowadays a great interest among the medical physics community. It is well known that the molecular structure of pathologically changed biological tissue differs greatly from the healthy one. The angular distribution of the coherent scattering carries detailed information about the object and can be used as a signature of the tissue type of the object. This work presents coherent x-ray scattering signatures from samples of healthy and neoplastic human breast, uterus and kidney tissues. The samples were measured in matched pairs, i.e. tumor samples with corresponding healthy tissue taken at a distance from the tumor. We have performed coherent x-ray scattering measurements at the High Resolution X-Ray Diffraction (XRD2) beamline at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS). Besides this, synchrotron radiation allowed faster data acquisition, which is important for the imaging. These results encourage us to make a mapping of tissues using the principle of the X-rays diffraction imaging technique. The second goal is to apply a different approach to technique as a novel breast imaging method by fixing the detector at a single predetermined value of a given scatter angle. Cylinders containing healthy and cancerous (infiltrating ductal carcinoma) breast tissues were imaged at the characteristic angle for adipose tissue. Some preliminary coherent scattering images carried out at the X-ray Diffraction beamline (XD1) at the LNLS are also presented.

ÍNDICE

<u>CAPÍTULO I</u>	<u>1</u>
<i>INTRODUÇÃO</i>	1
<u>CAPÍTULO II</u>	<u>11</u>
<i>CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS</i>	11
II.1 – DIFRAÇÃO DE RAIOS X EM MATERIAIS CRISTALINOS	11
II.2 - FENÔMENOS DE ESPALHAMENTO	19
II.2.1 – Espalhamento por elétrons livres : Espalhamento Thomson	21
II.2.2 – Espalhamento por átomo livre : Espalhamento Rayleigh	24
II.3 - TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA	27
II.4 - TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA SELETIVA	29
II.5 - LUZ SÍNCROTRON	36
<u>CAPÍTULO III</u>	<u>39</u>
<i>MATERIAIS E MÉTODOS</i>	39
III.1- AS AMOSTRAS	39
III.2 – METODOLOGIA PARA CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	46
III.2.1 – Arranjo experimental	46
III.2.2 – Perfis de difração	48
III.2.3 – Varredura unidimensional	49
III.3 – METODOLOGIA PARA REALIZAÇÃO DA TC SELETIVA	50
III.3.1. Arranjo experimental	50
III.3.2. Imagens por espalhamento coerente	52
<u>CAPÍTULO IV</u>	<u>54</u>
<i>RESULTADOS</i>	54

IV.1. AMOSTRAS FIXADAS EM PARAFINA	54
IV.1.1. Varredura 1D	57
IV.1.2. Comparação entre as Varreduras por Difração e Absorção	59
IV.2. AMOSTRAS FIXADAS EM FORMOL	60
IV.2.1. Perfis de Difração	61
IV.2.2. Comparação entre os perfis de difração	66
IV.3. IMAGENS SELETIVAS DE AMOSTRAS MAMÁRIAS	69
<u>CAPÍTULO V</u>	<u>72</u>
<i>CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES</i>	72
IV.1. TRABALHOS FUTUROS	78
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>80</u>
<u>ANEXO I</u>	<u>84</u>
A1.1. CASTRO, Carlos Roberto Ferreira de; BARROSO, Regina Cély; ANJOS, Marcelino José, LOPES, Ricardo Tadeu; BRAZ, Delson. Coherent Scattering Characteristics of Normal and Pathological Breast Human Tissues. Radiation Physics and Chemistry, 71(3-4), 649-651, 2004.	85
<u>ANEXO II</u>	<u>88</u>
A2.1. CASTRO, Carlos Roberto Ferreira de; BARROSO, Regina Cély; LOPES, Ricardo Tadeu. Scattering Signatures for Some Human Tissues Using Synchrotron Radiation. X-Ray Spectrometry, 34(6), 477-480, 2005.	89
<u>ANEXO III</u>	<u>93</u>
A3.1. CASTRO, Carlos Roberto Ferreira de; BARROSO, Regina Cély, OLIVEIRA, Luis Fernando de; LOPES, Ricardo Tadeu. Coherent Scattering X-Ray Imaging at the Brazilian National Synchrotron Laboratory: Preliminary Breast Images. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A, 548(1-2), 116-122, 2005.	94

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Toda história tem a sua estória.
(Carlos Castro)

O fenômeno de difração tem a sua utilidade bem estabelecida na ciência e na tecnologia moderna. Seleccionamos dois momentos onde a sua aplicação foi fundamental para o desenvolvimento da física quântica e da biologia molecular.

No ano de 1924 as características corpusculares das ondas eletromagnéticas já estavam experimentalmente confirmadas, através do efeito fotoelétrico e Compton, quando Louis de Broglie, em sua tese de doutorado, postulou o caráter ondulatório para as partículas, ou seja, toda partícula tem a sua função de onda associada. Jean Perrin, que participava da banca, perguntou a de Broglie se suas ondas poderiam ser detectadas experimentalmente. A resposta de de Broglie foi que isso talvez fosse possível fazendo experiências de difração de elétrons por cristais¹. A natureza ondulatória dos elétrons foi confirmada com as experiências de C.J. Davisson e L.H. Germer nos Estados Unidos e por G.P. Thomson (filho de J.J. Thomson, que mostrou a natureza corpuscular do elétron) na Escócia.

O mundo microscópico da natureza tinha o seu cenário estabelecido, mas estava desarrumado. Os postulados de Bohr não se sustentavam nem para o átomo

¹ Essa resposta continha a informação de que os cristais são constituídos por “células” unitárias tridimensionais que se repetem simetricamente. Pode-se imaginar planos nessa estrutura com distâncias interplanares da ordem de grandeza de angstrom. O fenômeno de difração ocorre quando o comprimento de onda da radiação incidente e/ou o comprimento de onda da função de onda associada a partícula, está na mesma ordem de grandeza do centro espalhador e/ou da abertura na qual essa ondas vão interagir. O comprimento de onda de de Broglie, para um elétron não-relativístico, com energia cinética de 100 eV, tem a ordem de grandeza de angstrom e pode ser medido.

de hidrogênio. As ondas de de Broglie, para a partícula, foram definidas para uma energia potencial constante (partícula livre). As grandezas dinâmicas, energia, momento angular e linear mesclavam-se os seus aspectos clássicos com o quântico e ondulatório. O princípio da incerteza de Heisenberg mudava radicalmente a interpretação determinística clássica da natureza e colocava o observador como parte integrante da experiência.

Toda descoberta científica tem a sua história e estória e o físico Debye relata parte do diálogo entre ele e Schroedinger: “Estivemos conversando a respeito da teoria de de Broglie e concordamos que não a compreendíamos, e que deveríamos realmente pensar em suas formulações e o que significavam. Então convidei Schroedinger para fazer um colóquio. E a preparação deste realmente despertou seu interesse. Decorreram apenas poucos meses entre a palestra e suas publicações”.

A equação de Schroedinger atendendo as propriedades das autofunções (finita, unívoca e contínua), solucionava os postulados de Bohr e generalizava o postulado de de Broglie para um potencial qualquer. Introduz o conceito de densidade de probabilidade e os valores esperados das grandezas dinâmicas podiam ser calculados. Em resumo, podemos dizer, que a função de onda de Schroedinger, contém todas as informações sobre a partícula associada, dentro dos limites estabelecidos pelo princípio da incerteza.

Em 1929, Dirac expande a mecânica quântica de Schroedinger, considerando a energia total relativística de uma partícula, onde o spin do elétron aparece naturalmente em sua equação.

Na condição de Bragg, a difração de raios X é um método experimental que possibilita obter a forma dos cristais. Por um processo de cristalização de uma enzima

e a subsequente análise com os raios X, pode-se determinar a forma da molécula. As pesquisas em biologia molecular já indicavam o ácido desoxiribonucleico – DNA, como o portador da codificação da vida. Mas faltava uma peça fundamental na montagem do quebra-cabeça: a estrutura do DNA.

A nossa pequena história e estória da descoberta da estrutura do DNA situa-se na Inglaterra no ano de 1953. Dois laboratórios comandavam os estudos em cristalografia na Inglaterra. No King's College, em Londres, estão os pesquisadores Maurice Wilkins e Rosalind Franklin. No Cavendish, em Cambridge, estão os pesquisadores Max Perutz e John Kendrew, comandados pelo diretor do instituto; Sir William Lawrence Bragg, o mais jovem cientista a ter recebido o prêmio Nobel, aos 25 anos. Os centros mais avançados em difração de raios X tinham um acordo de cavalheiros entre eles. O King's pesquisava o DNA e o Cavendish, pesquisava as proteínas. Esse acordo foi abalado com a chegada, no Cavendish, do biólogo americano, James D. Watson e do físico londrino, Francis H.C. Crick. O físico que não sabia biologia; o biólogo que não sabia física e o físico e biólogo que não sabiam química estavam determinados a descobrir o segredo da vida. Sem o consentimento de Bragg eles empenharam-se no estudo da montagem da estrutura do DNA.

No King's College, Rosalind Franklin, com a técnica de se retirar parte da água do DNA, transformava-o em uma estrutura quase cristalina ordenada, obtendo padrões de difração. Esse método ficou conhecido como “forma A”.

Crick e Watson prepararam um modelo da estrutura do DNA e convidaram a equipe do King's para assistirem a exposição. Foi um fracasso. Bragg, preocupado com a repercussão negativa entre os institutos, proibiu-os de continuarem na pesquisa do DNA. A calma aparente foi perturbada quando Linus Pauling, da Caltech, publicou um artigo sobre a estrutura do DNA. Bragg percebendo que o concorrente

estava do outro lado do Atlântico; liberou Watson. Wilkins, sem a autorização de Franklin, mostrou a chapa 51 (como ficou conhecida) que ele obteve utilizando uma nova técnica para a amostra de DNA, a Watson. Essa “forma B”, como ficou conhecida, ocorria quando as moléculas de DNA estavam cercadas por grandes quantidades de água. Isso produzia padrões por difração de raios X de impressionante clareza e simplicidade. A questão era que Rosalind estava ocupada analisando chapas antigas, obtidas pela “forma A” e, sobretudo não compactuava com Crick e Watson sobre a forma helicoidal do DNA. Deixemos Watson falar quando viu a chapa 51: “No instante em que vi a imagem minha boca abriu e meu pulso disparou”.

Lendo o artigo de Pauling, Crick e Watson perceberam que o maior químico do mundo tinha cometido um erro. Obviamente, era apenas questão de tempo para Pauling perceber o disparate. Calcularam que só tinham três semanas para chegar a uma resposta. Contrários a maior autoridade em cristalografia do DNA por raios X do mundo (Franklin) e ao maior químico, publicaram, no dia 25 de abril de 1953, na *Nature*, o artigo onde o segredo da vida fora desvendado, com o nome: Estrutura molecular dos ácidos nucleicos. Em 1962 ganharam o Prêmio Nobel de Medicina, juntamente com Wilkins e lamentavelmente, Rosalind Franklin havia morrido de câncer em 1958, aos 37 anos.

A ciência em seus primórdios idealizava a compreensão do mundo, sem a exigência imediata da sua aplicabilidade técnica. A sociedade evoluiu aproveitando-se dos benefícios tecnológicos, advindos das descobertas científicas, gerando nos pesquisadores uma direção prática em seus estudos. Inserida no meio acadêmico está uma pergunta Universal: Para que serve isso? Atendendo a essa pergunta, a história da nossa pesquisa será invertida. Falaremos das possibilidades e depois apresentaremos o que estamos fazendo.

A difração de raios X em materiais ditos cristalinos é uma ciência bem estabelecida em nosso século. Essa técnica permite que se conheça a estrutura microscópica do nosso mundo. Todo material cristalino tem a sua estrutura identificada pelo seu espectro de difração de raios X, na condição de Bragg, que dá uma caracterização única para cada cristal. As técnicas de imagem usando as características de espalhamento têm sido desenvolvidas [GRANT et al, 1993, CHAPMAN et al, 1997, HARDING & SCHREIBER 1999].

BARROSO (1997), em sua tese de doutorado realizada no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) – COPPE/UFRJ aproveitando dessa caracterização única dos materiais cristalinos, idealizou e realizou uma Tomografia Computadorizada (TC) Seletiva, por difração de raios X, nas condições de interferências construtivas. O método baseia-se em fixar o ângulo de espalhamento, que gera o pico de interferência do material selecionado, e então, realizar uma TC como no modo tradicional. Durante a apresentação deste trabalho serão intercambiados os termos tomografia por difração e tomografia seletiva. Imagens por difração foram obtidas usando-se um tubo de raios X convencional e amostras acrílicas onde foram incrustadas lâminas de chumbo, prata e cobre.

A viabilidade de se realizar a TC Seletiva, conhecendo-se as características espectrais dos materiais envolvidos, usando-se a radiação espalhada na condição de difração e de Bragg foi demonstrada [BARROSO et al, 1998 e 1999a]. Os resultados obtidos com tubo de raios X convencional indicaram que a utilização da radiação síncrotron (SR) poderia melhorar a resolução com que essa seleção é realizada, já que a qualidade da imagem gerada depende da resolução angular para localização do ângulo de difração, das dimensões do feixe, da energia da radiação espalhada e da distância entre o objeto e o sistema de detecção.

Laboratórios de Luz Síncrotron de todo mundo possibilitam uma grande variedade de aplicações em diferentes campos tais como ciências dos materiais, cristalografia, micro-espectroscopia, difração de raios X e muitos outros. A principal característica destas fontes é o espectro de energia largo e contínuo que fornece um alto fluxo de fótons sob uma faixa de energia até 50 keV ou maior. Além disso, o feixe possui uma alta colimação natural e um alto grau de coerência no espaço e tempo. Estas características em combinação com a ótica sofisticada fazem as fontes de radiação síncrotron apropriadas para aplicações médicas [LEWIS, 1997, THOMLINSON, 2002].

Durante os últimos anos diversos laboratórios de SR desenvolveram linhas de luz dedicadas às aplicações médicas [TAKEDA, 1998a, ARFELLI, 2000, AKSIROV, 2001]. Essas linhas fazem uso não somente das excelentes características da fonte, mas também do fato que a alta intensidade da SR permite selecionar e ajustar feixes de fótons monocromáticos com uma largura (bandwidth) de energia muito estreita. Uma intensificação da qualidade da imagem é observada enquanto a dose é conservada ou reduzida em algumas vezes.

A disponibilidade de uma fonte intensa e altamente colimada de radiação síncrotron no Brasil - Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS/CNPq) em Campinas, SP - torna possível o estudo das propriedades de espalhamento de diferentes materiais amorfos tais como tecidos biológicos. De modo a estudar as propriedades de espalhamento de materiais biológicos, foram construídos *phantoms* que simulam suas propriedades físicas. Para avaliar a viabilidade da técnica de imagem bidimensional seletiva usando radiação síncrotron, alguns *phantoms* foram estudados no intervalo do argumento do momento transferido x , que contém a maioria das reflexões ($x=0,39$ a $x=4,13$ por nm), usando radiação de 1,117 Å. O compromisso entre a estatística de contagem adequada e a resolução angular foi alcançada.

Imagens por difração obtidas com esses dados foram comparadas com outras obtidas por transmissão e os resultados incentivaram as aplicações da técnica em tecidos humanos [BARROSO et al, 1999b, 2000, 2001].

HARDING et al (1987) são os pioneiros no campo da técnica de imagem por espalhamento coerente da radiação (CSCT) usando fontes de raios X convencionais. Mais tarde, o método foi estendido para a imagem de tecidos moles usando radiação síncrotron [KLEUKER et al, 1998]. LEWIS (1997) publicou uma revisão das aplicações da radiação síncrotron à medicina e devido ao significativo número de resultados, desenvolvimentos e aplicações, SUORTTI & THOMLINSON (2003) publicaram uma outra revisão apenas seis anos depois.

A caracterização de tecidos biológicos teve seu início com KOSANETZKY et al (1987) que mediram a distribuição de espalhamento para diferentes espécies de tecidos de porco usando a linha K_{α} do cobalto ($E = 6,935 \text{ keV}$) para uma faixa de ângulos de espalhamento. Os resultados indicaram que a gordura tem uma distribuição de espalhamento diferente da maioria dos outros tecidos e demonstra um grau de ordenação mais alto.

O espalhamento coerente de raios X usando radiação síncrotron tem sido investigado como uma ferramenta de diagnóstico em relação à detecção precoce e ao diagnóstico do câncer de mama. A importância do tema pode ser avaliada pelos trabalhos que têm sido realizados por diversos pesquisadores para a obtenção das características de espalhamento de tecidos de animais e *phantoms* [BRADLEY et al, 1989, ELSHEMEY, 1999, ROYLE, 1999, SPELLER, 1999, TARTARI, 1999, BATCHELAR & CUNNINGHAM, 2002]. Além disso, a caracterização de tecidos mamários humanos e de tecidos-equivalentes tem sido ainda amplamente estudada [FERNANDEZ et al, 2002, POLLETTI et al, 2004]. CASTRO et al (2005a) publicaram

resultados de perfis de espalhamento de tecidos humanos de rim saudável e com câncer renal e de útero normal e com câncer de endométrio.

EVANS et al (1991) fizeram comparações das formas da distribuição de espalhamento para 19 amostras de tecidos mamários humanos saudáveis e doentes usando um espectro de raios X com energia média calculada de 46 keV e largura a meia altura (FWHM) de 18 keV. Os espectros espalhados resultantes foram classificados e a conclusão foi que o tecido adiposo era distinto de todos os outros.

PEPLOW & VARGHESES (1998) tabularam os fatores de forma moleculares de espalhamento coerente para uma série de tecidos animais, plásticos e tecido mamário humano. A radiação síncrotron foi usada numa faixa de 5 a 30 keV e os dados formam uma contribuição útil para o conhecimento atual do espalhamento molecular. Entretanto, os dados não podem ser usados para indicar diferenças clínicas entre tecidos mamários já que as medidas foram realizadas em amostras de tecido normal não classificado.

TARTARI et al (1998) obtiveram um conjunto de dados dos fatores de espalhamento para gordura considerando o fato de que a gordura junto com a água e proteínas forma os constituintes básicos do tecido adiposo. A forma e a intensidade relativa do espalhamento de fótons no regime de baixo momento transferido são apresentadas pela primeira vez para gordura liquefeita e gordura fresca extraída mecanicamente de tecido adiposo de porco.

KIDANE et al (1999) avaliaram a possibilidade de aplicação clínica das medidas de espalhamento coerente de tecido mamário humano normal e neoplásico usando a técnica da difração de raios X por energia dispersiva (EDXRD). Um tubo de raios X com anodo de tungstênio operando a 80 kV e 10 mA foi usado. Os tecidos

mamários saudáveis e neoplásicos foram classificados histologicamente. Os resultados mostraram que as “assinaturas” de espalhamento de tecido em combinação com a técnica de transmissão convencional aumentam o contraste na imagem obtida em mamografia.

POLETTI et al (2002) propuseram um método de obtenção das seções de choque diferenciais de espalhamento elástico para amostras amorfas levando em conta possíveis fontes de erro experimentais: parâmetros de geometria, presença de outras fontes de radiação secundária, auto-atenuação, entre outras. O método proposto pode ser utilizado para materiais de interesse médico, isto é, tecidos e materiais tecidos-equivalentes. Como uma aplicação, o procedimento foi utilizado nos dados de espalhamento obtidos para um tecido mamário glandular.

CASTRO et al (2004) publicaram medidas de espalhamento coerente de raios X usando SR (ângulos de espalhamento entre 5° e 50°) de amostras de tecidos de mama humanos compostos por regiões saudáveis e regiões com carcinoma ductal infiltrante com o objetivo de mapear e distinguir regiões invadidas pelo câncer. CASTRO et al (2005a) publicaram perfis de espalhamento inéditos para outros tecidos humanos: rim e útero. A diferenciação deste trabalho reside na preparação simples das amostras e na proposição da utilização de parâmetros característicos dos perfis de difração (altura de pulso, posição dos picos, largura a meia altura dos pulsos) para distinção entre tecidos saudáveis e com câncer. A dependência espacial da seção de choque coerente para um único ângulo de espalhamento permitiu a obtenção de imagens seletivas mamárias [CASTRO et al, 2005b]. As imagens preliminares obtidas demonstraram a capacidade da técnica para imagem médica.

No próximo capítulo os aspectos teóricos envolvidos neste trabalho serão discutidos. No capítulo III, a metodologia experimental e os materiais utilizados serão

apresentados. O capítulo IV apresenta os resultados obtidos em cada fase do trabalho. No capítulo V, estes resultados são discutidos, as conclusões são apresentadas e novos trabalhos são sugeridos. Todos os trabalhos publicados em periódicos internacionais com os resultados obtidos encontram-se nos Anexos I, II e III.

CAPÍTULO II

CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS

Freqüentemente ouvimos dizer que a física teórica e a experimental são hostis entre si. Isso não é verdade. A física teórica e a experimental jamais foram hostis entre si. Elas não podem ser hostis entre si porque na verdade, não existe absolutamente nada em comum entre elas.

(Carlos Castro)

É evidente que a epígrafe acima é exagerada, mas tem seu propósito, na medida em que muitos pesquisadores ainda distanciam esses dois aspectos da ciência. Nenhuma teoria tem sentido se não for verificada experimentalmente, é verdade, mas ninguém entra em um laboratório experimental, vazio de conteúdo teórico. Portanto, essas considerações fazem mais parte de uma discussão acadêmica e pessoal, do que de uma conjuntura do mundo real. A separação didática é necessária, mas é apenas didática, pois na natureza tudo está ligado.

Esse trabalho é essencialmente experimental², mas tem a sua teoria associada. É o que estudaremos a seguir.

² Cada material tem o seu perfil de espalhamento, o qual pode ser computado se forem conhecidos os parâmetros estruturais (distribuição espacial de carga, distância entre os átomos, etc.). Como esses parâmetros são, em geral, desconhecidos *a priori*, o perfil de espalhamento deve ser medido experimentalmente.

II.1 – DIFRAÇÃO DE RAIOS X EM MATERIAIS CRISTALINOS

Os materiais sólidos podem ser classificados em cristalinos ou amorfos. Os sólidos amorfos não têm uma ordem de longa extensão. Os sólidos cristalinos apresentam uma ordem de longa extensão e são constituídos de arranjos atômicos ou moleculares cuja estrutura se repete numa forma periódica tridimensional [AZÁROF, 1968].

A menor estrutura que representa um cristal é conhecido como CÉLULA UNITÁRIA e a união de diversas células unitárias, arranjadas tridimensionalmente, formam a REDE CRISTALINA. As células unitárias possuem sete tipos de simetria: cúbica, tetragonal, ortorrômbica, romboédrica (ou trigonal), hexagonal, monoclínica e triclínica. O que diferencia esses tipos de células unitárias é a relação entre seus PARÂMETRO DE REDE (Figura II.1), que são definidos dessa forma: a , b , e c indicam o comprimento dos três eixos e α , β e γ são os três ângulos existentes em um vértice da célula (Tabela II.1).

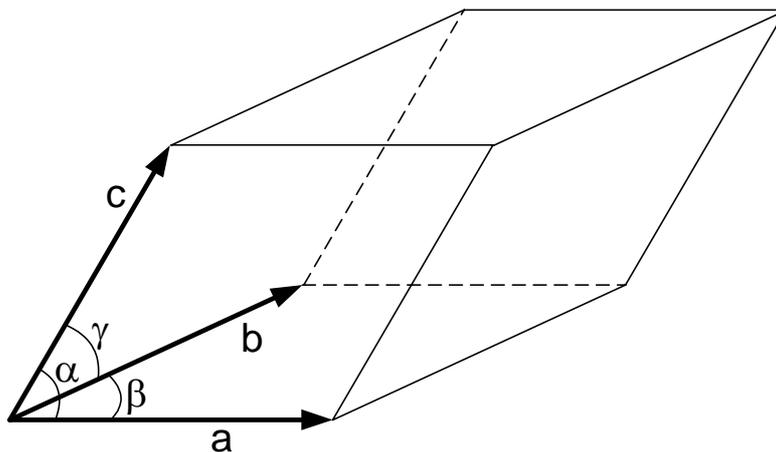


Figura II.1. Célula unitária com seus parâmetros de rede.

Tabela II.1. Parâmetros de rede.

Sistema	Parâmetros de rede
Cúbico	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Tetragonal	$a=b \neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Ortorrômico	$a \neq b \neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Romboédrico	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma \neq 90^\circ$
Hexagonal	$a=b \neq c$ $\alpha=\beta=90^\circ; \gamma \neq 120^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$ $\alpha=\gamma=90^\circ \neq \beta$
Triclínico	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$

A partir dos sete tipos de simetria da célula unitária, o cristalógrafo francês A. Bravais, em 1848, mostrou que na natureza só existem 14 redes cristalinas [AZÁROF, 1968], conhecidas como REDE DE BRAVAIS (Figura II.2).

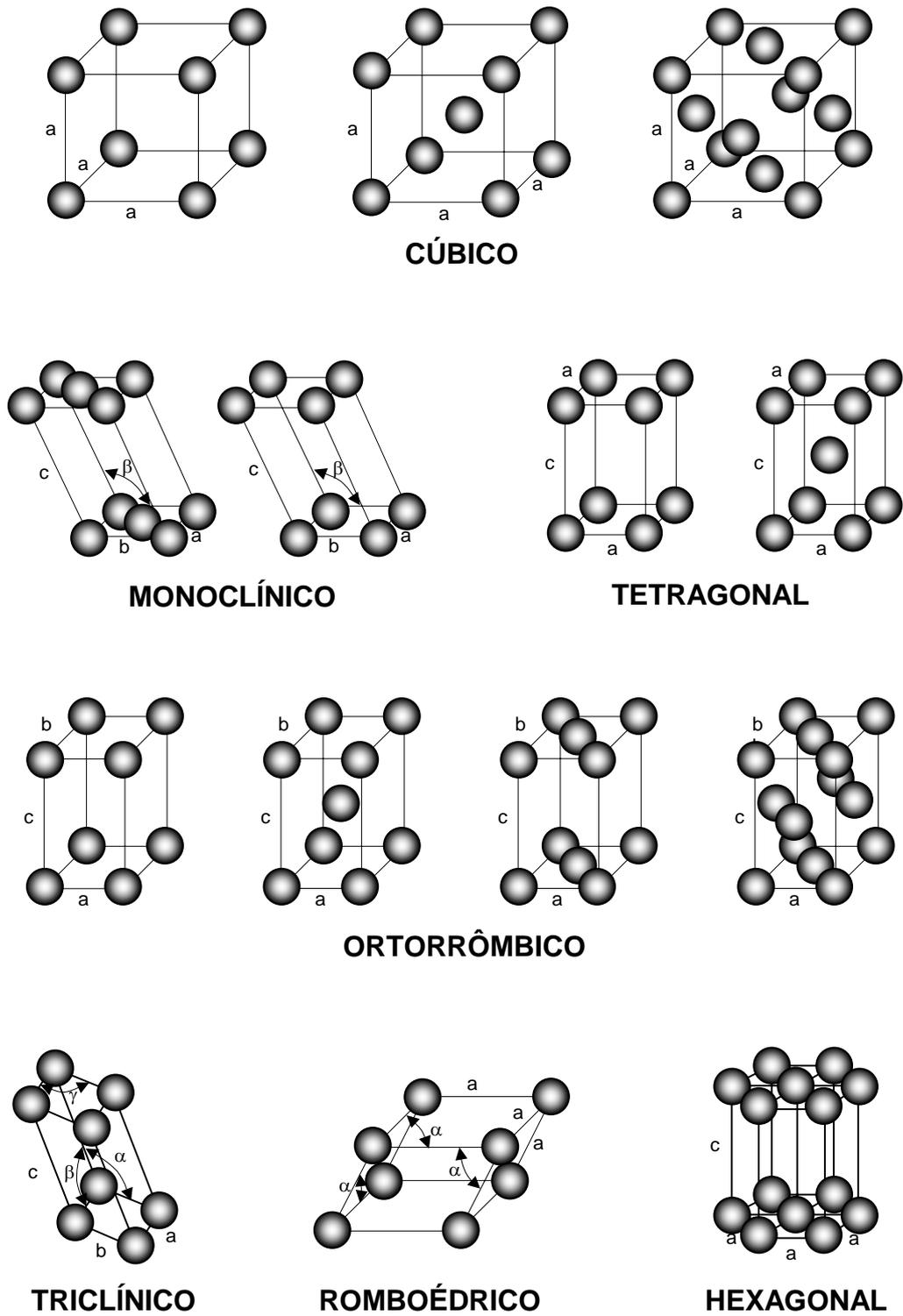


Figura II.2. Células unitárias dos arranjos cristalinos de Bravais.

A simplificação dos planos cristalinos pode ser feita utilizando-se uma representação conhecida como ESPAÇO RECÍPROCO. Dessa forma, pode-se representar um plano usando apenas três índices h , k e l (chamados de índices de Miller), sem equação geométrica. Esses índices correspondem ao inverso do valor em que o plano corta os eixos convencionais. A Figura II.3 apresenta um exemplo para facilitar o entendimento.

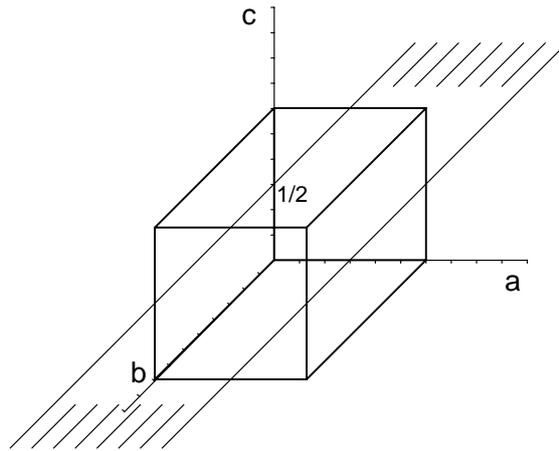


Figura II.3. Célula unitária (0,0,2).

O plano passa no ponto c em $\frac{1}{2}$, cortando o cristal em dois paralelepípedos iguais, e não corta os eixos a e b . Escrevendo os índices de Miller; temos :

$$\left. \begin{array}{l} h = \frac{1}{\infty} = 0; \\ k = \frac{1}{\infty} = 0; \\ l = \frac{1}{1/2} = 2 \end{array} \right\} \Rightarrow \text{Podemos chamar esse plano de } (002).$$

Aspectos mais gerais sobre a geometria e simetria em cristais podem ser encontrados na literatura [GUINIER, 1963, AZÁROF, 1968].

Na condição de espalhamento, os raios X quando interagem com o meio, têm o seu comprimento de onda incidente associado às dimensões do centro espalhador ou da abertura de uma fenda por onde ele terá que passar (Figura II.4.).

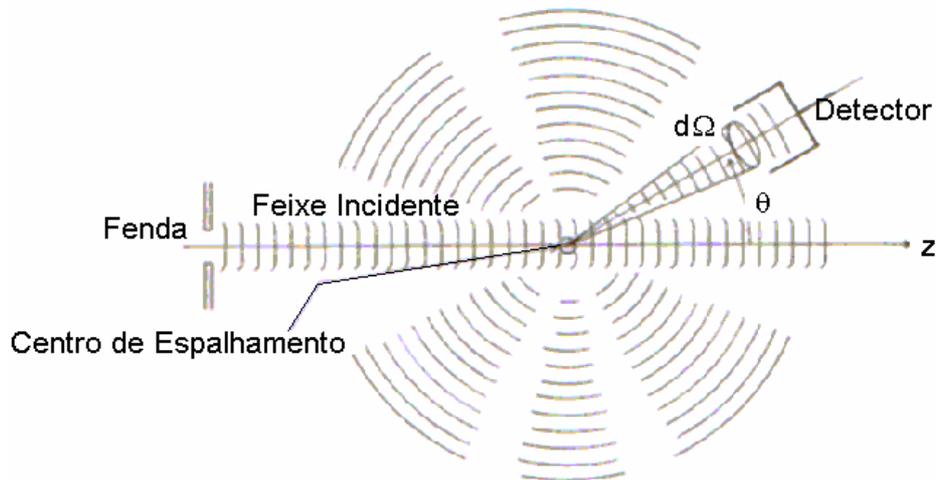


Figura II.4. Esquema para condição de espalhamento.

Considerando d como a dimensão do centro espalhador ou a distância entre os planos de uma rede cristalina, podemos observar três condições de espalhamento na Figura II.4 :

para $d \ll \lambda$, o espalhamento é isotrópico;

para $d \gg \lambda$, o espalhamento é governado pelas leis da ótica geométrica;

para $d \cong \lambda$, o fenômeno de difração ocorre, gerando uma dependência angular na radiação espalhada.

O motivo de ser usar ondas eletromagnéticas na região dos raios X, em cristalografia, é devido ao espaçamento entre as camadas de átomos em um cristal possuírem a mesma ordem de grandeza (Å) do comprimento de onda dessa radiação, onde o fenômeno de difração pode ser observado.

Para obtermos padrões de difração acentuados em cristais, as ondas espalhadas devem interagir entre si de forma construtiva. Esse fenômeno é conhecido como interferência e ocorre quando as ondas espalhadas, por planos sucessivos de átomos em um cristal, estão em fase, ou seja, a diferença de caminho, entre os planos do cristal deve ser igual a um múltiplo inteiro do comprimento de onda (Figura II.5).

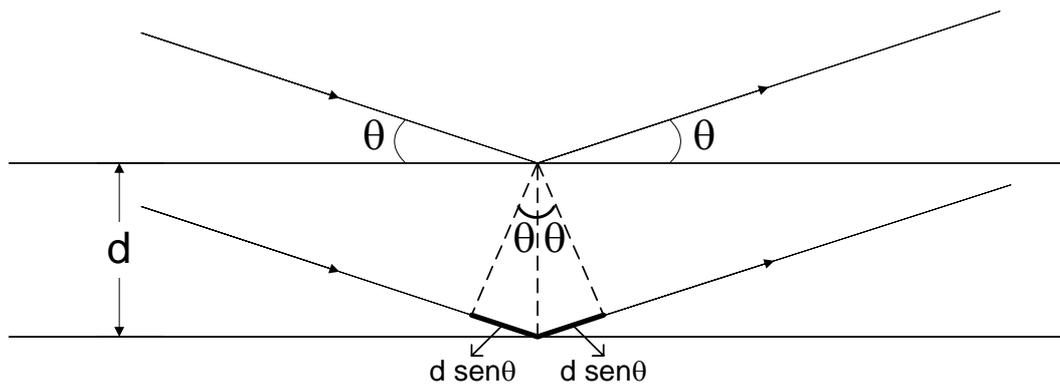


Figura II.5. Lei de Bragg.

Essa condição é atendida, quando um conjunto de planos desse cristal satisfaz a equação de Bragg:

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen} \theta; n = 1, 2, 3, \dots \quad \text{II.1}$$

onde:

os valores de n são limitados pela condição: $\operatorname{sen} \theta < 1 \Rightarrow \left(\frac{n\lambda}{2d} < 1 \right)$;

λ é o comprimento de onda da onda difratada;

θ é o ângulo de espalhamento.

A equação de Bragg é deduzida considerando-se o espaçamento interplanar uniforme. Se os arranjos de átomos planos ou o espaçamento entre os planos paralelos torna-se irregular, os padrões de difração não são bem definidos. É o que ocorre nos líquidos e materiais amorfos (vidro, borracha, polietileno e etc).

Um feixe de raios X monocromático incidindo em um cristal, em ângulos variáveis, produz um gráfico chamado de DIFRATOGRAMA. As intensidades são colocadas em função do ângulo de espalhamento 2θ (ângulo entre a onda incidente e a onda espalhada). A figura II.6 apresenta, como exemplo, a célula unitária do NaCl e seu difratograma.

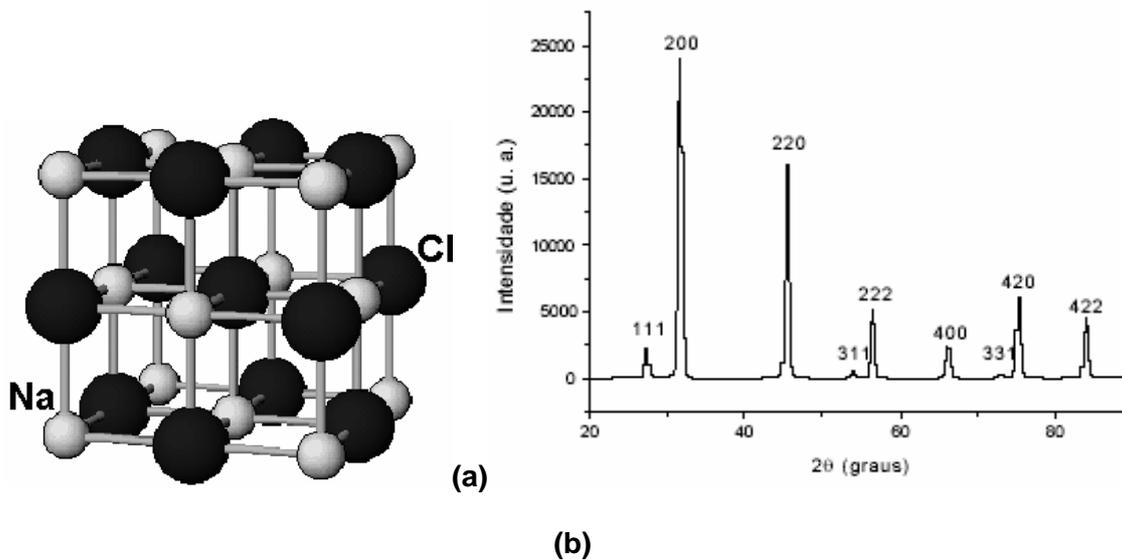


Figura II.6. (a) Célula unitária do NaCl; (b) Difratograma do NaCl em pó.

Esse padrão de difração é único para cada tipo de cristal, possibilitando-se descobrir a composição de materiais através da difração de raios X. Esse processo é chamado de CARACTERIZAÇÃO.

O espalhamento usado na difração de raios X é conhecido como COERENTE e será estudado a seguir.

II.2 - FENÔMENOS DE ESPALHAMENTO

As quantidades físicas relevantes no estudo do espalhamento de fótons por elétrons dos orbitais atômicos, são a amplitude e a seção de choque diferencial $\frac{d\sigma}{d\Omega}$, que é definida como a razão entre o número de partículas espalhadas (isto é, desviadas do feixe incidente) em um ângulo sólido $d\Omega$ por unidade de tempo, dividido pelo número de partículas incidentes atravessando uma área unitária normal à direção do feixe incidente, na unidade de tempo. Fisicamente, $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ representa a probabilidade, por unidade de ângulo sólido, de que uma partícula incidente seja espalhada em um ângulo sólido $d\Omega$.

A radiação espalhada torna-se interessante para o nosso estudo, na medida que os fótons espalhados carregam informações sobre a estrutura e tipo de tecido, informação essa que não é considerada na radiologia e/ou tomografia convencional. Outro fato importante é que o espalhamento por elétron ligado ao átomo (Rayleigh) é feito corrigindo-se a seção de choque de Thomson para elétron livre, considerando a possibilidade de interferência da radiação espalhada. Essa correção aparece na forma da transformada de Fourier da densidade de carga, conhecida como FATOR DE FORMA do átomo [CESAREO et al, 1992].

Cabe lembrar, que no caso da cristalografia, onde o principal interesse é na localização dos átomos na rede e as conseqüências físicas dessa disposição, que a grandeza de interesse é a intensidade da radiação espalhada. Experimentalmente, essas grandezas estão relacionadas por:

$$I = \phi_0 \frac{d\sigma}{d\Omega} \quad \text{II.2}$$

onde:

$$\phi_0 = \frac{I_0}{A} \text{ é o fluxo da radiação incidente,}$$

I_0 é a intensidade do feixe de radiação incidente;

I é a intensidade do feixe espalhado em uma determinada direção $d\Omega$;

A é a área do feixe incidente que atinge a amostra.

Uma pergunta óbvia, mas necessária é a seguinte: Como podemos comparar resultados dos perfis de espalhamento, para um determinado tecido, realizados por outros pesquisadores, com energias diferenciadas da radiação incidente? A resposta está no fator de forma, que na sua conceituação teórica é função do argumento do momento transferido x para o átomo, definido por $x = \sin(\theta/2) / \lambda$. Assim, o momento transferido é um fator decisivo para comparação dos resultados obtidos em diferentes condições experimentais.

O espalhamento é dito INCOERENTE ou INELÁSTICO quando a radiação incidente interage com o meio, modificando a sua energia e momento linear. Um novo fóton surge, com sua energia e momento menores, devido a transferência de energia e momento cedida ao alvo espalhador, pelo fóton incidente. Para esse tipo de espalhamento, não existe a possibilidade de efeitos de interferência das ondas espalhadas [SCHÜLKE, 1989], portanto, não será considerado, embora, na prática, esteja sempre presente.

O espalhamento é dito COERENTE ou ELÁSTICO, quando a radiação incidente interage com o meio, troca momento, mas permanece com a mesma energia ao ser espalhada [KANE et al, 1986].

Este trabalho foi realizado considerando-se a teoria de espalhamento coerente

(Rayleigh), para baixos momentos transferidos ($x < 1 \text{ \AA}^{-1}$). O tratamento matemático dará mais consistência as idéias expostas acima.

II.2.1 – Espalhamento por elétrons livres : Espalhamento Thomson

Um dos processos mais utilizados pela ciência são as simplificações do mundo real. Estudam-se as idealizações, aumentando a complexidade de acordo com as necessidades teóricas e/ou experimentais. Quando uma teoria mais complexa reduz-se a uma outra já estabelecida, dentro das condições de sua validade, tem-se um bom parâmetro para a sua credibilidade. A teoria de Schroedinger é uma generalização, que inclui a teoria de Newton como caso especial (no limite macroscópico – princípio da correspondência de Bohr), assim como a teoria da relatividade de Einstein é uma generalização que inclui a teoria de Newton como caso especial (no limite de baixas velocidades).

Obter, experimentalmente, elétrons absolutamente livres é muito difícil ou senão impossível. Entretanto, pode-se utilizar elementos leves nos quais a fraca energia de ligação dos elétrons dos orbitais mais externos é uma ótima aproximação. A forma mais simples de estudar o espalhamento elástico de fótons é considerar a radiação eletromagnética espalhada por um elétron inicialmente em repouso, livre de qualquer campo externo.

Para uma onda plano-polarizada de polarização $\vec{\epsilon}$ e vetor campo elétrico de amplitude E incidindo sobre um elétron livre, a seção de choque diferencial é dada por:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{Th} = r_0^2 (\vec{\epsilon} \cdot \vec{\epsilon}')^2 \quad \text{II.3}$$

onde:

$$r_0 = \kappa_0 \frac{e^2}{m_e c^2} = 2,82 \times 10^{-13} \text{ cm, é o raio clássico do elétron;}$$

κ_0 é a constante eletrostática para o vácuo;

e é a carga do elétron;

m_e é a massa de repouso do elétron;

c é a velocidade da luz;

$\vec{\epsilon}$ e $\vec{\epsilon}'$ são os vetores de polarização dos fótons incidente e espalhado e

θ é o ângulo entre os vetores de onda da radiação incidente \vec{k}_0 e espalhada \vec{k}' .

Na Figura II.7 os índices \perp e \parallel referem-se aos vetores polarização perpendicular e paralelo ao plano de espalhamento.

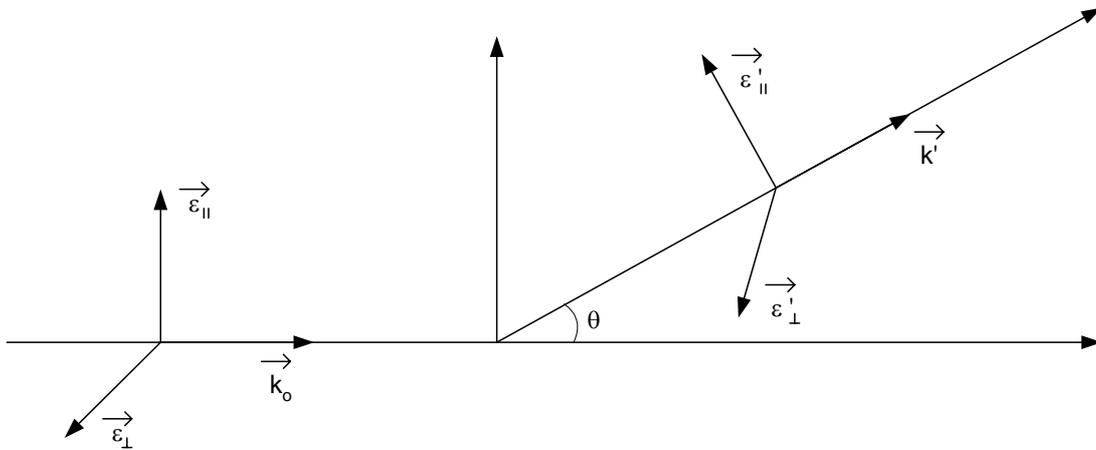


Figura II.7. Plano de espalhamento.

Quando a radiação é não-polarizada, a onda tem a mesma probabilidade de estar nos estados \perp e \parallel , modificando a seção de choque para:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{Th} = \frac{r_0^2}{2} \left[(\vec{\epsilon}_{\parallel} \cdot \vec{\epsilon}'_{\parallel})^2 + (\vec{\epsilon}_{\perp} \cdot \vec{\epsilon}'_{\perp})^2 \right] \quad \text{II.4}$$

O produto escalar da equação (II.4) não se anulará para :

$$\begin{cases} \vec{\varepsilon}_{\parallel} \cdot \vec{\varepsilon}'_{\parallel} = \cos \theta \\ \vec{\varepsilon}_{\perp} \cdot \vec{\varepsilon}'_{\perp} = 1 \end{cases} \quad \text{II.5}$$

Substituindo (II.5) em (II.4) obteremos a expressão da seção de choque diferencial (não-polarizada) para o espalhamento Thomson por um elétron livre [KANE et al, 1986].

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{\text{Th}} = \frac{r_0^2}{2} (1 + \cos^2 \theta) \quad \text{II.6}$$

A equação (II.6) pode também ser obtida considerando a mecânica quântica, onde a seção de choque diferencial para o espalhamento elástico é dada em termos do quadrado do módulo da amplitude.

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{\text{Th}} = |A|^2 \quad \text{II.7}$$

Ou

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{\text{Th}} = \frac{1}{2} \left[|A_{\parallel}|^2 + |A_{\perp}|^2 \right] \quad \text{II.8}$$

Onde as amplitudes A^{Th} para o espalhamento Thomson são dadas por:

$$A_{\parallel}^{\text{Th}} = -r_0 \cos \theta \quad \text{II.9}$$

$$A_{\perp}^{\text{Th}} = -r_0 \quad \text{II.10}$$

Substituindo (II.9) e (II.10) em (II.8) a equação (II.6) fica resolvida.

II.2.2 – Espalhamento por átomo livre : Espalhamento Rayleigh

Quando o elétron está ligado a um núcleo, o conceito de localização do elétron deve ser substituído por uma densidade de probabilidade de se encontrar o elétron em uma dada posição. O quadrado do módulo da função de onda associada ao elétron caracteriza essa densidade de probabilidade, que pode ser vista como uma nuvem eletrônica. A radiação interagindo com essa nuvem é absorvida e depois emitida com o mesmo comprimento de onda do fóton incidente (espalhamento elástico), transferindo momento para o núcleo. Se o tempo de interação do fóton com a nuvem eletrônica for pequeno (para que não haja modificação na distribuição de cargas), então pode-se aplicar a teoria de perturbação de primeira ordem, para se achar a função de onda espalhada, para o caso não-relativístico.

Para o caso do espalhamento elástico, quando um feixe de fótons interage com o átomo, pode ocorrer interferência entre os fótons espalhados pelos diferentes elementos de volume d^3r . Na Figura II.8 pode-se observar que a diferença de caminhos percorrida pela radiação para atingir os pontos x_0 e x_1 , tem como consequência uma diferença de fase entre os fótons espalhados dada por: $\vec{K} \cdot \vec{r}$, onde: $|\vec{r}| = x_1 - x_0$ e $\vec{K} = \vec{k}' - \vec{k}_0$ é o momentum transferido para o elétron.

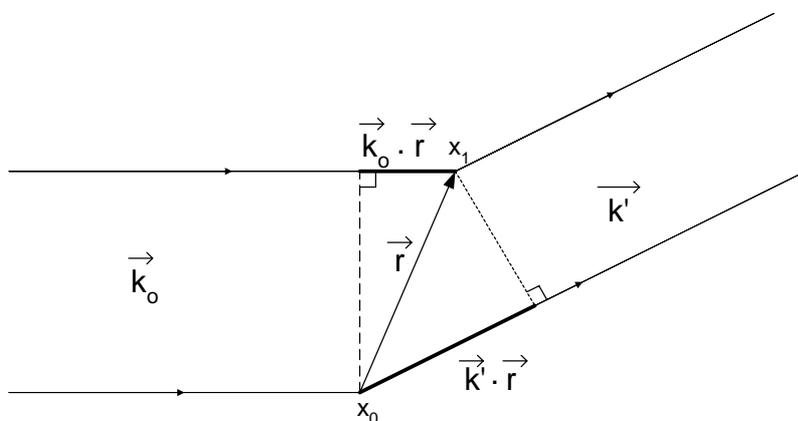


Figura II.8. Diferença de caminhos no espalhamento.

Considerando que cada parte da nuvem eletrônica interage com o fóton como se fosse um elétron livre, a seção de choque Rayleigh será a seção de choque Thomson multiplicada pelo termo de interferência:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Rayleigh}} = \left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Th}} \left[\int \rho(\vec{r}) e^{i\vec{K} \cdot \vec{r}} d^3r \right]^2 \quad \text{II.11}$$

O termo entre colchetes é a transformada de Fourier da densidade de carga, conhecido como FATOR DE FORMA, $F(q)$, do átomo.

$$F(q) = \int_{\text{Vol. átomo}} \rho(\vec{r}) e^{i\vec{K} \cdot \vec{r}} d^3r \quad \text{II.12}$$

$$\text{onde: } q = |\vec{K}|.$$

Substituindo (II.12) em (II.11) obtemos a seção de choque de espalhamento elástico (Rayleigh) de fótons não-polarizados.

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Rayleigh}} = \left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Th}} F^2(q) \quad \text{II.13}$$

Usualmente, o fator de forma é tabelado em função da variável x , em unidades de \AA^{-1} . A relação entre x e q é dada por: $x = 20,607 q$ e $x = \frac{\text{sen}(\theta/2)}{\lambda}$ é o argumento do momento transferido;

As amplitudes do espalhamento elástico de fótons por elétrons ligados também podem ser obtidas multiplicando-se as amplitudes de Thomson das equações (II.9) e (II.10) por $F(q)$:

$$A_{\parallel}^{\text{Th}} = -r_0 F(q) \cos \theta \quad \text{II.14}$$

$$A_{\perp}^{\text{Th}} = -r_0 F(q) \quad \text{II.15}$$

Substituindo (II.14) e (II.15) em (II.9) e (II.10) a equação (II.13) fica resolvida. O conhecimento preciso de $F(q)$ é complicado, pois o estudo teórico conduz a conhecer-se o potencial no qual cada elétron está submetido. Esse potencial depende do núcleo e de cada elétron do átomo, o que significa obter-se previamente todas as funções de onda do sistema.

HUBBELL & ØVERBØ (1979), usando as funções de onda relativística de Hartree-Fock, computaram vários valores de $F(q)$. O método que utilizaram foi montar e resolver n equações de Dirac, uma para cada elétron, submetidos a um potencial médio central que descreve o comportamento do núcleo e dos elétrons conjuntamente. SCHAUPP et al (1983) computaram fatores de forma modificados, que são mais precisos, para energias abaixo de 500 keV e pequenos ângulos de espalhamento.

Experimentalmente, [GONÇALVES et al, 1994] verifica-se que para uma região $1 \text{ \AA}^{-1} < x < 10 \text{ \AA}^{-1}$, a aproximação do fator de forma conduz a resultados expressivos para uma grande faixa de elementos. Para baixo momento transferido $x < 1 \text{ \AA}^{-1}$, o fenômeno de difração com interferência construtiva, pode ser medido, constituindo numa técnica para se determinar a estrutura e composição de materiais.

O grau de complexidade de uma teoria torna-se crescente, na medida em que procuramos buscar o entendimento da natureza sem as idealizações. Um tratamento teórico mais rigoroso do espalhamento elástico envolve átomos multieletrônicos, átomos agrupados, moléculas e moléculas agrupadas. Entretanto, com as definições

do fator de forma e do momento transferido apresentadas, fica consubstanciada a necessidade teórica para a compreensão da nossa realização experimental.

II.3 – TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

A *tomografia computadorizada* (TC) é o processo de se obter uma imagem bidimensional de uma seção transversal de um corpo (ou tridimensional, se várias seções são obtidas), pelo processamento de uma série de projeções unidimensionais, resultantes da interação da radiação com o corpo. Algoritmos para reconstrução de imagem a partir de projeções têm ampliado a habilidade humana de visualizar as estruturas internas de objetos em um largo espectro de aplicações físicas. Estes algoritmos são aplicáveis quando os dados adquiridos têm a forma de integrais de linha da distribuição espacial de uma propriedade física de interesse [KAK & SLANEY, 2001]. Na Tomografia Computadorizada convencional as imagens reconstruídas possibilitam a visualização da distribuição dos coeficientes de atenuação dentro de uma seção transversal do corpo analisado.

Um feixe monoenergético com uma intensidade incidente I_0 (fóton/s) que atravessa um comprimento x do material tem uma intensidade de saída (I) dada pela *equação de Beer-Lambert*:

$$I = I_0 \exp(-\mu x) \quad \text{II.16}$$

onde μ é o *coeficiente de atenuação linear* do material que depende da energia dos fótons incidentes e do material que o feixe atravessa.

Se o material é heterogêneo o produto μx é substituído por uma integral de linha e a intensidade de saída do feixe torna-se uma função da posição (Figura II.9). Desta forma, a atenuação é expressa por uma função $\mu(x,y)$ e a intensidade de saída

do feixe é expresso por:

$$I(x) = I_0(x) \exp\left(-\int_L \mu(x,y) dy\right) \quad \text{II.17}$$

onde L é o comprimento do material atravessado pelo feixe na direção do eixo y . Uma linha que atravessa $\mu(x,y)$ é chamada de *raio*.

Pode-se reescrever a equação II.17 da seguinte forma:

$$P(x) = \ln \frac{I_0(x)}{I(x)} = \int_L \mu(x,y) dy \quad \text{II.18}$$

Esta equação descreve matematicamente o termo designado por *raio-soma*, que é definido como a integral da função $\mu(x,y)$ ao longo de um raio. Se uma série de linhas paralelas é medida, um perfil de intensidade é obtido, o qual é chamado de *projeção* [KAK & SLANEY, 2001].

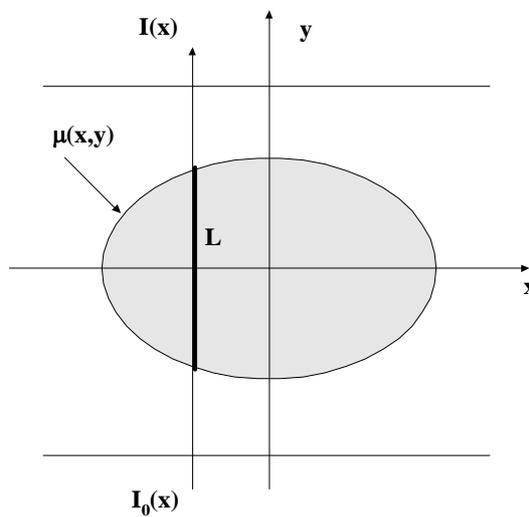


Figura II.9. Geometria de atenuação.

II.4 – TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA SELETIVA

Para a tomografia seletiva, a taxa de contagem medida no detector devido aos fótons espalhados por um elemento de volume dV do alvo dentro de um ângulo sólido $d\Omega$ (Figura II.10) é dada por:

$$dI_s = dN_s df_s \xi \quad \text{II.19}$$

onde:

dN_s é o número de fótons incidentes por segundo no volume de espalhamento $dV=dAdx$, dado por:

$$dN_s = S \frac{dA}{r_1^2} \exp[-\mu_1^{ar}(r_1 - x_1)] \exp(\mu_1 x_1) \quad \text{II.20}$$

onde:

S é o número de fótons emitidos pela fonte por unidade de tempo por unidade de ângulo sólido, dado por: $S = N \frac{4\pi}{\varepsilon\Omega}$

onde:

N é o número de fótons medidos no detector sem alvo e com a fonte posicionada diretamente por unidade de tempo;

ε é a eficiência intrínseca do detector;

μ_1^{ar} e μ_1 são os coeficientes de atenuação do feixe incidente no ar e dentro do alvo, respectivamente;

r_1 é a distância fonte-alvo;

x_1 é a distância percorrida pelo feixe incidente dentro do alvo;

df_s é a fração dos fótons incidentes no volume de espalhamento dV que são espalhados dentro do ângulo sólido infinitesimal $d\Omega$, dado por:

$$df_s = \frac{1}{dA} \left[\frac{d\sigma}{d\Omega} d\Omega \left(\frac{N_{at}}{V} \right) dAdx \right] \quad \text{II.21}$$

onde:

$$N_{at} \text{ é o número de átomos no alvo dado por: } N_{At} = \frac{N_{Av} M}{A}$$

onde:

N_{av} é o número de Avogrado;

M a massa do alvo;

A o número atômico dos elementos do alvo;

V é o volume total do alvo;

ξ é a probabilidade de detecção de um fóton que tenha sido espalhado dentro de $d\Omega$ pelo elemento de volume dV , dada por: $\xi = \exp(-\mu_2 x_2) \exp[-\mu_2^{ar} (r_2 - x_2)] \epsilon_D$

onde:

μ_2^{ar} e μ_2 são os coeficientes de atenuação do feixe espalhado no ar e dentro do alvo, respectivamente;

r_2 é a distância alvo-detector; e

x_2 é a distância percorrida pelo feixe espalhado dentro do alvo.

A taxa de contagem total I_s é encontrada integrando-se a equação II.16 por todo o volume de espalhamento V e para todos os ângulos sólidos de espalhamento Ω subtendidos pelo detector, de modo que I_s está relacionada com a seção de choque

$\frac{d\sigma}{d\Omega}$ por :

$$I_s = N_{At} S A_D \epsilon G \frac{d\sigma}{d\Omega} \quad \text{II.22}$$

onde: G é um fator geométrico dado por:

$$G = \frac{1}{V} \int_V \frac{\exp[-\mu_1^{\text{ar}}(r_1 - x_1)] \exp[-\mu_1 x_1]}{r_1^2} \frac{\exp[-\mu_2^{\text{ar}}(r_2 - x_2)] \exp[-\mu_2 x_2]}{r_2^2} dV;$$

A_D é a área efetiva da seção reta do detector e

$\frac{A_D}{r_2^2}$ é o resultado da integral para todos os ângulos sólidos.

Se as distâncias r_1 e r_2 são grandes quando comparadas com as dimensões do alvo espalhador e considerando ainda que a atenuação no ar pode ser desprezada ($\mu_1^{\text{ar}} = \mu_2^{\text{ar}} = 0$) então a equação II.22 pode ser escrita como:

$$I_s = \frac{N_{\text{At}} S A_D \varepsilon}{r_1^2 r_2^2} \frac{d\sigma}{d\Omega} T \quad \text{II.23}$$

onde: T é o chamado *fator de transmissão* que, para o espalhamento elástico ($\mu_1 = \mu_2 = \mu$), pode ser escrito como:

$$T = \frac{1}{V} \int_V \exp(-\mu x_1) \exp(-\mu x_2) dV \quad \text{II.24}$$

Considerando a incidência normal do feixe, as distâncias x_1 e x_2 estão relacionadas com a espessura t do alvo por: $x_1 = t - x_2 \cos\theta$

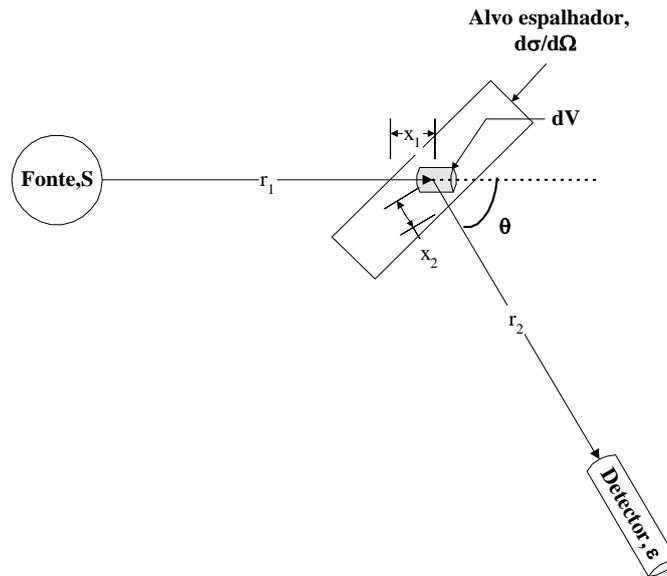


Figura II.10. Arranjo experimental típico de medidas de espalhamento.

A partir da equação II.23 pode-se observar que a intensidade espalhada medida depende diretamente da escolha do alvo espalhador e do arranjo experimental.

Para a técnica Tomografia Computadorizada seletiva, algumas condições experimentais precisam ser obedecidas [BARROSO, 1997]:

1. O livre caminho médio (μ^{-1}) do fóton deve exceder as dimensões da amostra para que o fator de transmissão na equação II.21 não varie para os diferentes raios-soma.

2. A distância amostra-detector (r_2) deve ser muito maior que a espessura t da amostra para todo elemento de volume dV da amostra para que, tanto o ângulo de espalhamento θ quanto o ângulo sólido Ω subentendido por dV possam ser considerados constantes ao longo da trajetória do raio dentro da amostra.

3. Todas as condições experimentais devem ser mantidas fixas durante todas as medidas para que os fatores geométricos sejam constantes.

O formalismo da tomografia computadorizada por difração pode ser deduzido definindo-se dois sistemas de coordenadas cartesianas, como mostrado na Figura II.11. Os sistemas de coordenadas xy e st são fixos para o feixe incidente e para o objeto, respectivamente, e são relacionados por [BARROSO et al, 1999a]:

$$\begin{aligned} x &= s \cos \phi + t \operatorname{sen} \phi \\ y &= -s \sin \phi + t \operatorname{sen} \phi \end{aligned} \quad \text{II.25}$$

Seja um feixe incidente de raios X com intensidade inicial I_0 no ponto A. Este feixe incidente é atenuado ao longo do segmento de linha AB, alcança o ponto B com intensidade I' e então, é espalhado:

$$I'(x) = I_0 \exp\left(-\int_{-\infty}^y \mu(x, y) dy'\right) \quad \text{II.26}$$

onde $\mu(x, y)$ é o coeficiente de atenuação linear para a energia do feixe incidente.

Os raios X espalhados com seção de choque $\frac{d\sigma}{d\Omega}(\theta, x, y)$ no ponto B são atenuados ao longo do segmento de linha BC e alcançam o detector colocado em um ângulo específico θ com intensidade:

$$I(x) = I_0 \exp\left(-\int_{-\infty}^y \mu(x, y) dy'\right) \frac{d\sigma}{d\Omega}(\theta, x, y) \quad \text{II.27}$$

onde $\frac{d\sigma}{d\Omega}(\theta, x, y)$ é a seção de choque diferencial para espalhamento coerente da radiação para o ângulo θ .

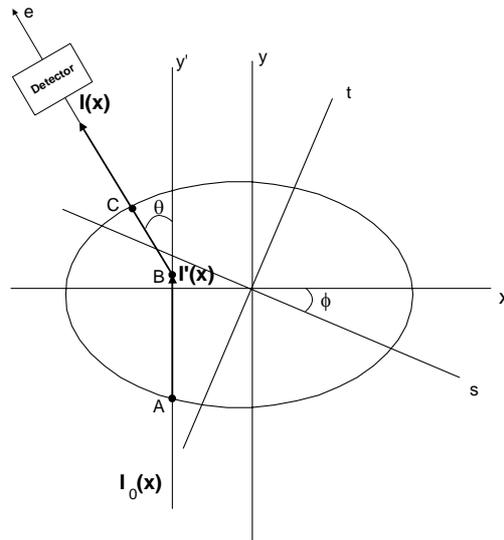


Figura II.11. Geometria para a Tomografia por Difração.

Assim, a intensidade I do feixe de raios X que atingem o detector é dada por:

$$I = I_0 \exp\left(-\int_{-\infty}^y \mu(x, y) dy'\right) \frac{d\sigma}{d\Omega}(x, y) \exp\left(-\int_0^{\infty} \mu(x - e \sin \theta, y - e \cos \theta) de\right) \quad \text{II.28}$$

onde:

$\mu(x - e \sin \theta, y - e \cos \theta) = \mu(x, y)$ porque o feixe espalhado tem a mesma energia do feixe incidente.

Considerando uma amostra heterogênea, a intensidade espalhada medida no detector é uma função da posição x dentro da amostra e do ângulo de espalhamento θ :

$$I(\theta, x) = I_0 \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) g(x, y) \frac{d\sigma}{d\Omega}(\theta, x, y) dy \quad \text{II.29}$$

$$\text{onde: } \begin{cases} f(x, y) = \exp\left(-\int_{-\infty}^y \mu(x, y) dy'\right) \\ g(x, y) = \exp\left(-\int_0^{\infty} \mu(x - e \sin \theta, y - e \cos \theta) de\right) \end{cases} \quad \text{II.30}$$

A equação II.29 é a descrição matemática de raio-soma e mostra a condição de linearidade necessária para utilização do algoritmo de retro-projeção filtrada [KAK & SLANEY, 2001]. Re-escrevendo II.29 tem-se que:

$$P(x) = \frac{I(x)}{I_0} = \int_L f(x,y)g(x,y) \frac{d\sigma}{d\Omega}(x,y,\theta) dy \quad \text{II.31}$$

onde $P(x)$ é análogo ao termo conhecido como *projeção* e L é o comprimento atravessado pelo feixe dentro da amostra. A imagem reconstruída, portanto, representa a distribuição espacial da função $\frac{d\sigma}{d\Omega}(x,\theta)$ com a correção para a atenuação do feixe na amostra.

II.5 – LUZ SÍNCROTRON

Os feixes de raios X que se podem obter em uma máquina de luz síncrotron são extremamente intensos, colimados e dotados de um elevado grau de coerência longitudinal. Além disso, com a utilização de cristais monocromadores, é possível obter feixes praticamente monocromáticos com energia selecionável dentro de um amplo espectro de energia. O feixe é, por sua natureza, laminar com altura de alguns milímetros e com largura de algumas dezenas de centímetros no plano do objeto, o que o torna ideal para sistemas de imagem. As características geométricas do feixe podem também ser modificadas mediante o uso de cristais assimétricos ou de outras óticas, de modo a adaptar-se à exigências específicas. Os feixes de luz síncrotron representam o “estado da arte” para imagem com raios X duros [LEWIS, 1997; ARFELLI, 2000; THOMLINSON, 2002].

Em um síncrotron, os pacotes de elétrons são acelerados no interior de um

canal quase circular onde alcançam velocidades próximas à da luz irradiando assim, energia: a radiação emitida é chamada luz síncrotron. A potência emitida por unidade de ângulo sólido de uma carga ultrarelativística ($\gamma \gg 1$) sujeita a uma aceleração ortogonal à uma velocidade instantânea dada por [JACKSON, 1999]:

$$\frac{dP(t')}{d\Omega} = \frac{e^2 \dot{v}^2}{4\pi c^3} \cdot \frac{1}{(1 - \beta \cos \theta)^3} \cdot \left[1 - \frac{\sin^2 \theta \cos^2 \phi}{\gamma^2 (1 - \beta \cos \theta)^2} \right] \quad \text{II.32}$$

onde:

e é a carga elétrica do elétron,

c é a velocidade da luz,

v e \dot{v} são a velocidade e a aceleração do elétron consequentemente,

$$\beta = v/c \text{ e } \gamma = (1 - \beta^2)^{-1/2};$$

os ângulos (θ, ϕ) se referem a um sistema cartesiano em que a velocidade e a aceleração instantâneas girando sobre os eixos z e x , respectivamente (Figura II.12).

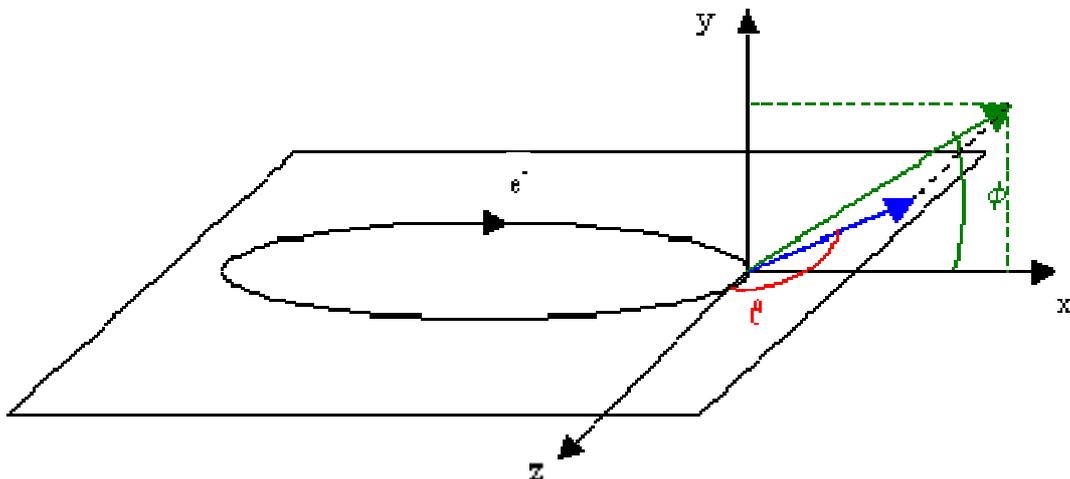


Figura II.12. Sistema de coordenadas polares usadas para definir a distribuição espacial da radiação emitida.

Para a velocidade relativística do elétron, o máximo da distribuição angular se dá em $\theta = 0$; a distribuição é fortemente colimada à frente e é contida no interior de um cone de semiabertura igual a $1/\gamma$. Deste modo, a radiação síncrotron é planar, conforme mostra a figura II.13. Esta não é uma consequência da distribuição angular da radiação emitida mas depende do fato que o pacote de elétrons que circula na órbita do síncrotron é fortemente comprimido do plano da própria órbita (a relação entre a dimensão vertical e a do plano é de 1:10) [MARGARITONDO, 1995]. A Tabela II.1 mostra alguns parâmetros do LNLS.

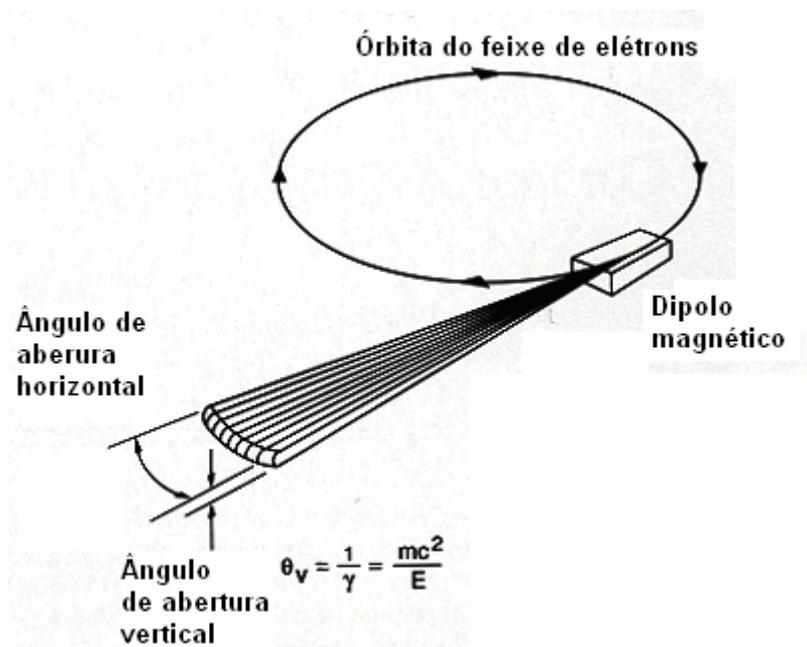


Figura II.13. Geometria laminar (sobre o plano da órbita) de um feixe de luz síncrotron.

Tabela II.1. Parâmetros do LNLS.

Parâmetro	Valor Nominal
Energia dos elétrons	1,37 GeV
Corrente do feixe de elétrons	250 mA
Energia de injeção	500 MeV
Campo magnético	1,67 T
Diâmetro médio	29,7 m
Energia crítica	2,08 keV

O capítulo a seguir dá continuidade à formação da estrutura desse texto, objetivando-se a obtenção de resultados experimentais confiáveis.

CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

O que caracteriza o método científico é a procura da verdade e não a verdade em si. A sua configuração da realidade pode ser questionada e todos têm o privilégio da repetitividade, desde que os materiais e métodos sejam os mesmos.

(Carlos Castro)

O comprometimento desse capítulo com os nossos resultados é fundamental. A confiabilidade que se tem nos dados experimentais está atrelada aos procedimentos adotados para se obter esses resultados. Para tanto, serão apresentadas as metodologias utilizadas para caracterização de amostras de tecidos humanos que servirá de base para realização de imagens seletivas. Apresentaremos os procedimentos de forma separada; as amostras e os arranjos experimentais, mas o conjunto tem que funcionar de forma sistêmica.

III.1 - AS AMOSTRAS

A primeira atitude para se ter uma amostra tecidual representativa é utilizar o processo de fixação dessa amostra. O intervalo entre a coleta do material e o início da fixação deve ser mínimo, para se evitar o início da degradação celular (autólise). FIXAÇÃO é o processo de preservação das células e tecidos. Geralmente, são usados compostos químicos que reagem com as estruturas celulares e teciduais, preservando-as de forma a evitar a autólise, que se inicia após a morte do tecido, e a digestão desse por bactérias decompositoras (saprófitas). Assim, tem-se por objetivo

manter a mesma organização estrutural apresentada *in vivo* e minimizar o aparecimento de detalhes que não sejam da estrutura normal.

Um bom fixador químico deve ter as seguintes características: apresentar um poder rápido de penetração; proteger as estruturas celulares contra enrugamento, tumefação e distorção. Como exemplo, podemos citar: a solução de Bouin (formaldeído, ácido acético e ácido pícrico) e Helly, conhecida como Zenker-Formol (formol, bicloreto de mercúrio e dicromato de potássio) [MELO, 2002].

As amostras foram fixadas em formol a 10% e foram cedidas pelo serviço de Patologia do Hospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro. Foram fotografadas e a localização dos tecidos normais e neoplásicos, foi feita pela patologista numa análise subjetiva visual. A análise macroscópica visual de um tecido neoplásico normal e maligno é facilitada devido à mudança morfológica das células envolvidas. Entretanto, somente através do exame histológico é possível caracterizar de maneira segura tumores benignos de malignos. Os tecidos foram submetidos ao exame microscópico, onde a sua natureza (benigna e maligna) foi confirmada. O espectro de difração dos tecidos obtido exige, para a sua compreensão, o conhecimento dos aspectos físicos envolvidos no processo. Entretanto, um pouco de conhecimento da biologia celular tecidual não deve ser negligenciada.

A célula é a unidade básica da estrutura e da função de todos os seres vivos. Em um corpo humano adulto têm-se trilhões de células. Embora haja muitos tipos diferentes de células, todas apresentam determinadas características comuns. As células do nosso organismo estão constantemente sendo renovadas, obedecendo-se a um mecanismo de controle que se interrompe quando a perda ou a lesão é corrigida, em número necessário para o equilíbrio celular. Portanto, em condições normais, a divisão celular é controlada por fatores reguladores. Quando esse controle falha, as

células passam a se dividir de forma autônoma. A capacidade de se libertar do controle de crescimento e de se dividir de forma autônoma é a principal característica da célula neoplásica. Neoplasia significa “crescimento novo” e descreve uma massa tecidual anormal, que se expande além dos limites do tecido. Caracterizam-se por funcionamento descontrolado, divisão e crescimento não regulados das células. A neoplasia pode ser benigna ou maligna e câncer é o termo comum para todas as neoplasias malignas. Câncer é uma doença que pode começar em qualquer célula do organismo de um mamífero e a maioria se origina de uma única célula que começa a se multiplicar sem parar, perdendo a sua forma e comportamento normais, por alterações genéticas. O menor tumor clinicamente detectável corresponde a 10 bilhões de células (1g) e as massas tumorais, em geral, têm 100 bilhões de células (10 g), quando detectadas.

Quando as células de um tumor são idênticas às células do tecido de origem, dizemos que ele é diferenciado (neoplasia benigna). Se essa semelhança é pequena ou mesmo inexistente, ele é chamado de indiferenciado (neoplasia maligna). As células bem diferenciadas além de serem parecidas com as células do tecido de origem costumam ser parecidas entre si. Assim, os tumores bem diferenciados são monótonos, isto é, todas as células são semelhantes e se distribuem de uma forma quase harmônica no interior do tecido conjuntivo e esse aspecto é observado em todo o tumor. Nos tumores indiferenciados observa-se uma variedade muito grande no aspecto de suas células. Variações de forma, de volume e principalmente variações no núcleo. Os núcleos costumam ser volumosos e de limites irregulares. Outro aspecto de diferenciação entre as neoplasias é a mitose que é a divisão da célula somática em duas células-filhas com a mesma carga genética.. Nos tumores benignos as mitoses são poucos freqüentes e quando ocorrem são normais. Nos tumores malignos as mitoses são freqüentes e observam-se mitoses anômalas.

A morfologia dos tumores depende também da velocidade com que crescem. Quando eles crescem devagar (benigno), os tecidos vizinhos se adaptam a esse crescimento e os limites entre o tecido tumoral e normal são nítidos. Quando o tumor cresce rapidamente (maligno), ele infiltra-se no tecido vizinho através dos interstícios, possibilitando o processo conhecido como METÁSTASE.

O estudo da biologia nos ensina a ser cautelosos em nossas asserções, pois toda regra pode ter exceções e as exceções não devem ser transformadas em regras. Existem tumores em que nem mesmo o mais acurado exame histológico poderá afirmar se ele vai se comportar como benigno ou maligno. Para esses tumores foram dados nomes especiais; tumores de malignidade duvidosa, tumores fronteiros ou ainda tumores *borderline* [MONTENEGRO & FRANCO, 2003].

A preparação de material biológico para a análise por microscopia de luz, passa por etapas, que o conduz a uma lâmina. O tecido extirpado de um organismo chega ao serviço de patologia, fixado em formal, para o setor de macroscopia. Ele é cortado e inserido dentro de um cassete de plástico. O prontuário do paciente sai desse setor com um diagnóstico macroscópico, onde o (a) patologista utiliza-se de seus conhecimentos da morfologia celular visíveis. O próximo passo consiste em DESIDRATAR o fragmento, colocando-o em uma série de álcoois graduados. A DIAFANIZAÇÃO consiste em retirar o álcool do fragmento para torná-lo transparente, o que é feito imergindo-o em xilol. A seguir segue-se o processo de INCLUSÃO em parafina líquida, que ao se solidificar forma um bloco contendo o material biológico. Esse bloco é levado ao micrótomo, onde o fragmento é seccionado em cortes com espessuras da ordem de micrômetros. Após um banho histológico as seções são dispostas em lâminas de vidro. O processo termina, mas tem-se que enfrentar um outro problema. A grande maioria das estruturas celular e tecidual é transparente e incolor e possui um índice de refração muito próximo, o que dificulta a sua observação.

Assim, uma nova etapa se faz necessária: a COLORAÇÃO. As técnicas de coloração procuram associar o caráter básico ou ácido do corante a ser utilizado ao do material a ser evidenciado. Finalmente, passa-se o bálsamo do Canadá no fragmento e adere-se uma lamínula de vidro por cima para a sua proteção. A lâmina é levada ao microscópio de luz para ser analisada.

O procedimento relatado acima se justifica na medida em que a nossa primeira experiência com tecido biológico foi realizada com tecidos incrustados em parafina. A possibilidade de se ter uma amostra com geometria comportada, facilidade de manuseio e a manutenção da integridade das amostras nos seduziu, conduzindo-nos a resultados “mascarados” pela parafina. O estudo da difração de raios X em tecidos biológicos, com amostras parafinadas, nos mostrou que a parafina não funciona como coadjuvante no processo de obtenção dos perfis de difração. Seu perfil é bem definido e intenso, dificultando a presença dos perfis de difração de nosso interesse.

A primeira experiência foi realizada com amostras biológicas parafinadas com espessura de 2,0 mm (Figura III.1). As características dos tecidos estudados encontram-se na Tabela III.1.

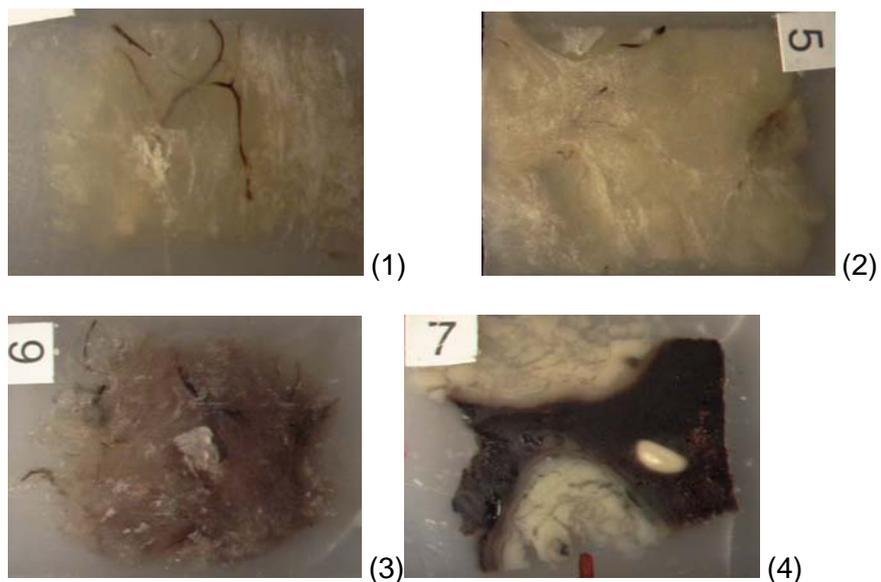


Figura III.1. Amostras fixadas em parafina identificadas segundo a Tabela III.1.

Tabela III.1. Características das amostras fixadas em parafina.

Amostra	Característica
1	Mama normal (fibrose na mama – área mais endurecida)
2	Fibrose na mama (área de proliferação de tecido conjuntivo)
3	Mama com tumor (carcinoma ductal infiltrante)
4	Pulmão mais nódulo (tuberculoma)

A segunda experiência foi realizada com amostras biológicas fixadas em formol a 10% (Figura III.2). Cortadas com espessuras de 1,0 mm eram mantidas em vidro, separadamente, no formol, sendo retiradas somente no momento de se realizar a experiência. As características dos tecidos estudados são apresentadas na Tabela III.2.

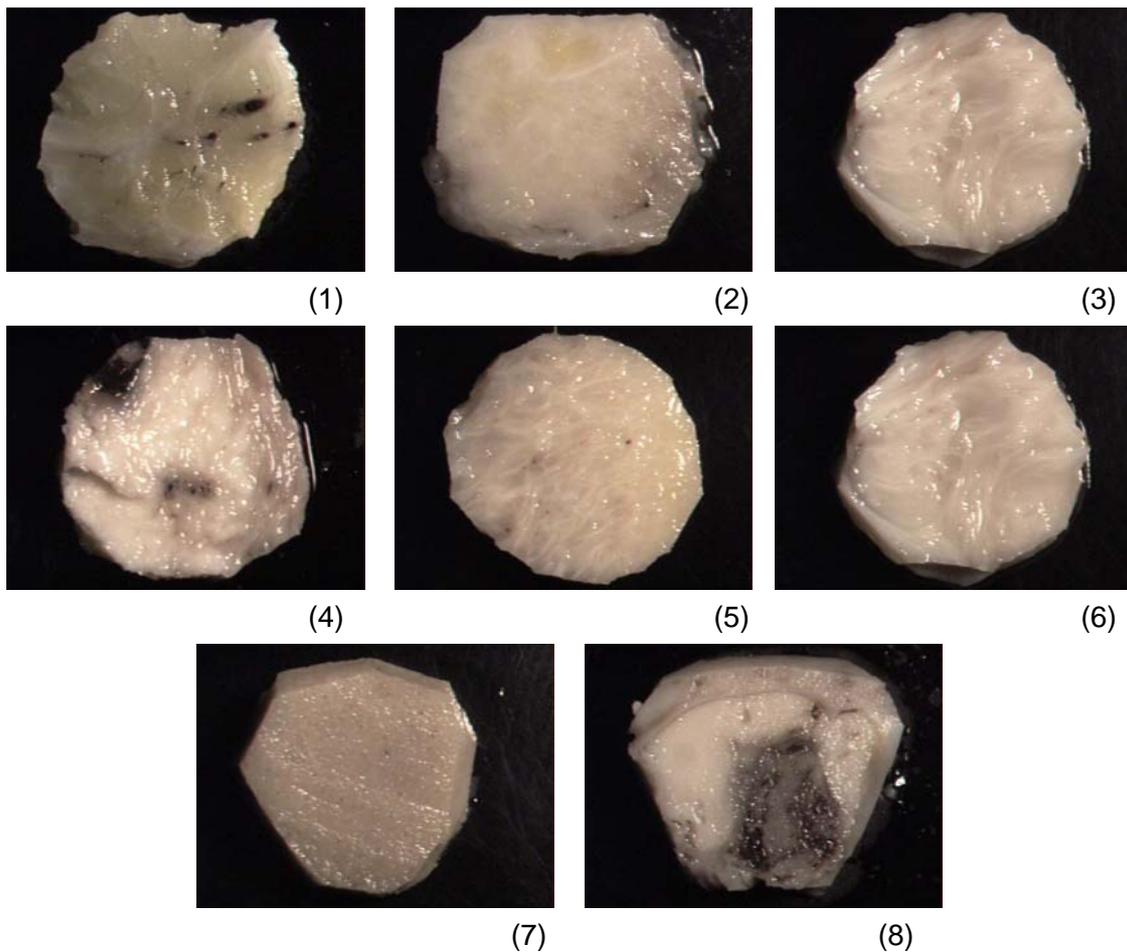


Figura III.2. Amostras fixadas em formol identificadas segundo a Tabela III.2.

Tabela III.2. Características das amostras fixadas em formol.

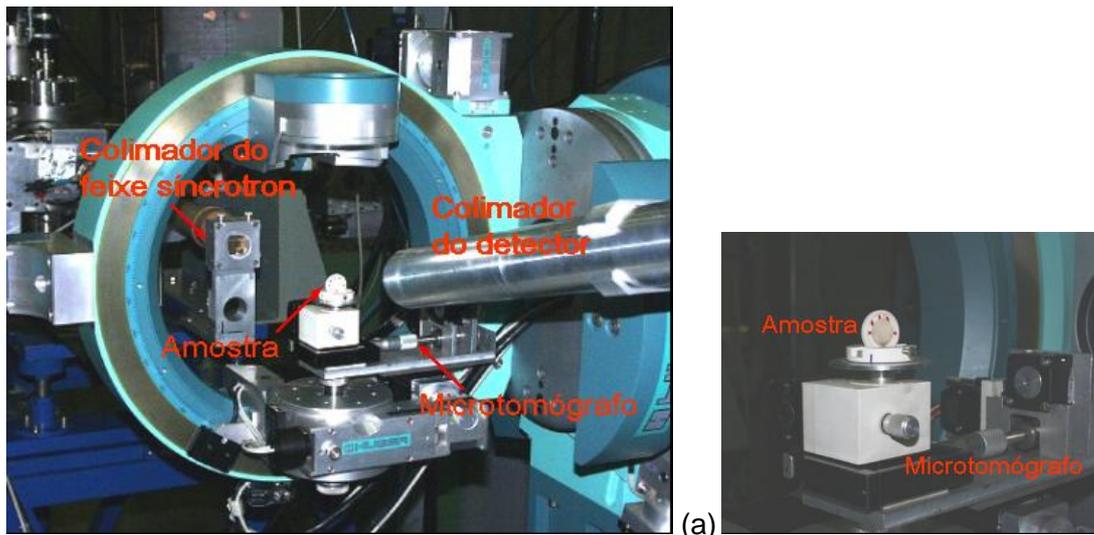
Amostra	Característica
1	Mama normal
2	Mama com carcinoma ductal infiltrante
3	Útero normal
4	Tumor de útero
5	Útero normal
6	Mioma
7	Rim normal
8	Tumor de rim

III.2 – METODOLOGIA PARA CARATERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

III.2.1. Arranjo Experimental

As medidas foram realizadas na linha de luz de Difração de Raios X de alta resolução (XRD2) instalada no imã defletor B10 (4°) do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS/CNPq) situado em Campinas, Brasil. A linha possui um monocromador de duplo cristal de Si (111) com saída constante com possibilidade de uso de monocromador *channel-cut* Si(111) e Si (220), assim como monocromador de quatro cristais de alta resolução. O difratômetro de seis círculos Huber é equipado com analisador theta-dois theta e analisador de polarização. A energia do feixe incidente foi de 11 keV ($\lambda=1,127 \text{ \AA}$) [GILES, 2003]. A figura III.3a mostra o arranjo experimental.

O sistema de microtomografia é composto de uma mesa posicionadora de amostras (microtomógrafo), que comporta dois motores de passo, um para o deslocamento longitudinal e outro para girar a amostra. O controle dos motores de passos é feito por uma placa de interface projetada para ser usada em um micro-computador PC-compatível. A placa possui, também, um contador para sinais provenientes de um analisador monocanal. O controle e aquisição dos pulsos são feitos por um programa dedicado. Todo o sistema de microtomografia foi desenvolvido no Laboratório de Instrumentação Nuclear da COPPE/UFRJ. Devido a sua versatilidade, o mesmo sistema pode ser usado para o levantamento das varreduras unidimensionais (utilizando somente o motor de translação) e será usado para a futura realização das tomografias. A figura III.3b mostra uma visão do microtomógrafo posicionado no difratômetro.



(b)

Figura III.3. (a) Arranjo experimental mostrando os componentes. (b) Vista do microtomógrafo.

O sistema de detecção contava com uma câmara de ionização antes do difratômetro e um detector cintilador rápido NaI(Tl) (10^6 contagens/segundo) com analisador multicanal e *software* instalados no computador principal. A câmara de ionização foi usada para corrigir os dados experimentais em função das variações na corrente do feixe e deslocamentos orbitais. A incerteza estatística dos dados ($\sqrt{1/\text{contagem}}$) foi menor do que 3 % para as intensidades espalhadas medidas. As incertezas associadas ao argumento do momentum transferido foram calculadas usando a expressão:

$$\Delta x = \frac{1}{12.398} \left\{ \left[(E/2) \cos(\theta/2) \Delta\theta \right]^2 + \left[\text{sen}(\theta/2) \Delta E \right]^2 \right\}^{1/2}, \text{ resultando em uma}$$

resolução de momentum transferido média de $\Delta x = 0,0004 \text{ \AA}^{-1}$.

A componente de espalhamento Compton pode ser ignorada porque é pequena e sem estrutura em todo intervalo de θ medido. Multi-espalhamento também pode ser ignorado porque o tamanho das amostras é pequeno comparado ao livre

caminho médio dos fótons espalhados. A radiação de *background* foi obtida na ausência da amostra e seu perfil foi subtraído dos perfis de espalhamento medidos. Para a correção de absorção, os coeficientes de atenuação foram calculados usando-se os dados obtidos nas medidas de transmissão simultâneas [CASTRO, 2004 e 2005a)].

III.2.2. Perfis de Difração:

O perfil de difração de um dado material é o registro da intensidade da radiação difratada em função do ângulo de difração. A Figura III.4 mostra o esquema experimental do procedimento utilizado para se obter as intensidades espalhadas por difração, na condição de Bragg (detector 2) medidas por um detector cintilador rápido NaI(Tl) e as intensidades transmitidas (detector 1) medidas por uma câmara de ionização. A intensidade da radiação espalhada (número de fótons por segundo) foi registrada pelo programa de aquisição de dados disponível na linha XRD2 em função do ângulo. A energia da radiação incidente foi de 11 keV ($\lambda=1,127 \text{ \AA}$), para um feixe de 0,5 mm por 2,0 mm para as amostras fixadas em parafina e 1,0 mm por 2,0 mm para as amostras em formol.

Para as amostras parafinadas, os perfis de difração foram obtidos num intervalo angular de 5° ($x = 0,0387 \text{ \AA}^{-1}$) a 25° ($x = 0,192 \text{ \AA}^{-1}$) com passo de $0,05^\circ$, correspondendo a um total de 400 pontos com um tempo de integração de 5 segundos por ponto.

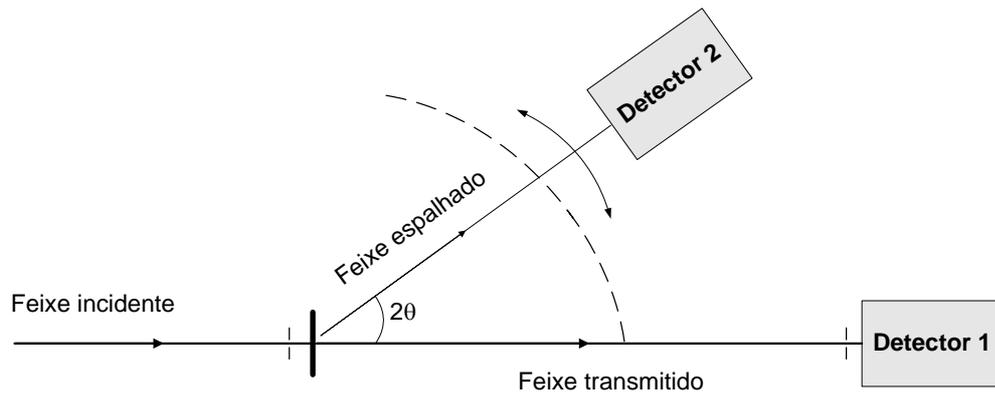


Figura III.4. Esquema experimental da geometria por transmissão para obtenção dos perfis de espalhamento.

Para as amostras fixadas em formol, os perfis de difração foram obtidos com uma variação angular de 5° ($x = 0,0387 \text{ \AA}^{-1}$) a 50° ($x = 0,375 \text{ \AA}^{-1}$) em intervalos de $0,05^\circ$, o que corresponde a 900 pontos com um tempo de integração de 5 segundos por ponto. De modo a avaliar a homogeneidade das amostras fixadas em formol, o perfil de difração em 7 diferentes posições (x,y) dentro da mesma amostra foram obtidos.

III.2.3. Varredura Unidimensional

A varredura unidimensional realizada nos dois conjuntos de amostras (fixadas em parafina e em formol) foi realizada fixando-se o detector 2 no ângulo característico encontrado para o tecido patológico. As amostras foram localizadas perpendicularmente ao feixe incidente. O deslocamento horizontal da amostra foi realizado utilizando-se o microtomógrafo (Figura III.3b). A portabilidade do microtomógrafo e a versatilidade do software de controle e aquisição de dados permitiram a utilização do microtomógrafo para obtenção das varreduras unidimensionais por difração e absorção ao mesmo tempo.

Para as amostras em parafina, a varredura foi realizada com passo de translação igual a 100 μm com um tempo de integração de 10 segundos por ponto, totalizando 190 pontos. Para as amostras em formol, a varredura foi realizada com passo de translação igual a 500 μm com um tempo de integração de 10 segundos por ponto, totalizando 38 pontos.

III.3 – METODOLOGIA PARA REALIZAÇÃO DA TC SELETIVA

III.3.1. Arranjo Experimental

Todo o trabalho experimental para obtenção das imagens foi realizado na linha de Difração de Raios X (XD1) instalada no imã defletor D12A (4°) no LNLS. Uma descrição detalhada desta linha pode ser encontrada em [CUSATIS et al, 1998]. Um duplo cristal Si(111) pré-monocromador foi usado para selecionar uma pequena faixa de energia ($\Delta\lambda/\lambda \approx 10^{-4}$) em 11 keV ($\lambda=1,127\text{\AA}$). O sistema de detecção é composto de duas câmaras de ionização antes e depois da amostra e detectores cintiladores rápidos NaI(Tl) (10^6 contagens/s) foram usados nas posições de espalhamento e transmissão. As câmaras de ionização foram usadas para corrigir os dados experimentais em função das variações na corrente do anel. Sistemas de fendas foram colocados antes e depois da amostra para reduzir o espalhamento. As medidas foram realizadas em geometria de transmissão (Figura III.5), com a amostra posicionada no centro da mesa tomográfica. As incertezas estatísticas associadas ao fluxo espalhado medido ($\sqrt{1/\text{contagem}}$) foram menores que 2%. A figura III.6 mostra o arranjo experimental utilizado.

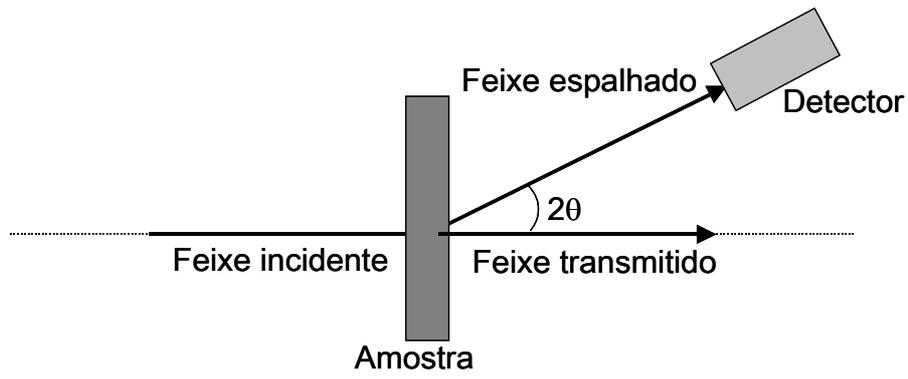


Figura III.5. Geometria de medida para obtenção dos perfis de espalhamento.

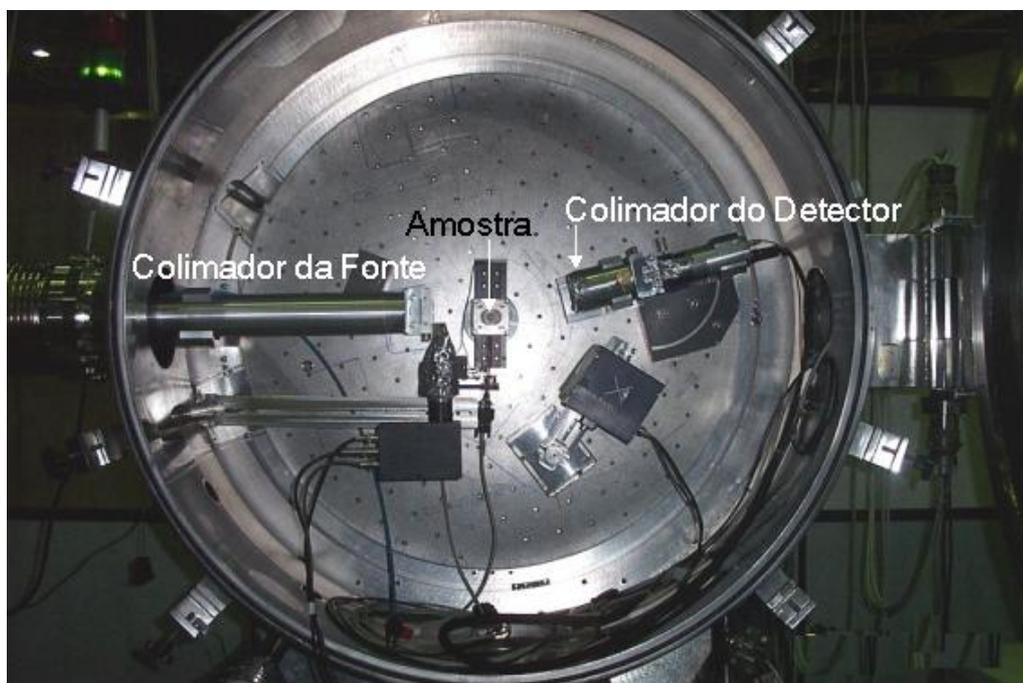


Figura III.6. Arranjo experimental mostrando os componentes.

III.3.2. Imagens por Difração:

Para este trabalho, o detector foi fixado na posição do ângulo característico da gordura ($\theta=14.4^\circ$) e, então, realizou-se uma varredura unidimensional produzindo um perfil (ou projeção) de modo que a presença do tecido saudável será realçada, distinguindo as regiões de tecido invadidas pelo câncer.

Duas amostras, chamadas A e B, foram construídas. A amostra A foi obtida de uma mastectomia e continha uma região com carcinoma ductal infiltrante (Figura III.2(2)) descrita na Tabela III.2. A amostra B foi construída de modo a testar a técnica em distinguir tecido mamário saudável e patológico. A amostra consistia de duas metades: tecido adiposo saudável e carcinoma ductal infiltrante cortadas no tamanho desejável das amostras frescas 1 e 2 identificadas na tabela III.2. Ambas as amostras foram envoltas em Kapton ® de 0,1 mm formando um cilindro com diâmetro de 8 mm.

A amostra foi posicionada em uma mesa microtomográfica no centro da geometria de espalhamento (Figura III.7). O movimento linear da amostra resulta em uma única projeção. Um conjunto de projeções adequado para permitir a reconstrução bi-dimensional da dependência angular da seção choque de espalhamento coerente é obtida pela rotação da amostra através de um pequeno ângulo entre as projeções. A amostra foi transladada em passos de 300 μm com um tempo de exposição de 1s por passo e um conjunto de 50 projeções (amostragem em 180°) foi realizado. Uma tomografia por transmissão foi realizada simultaneamente.

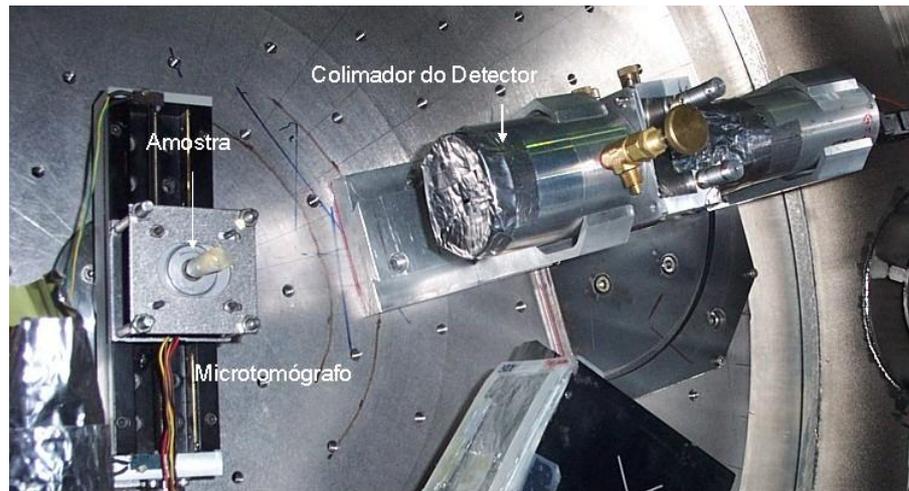


Figura III.7. Vista da amostra posicionada para realização da tomografia.

A epígrafe citada no início desse capítulo diz, que uma das características da ciência é a repetitividade para as mesmas condições experimentais. Esse capítulo assegura essa possibilidade e fecha o ciclo de conhecimentos básicos para se realizar experiência com difração de raios X. O capítulo IV mostra os resultados obtidos, para baixo momento transferido, considerando o espalhamento coerente (Rayleigh), na condição de difração com interferência construtiva das radiações espalhadas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Assim como um monte de tijolos não é uma casa, um monte de fatos não é uma ciência.
(H. Poincaré)

Se entendermos fatos como resultados experimentais, fica difícil compreender a citação de Poincaré. A nossa tese é essencialmente experimental e os resultados traduzem um fato. Pode-se melhorar o espectro de difração com correções de absorção, espalhamento Compton e etc, mas não podemos desconsiderar um fato: o ângulo de Bragg encontrado para cada amostra. Ao fazermos a varredura angular, das amostras parafinadas, a precisão do aparecimento do ângulo de difração da parafina, consubstanciava uma repetitividade experimental confiável.

Como os perfis de difração foram obtidos para diferentes regiões teciduais, identificados por inspeção visual da patologista, certificamos de estar no mesmo espaço fazendo a varredura angular em vários pontos das amostras fixadas em formol a partir de um ponto central. O ângulo de Bragg repetia-se monotonamente consistente, caracterizando a região visualizada. Assim, podemos dizer que organizamos o monte de tijolos de Poincaré e construímos uma casa sólida e confiável.

IV.1. AMOSTRAS FIXADAS EM PARAFINA

As figuras IV. 1(a) e 1(b) mostram as amostras 3 (mama com carcinoma) e 4 (pulmão com tuberculoma) fixadas em parafina (Tabela III.1) identificando as regiões normais e patológicas.

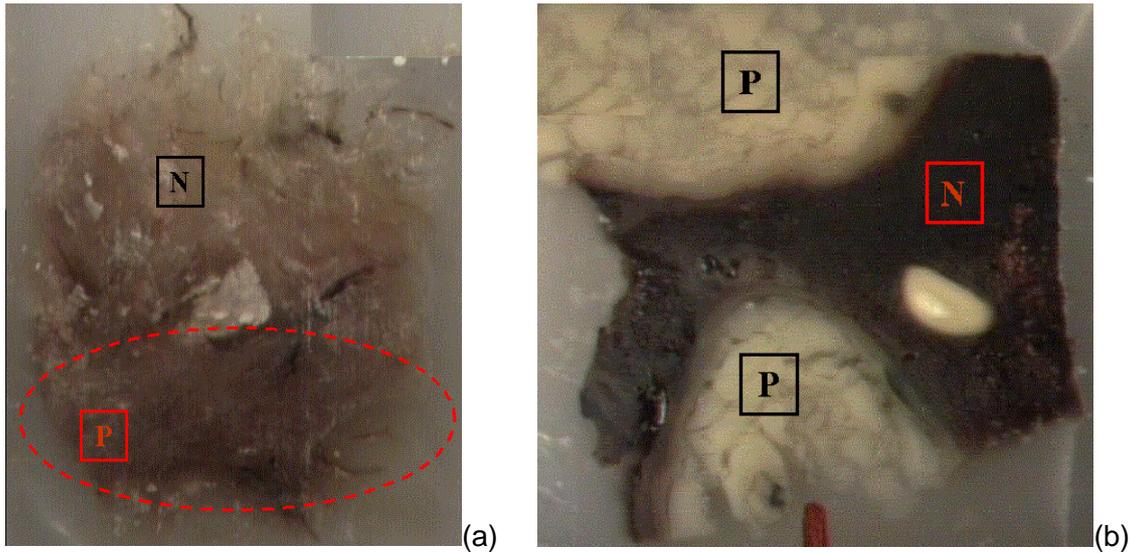


Figura IV.1. Amostras indicando as regiões normais (N) e patológicas (P): (a) mama com carcinoma, (b) pulmão.

A habilidade em detectar pequenas mudanças nos tecidos foi avaliada usando o parâmetro chamado de CONTRASTE. O contraste foi obtido medindo-se a diferença entre a seção de choque de espalhamento coerente para o tecido patológico e normal, dividida pela seção de choque de espalhamento coerente para o tecido normal presente na mesma amostra:

$$\text{Contraste} = \frac{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Patológico}} - \left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Normal}}}{\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Normal}}} \quad \text{IV.1}$$

onde: $\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{Normal}$ e $\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{Patológico}$ são as seções de choque diferenciais

elásticas para o tecido normal e patológico, respectivamente..

Os perfis de difração foram obtidos para diferentes regiões escolhidas usando as áreas identificadas pela inspeção visual. O perfil de difração para a amostra 4 (pulmão com tuberculoma) é apresentado na figura IV.2.

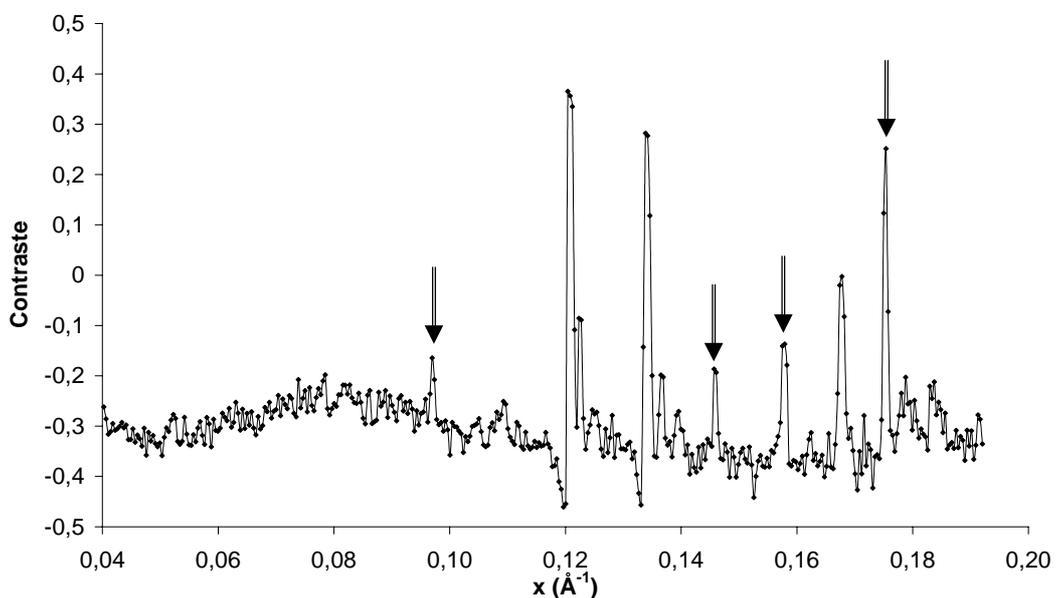


Figura IV.2. Perfil de difração para a amostra 4. As setas indicam as posições das principais reflexões.

O contraste foi calculado usando a intensidade líquida calculada pela diferença entre as intensidades espalhada pela amostra e a intensidade espalhada pela parafina. Desta forma, as setas indicam as reflexões características da amostra, os demais picos são devido à presença da parafina. O ângulo característico que produziu um pico de interferência mais intenso para o tuberculoma (amostra 4) foi igual a $22,8^\circ$ ($x=0,1754 \text{ \AA}^{-1}$) [CASTRO, 2003].

IV.1.1. Varredura 1D

A varredura unidimensional no modo de difração foi realizada fixando-se o detector no ângulo de espalhamento característico para o tecido patológico ($\theta = 22,8^\circ$) com passo de translação igual a $100 \mu\text{m}$ e tempo de integração de 10 s por ponto, num total de 190 pontos. As figuras IV.3a e IV.3b apresentam as direções de varredura realizadas em cada amostra.

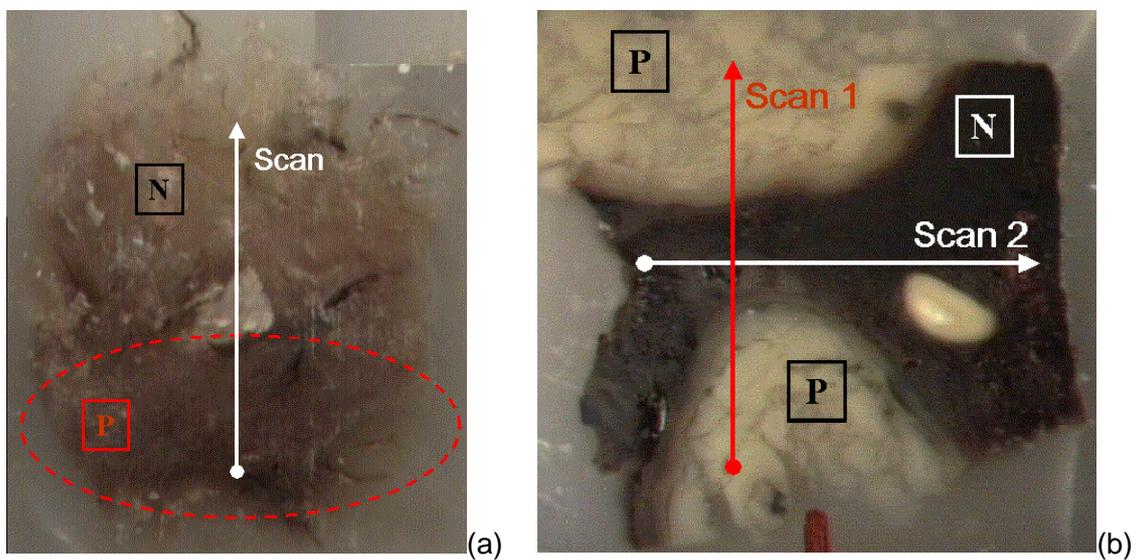


Figura IV.3. Direções de varreduras realizadas: (a) mama com carcinoma, (b) pulmão.

As figuras IV.4 e IV.5 mostram a intensidade relativa medida em função da posição nas direções de varredura especificadas.

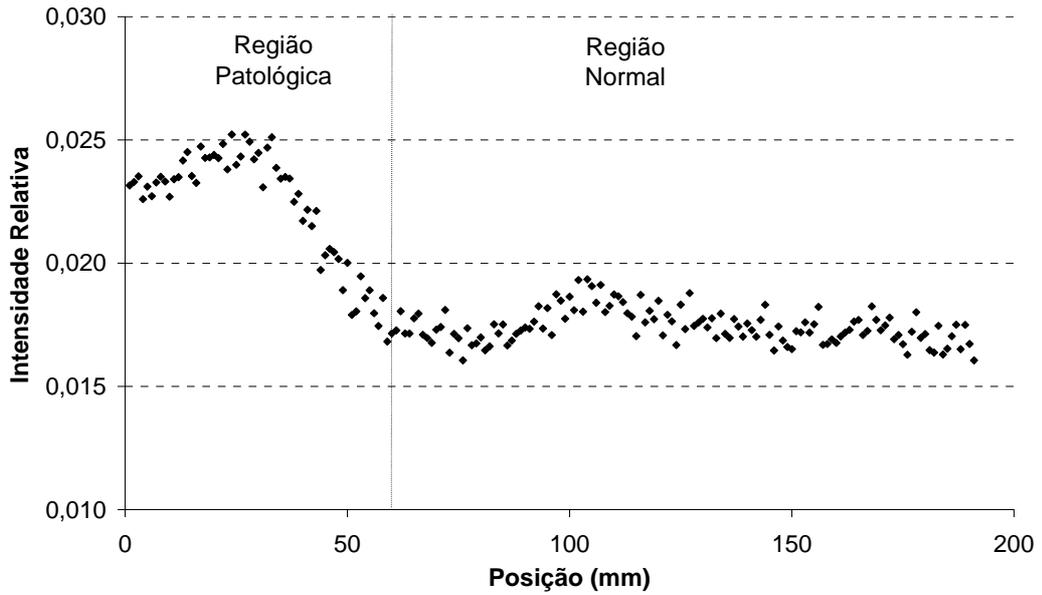


Figura IV.4. Varredura de difração realizadas com o detector posicionado no ângulo característico para o carcinoma ($\theta = 22,8^\circ$) para a amostra 3.

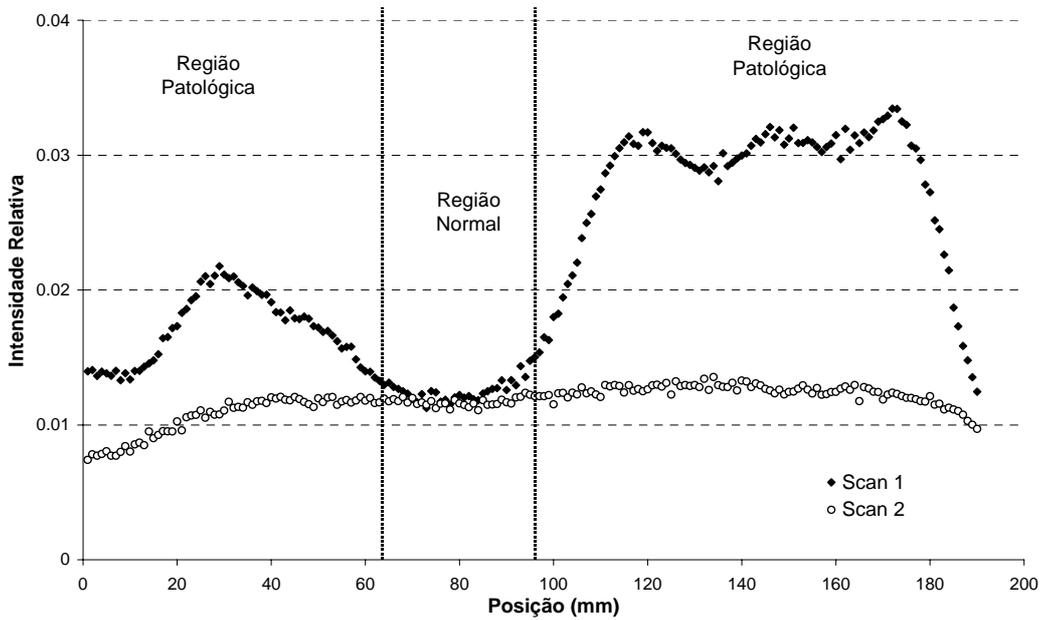


Figura IV.5. Varreduras de difração realizadas com o detector posicionado no ângulo característico para o tuberculoma ($\theta = 22,8^\circ$) para a amostra 4.

IV.1.2. Comparação entre as Varreduras por Difração e Absorção

Analogamente à definição do parâmetro CONTRASTE para a varredura por difração (Eq. IV.1), o contraste para a varredura por absorção foi obtido através da relação:

$$\text{Contraste} = \frac{\mu_{\text{Patológico}} - \mu_{\text{Normal}}}{\mu_{\text{Normal}}} \quad \text{IV.2}$$

onde: μ_{Normal} e $\mu_{\text{Patológico}}$ são os coeficientes de atenuação linear dos tecido normal e patológico, respectivamente.

As figuras IV.6 e IV.7 mostram a comparação entre as varreduras realizadas nos modos de difração e absorção em função da posição dentro das amostras 3 e 4, respectivamente.

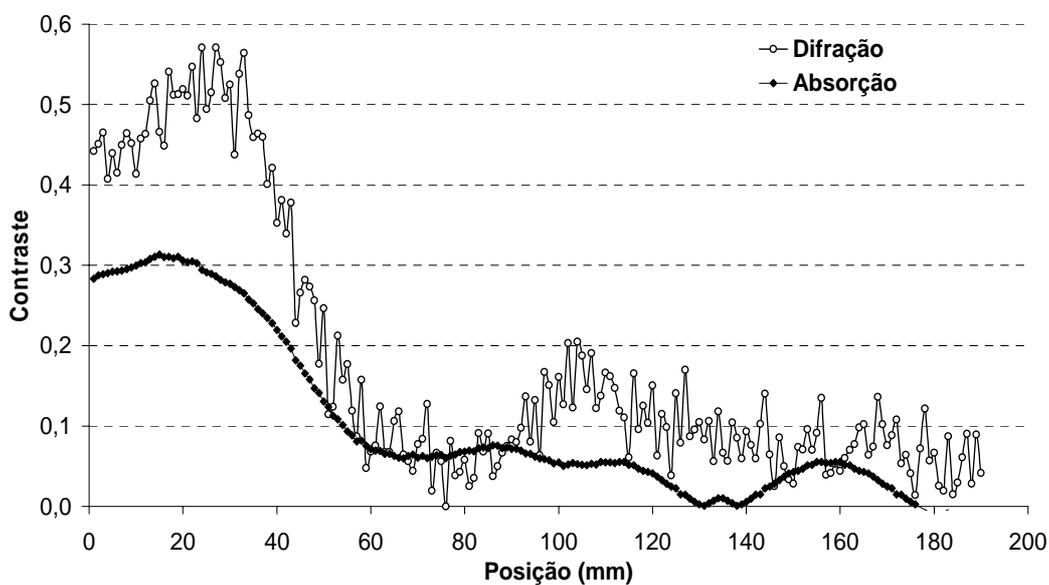


Figura IV.6. Contraste calculado para a varredura por difração e absorção para a amostra 3 (mama com carcinoma).

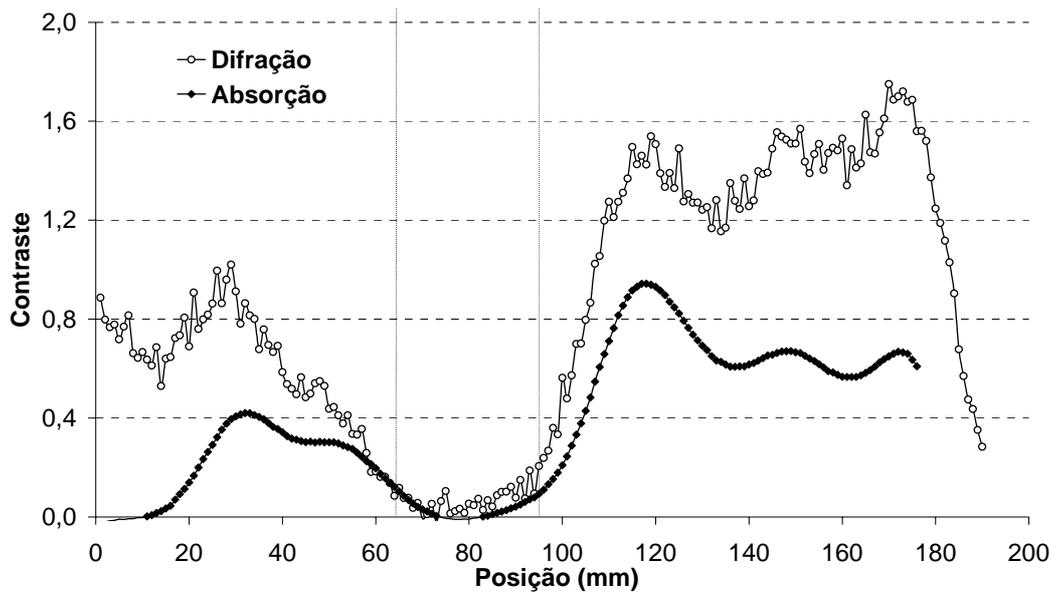


Figura IV.7. Contraste calculado para a varredura por difração e absorção para a amostra 4 (pulmão com tuberculoma).

IV.2. AMOSTRAS FIXADAS EM FORMOL

KIDANE et al (1999) apresentaram perfis de espalhamento para tecido normal e tumoral mamário, usando um sistema de difração de raios X dispersivo em energia (EDXRD), onde foram mostradas pela primeira vez as diferenças para esses tecidos. Tecidos mamários adiposos, glandulares e cancerosos foram também medidos por POLETTI et al (2002) usando um tubo de raios X com ânodo de molibdênio, equipado com um monocromador de grafite, produzindo um feixe monocromático de 17,44 keV.

Uma característica comum nas amostras desses autores é que elas são colocadas em tubos de plástico e refrigeradas com gelo comum. Ao se realizar as medidas tem-se que esperar o equilíbrio térmico das amostras com o ambiente e enfrentar as correções devido ao perfil de espalhamento do plástico.

A obtenção dos perfis de difração do tecido mamário [CASTRO, 2004] permitiu comparar esses resultados com outros trabalhos existentes na literatura [KIDANE et al, 1999; POLETTI, 2002]. Entretanto, os demais perfis são inéditos e foram apresentados pela primeira vez em CASTRO (2005a).

V.2.1. Perfis de Difração

As amostras estudadas foram identificadas como 1 (mama normal), 2 (mama com carcinoma ductal infiltrante), 3 (útero normal), 4 (tumor de útero), 5 (útero normal), 6 (mioma), 7 (rim normal) e 8 (tumor de rim) na tabela III.2. Os resultados obtidos estão sendo introduzidos na literatura utilizando amostras "livres", com a utilização de um simples modo de preparação, o que as tornam mais próximas da situação real. A utilização do LNLS nos coloca em condições de reivindicar o pioneirismo na obtenção dos perfis de difração de tecidos humanos por luz síncrotron no nosso país.

Os perfis de difração (caracterização) foram obtidos em 7 diferentes posições (*sites*) dentro das amostras. A figura IV.8 mostra um exemplo da distribuição destes *sites* na amostra de mama normal (amostra 1 da tabela II.2):

- 1) site 0 – no centro da amostra;
- 2) site 1 – 3 mm à direita do site 0;
- 3) site 2 – 3 mm à direita do site 1;
- 4) site 3 – 3 mm à esquerda do site 0;
- 5) site 4 – 3 mm à esquerda do site 3;
- 6) site 5 – 3 mm acima do site 0; e
- 7) site 6 – 3 mm abaixo do site 0.



Figura IV.8. Amostra 1 (mama normal) indicando as posições dos sites de análise.

Os perfis obtidos para todas as amostras analisadas são apresentados nas figuras IV.9 a IV.16, obedecendo a ordem apresentada na tabela III.1. Os códigos indicados em cada figura são os números do prontuário do paciente que estão arquivados no Hospital.

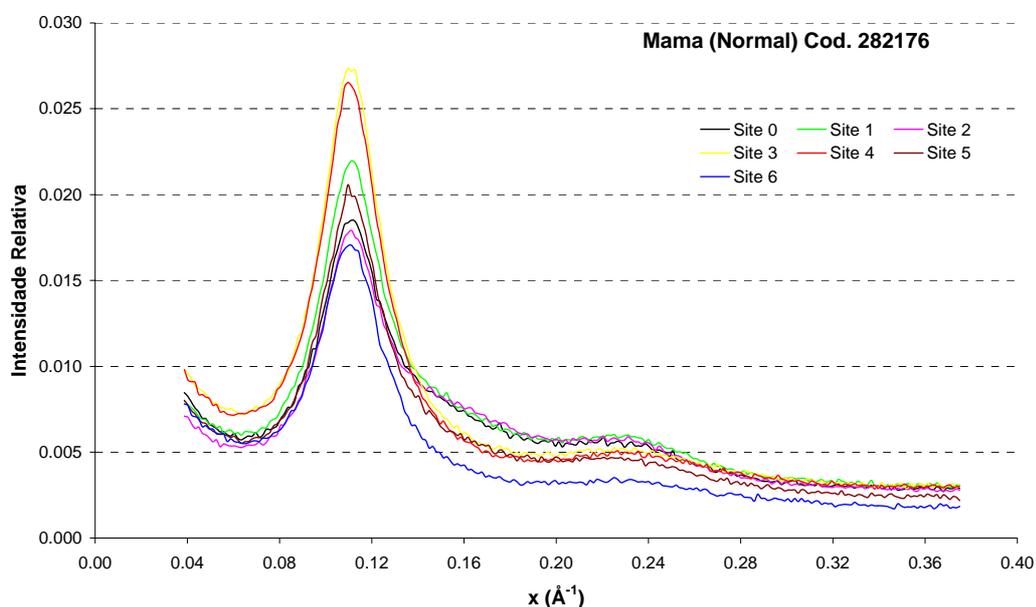


Figura IV.9. Perfil de difração da amostra 1 (mama normal).

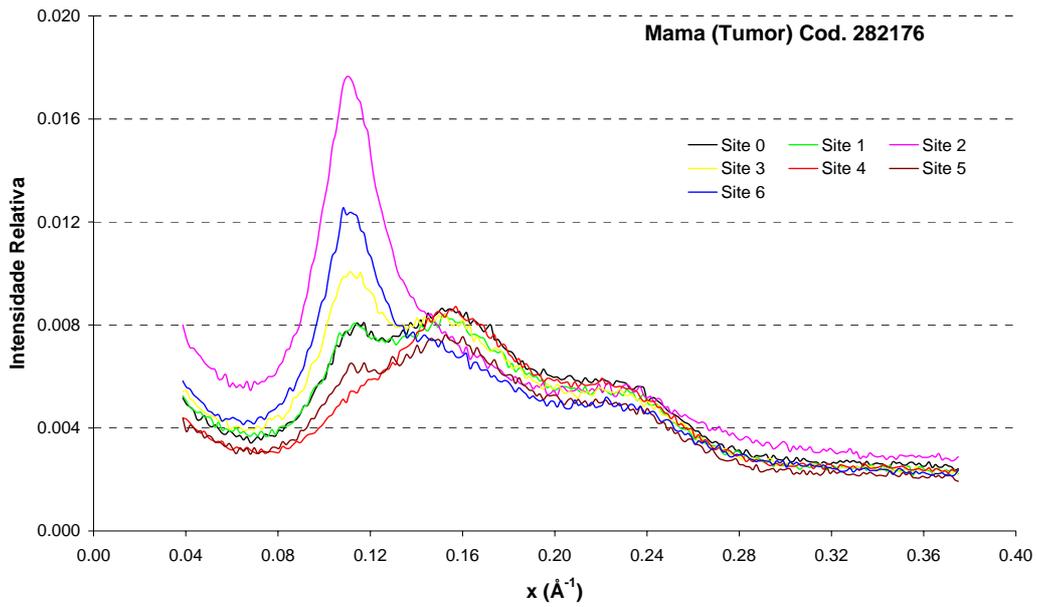


Figura IV.10. Perfil de difração da amostra 2 (tumor de mama).

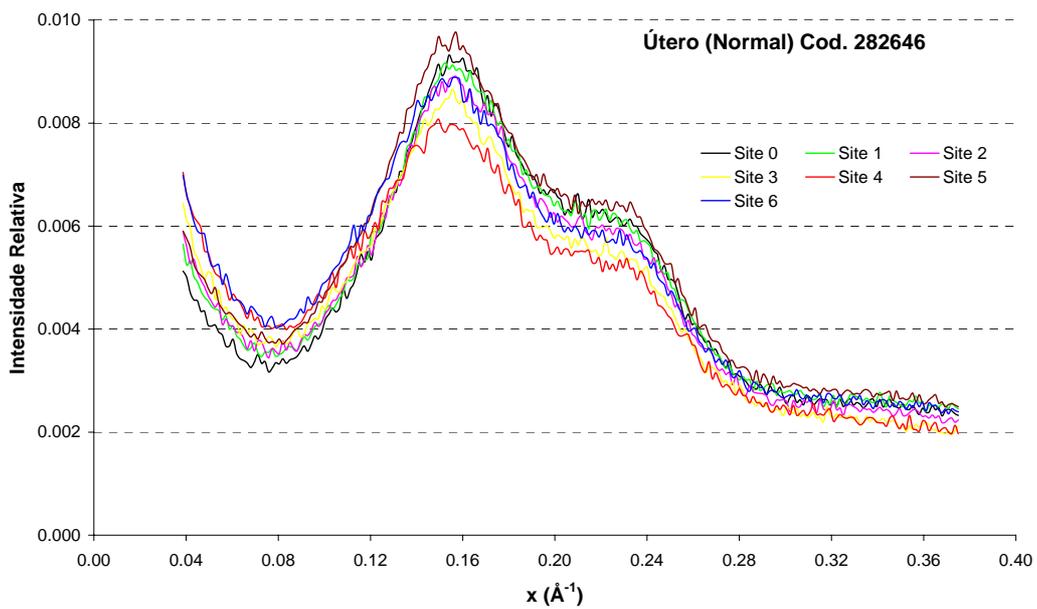


Figura IV.11. Perfil de difração da amostra 3 (útero normal).

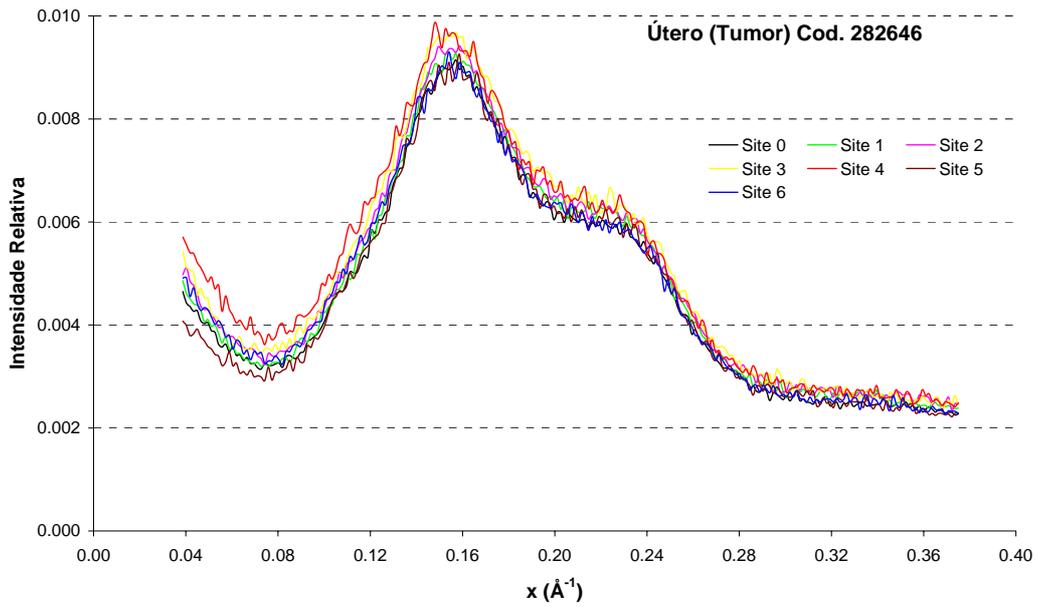


Figura IV.12. Perfil de difração da amostra 4 (tumor de útero).

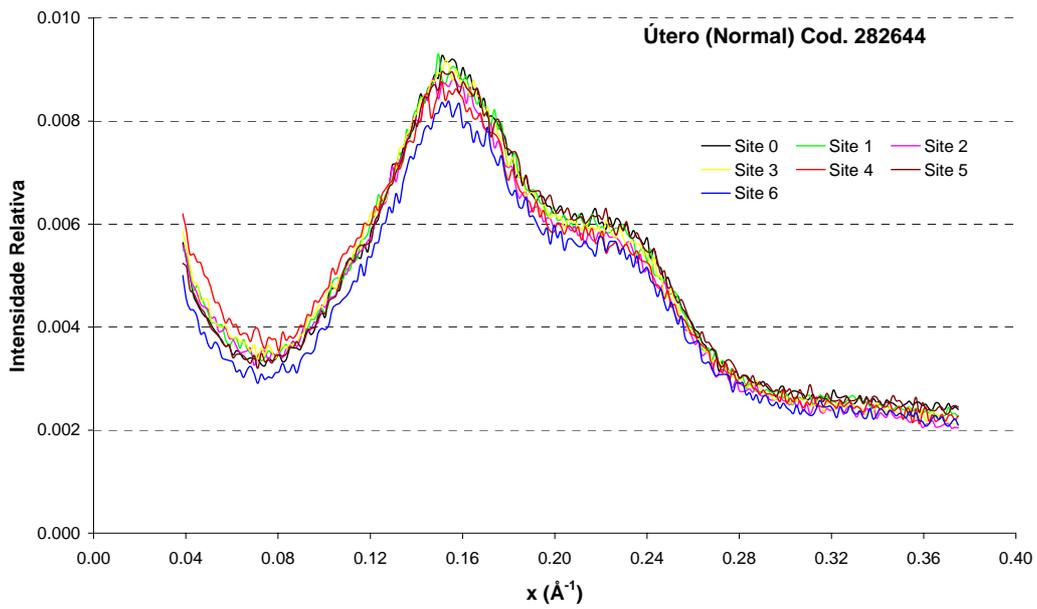


Figura IV.13. Perfil de difração da amostra 5 (útero normal).

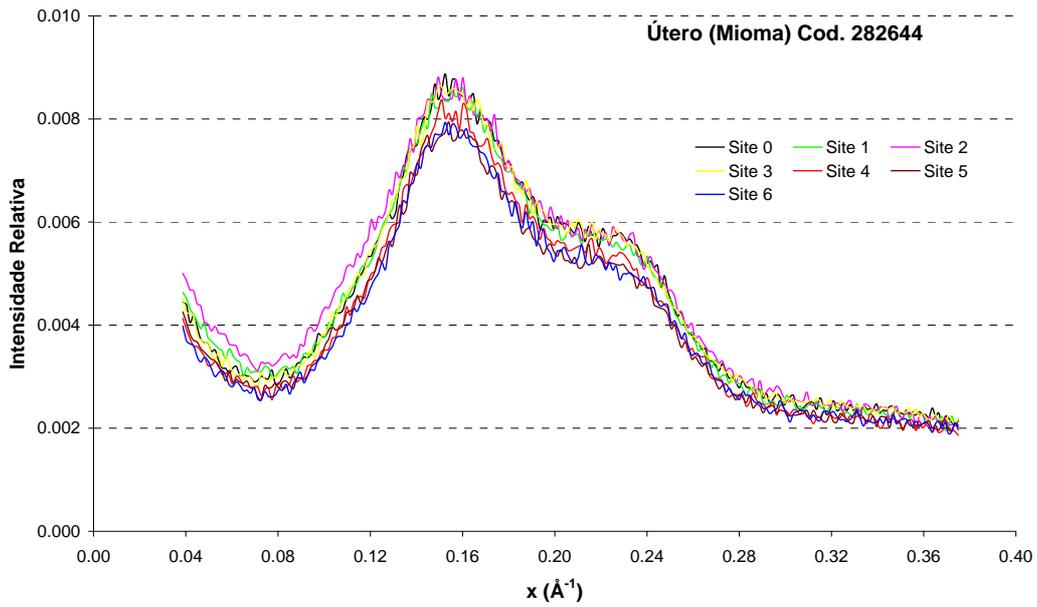


Figura IV.14. Perfil de difração da amostra 6 (útero com mioma).

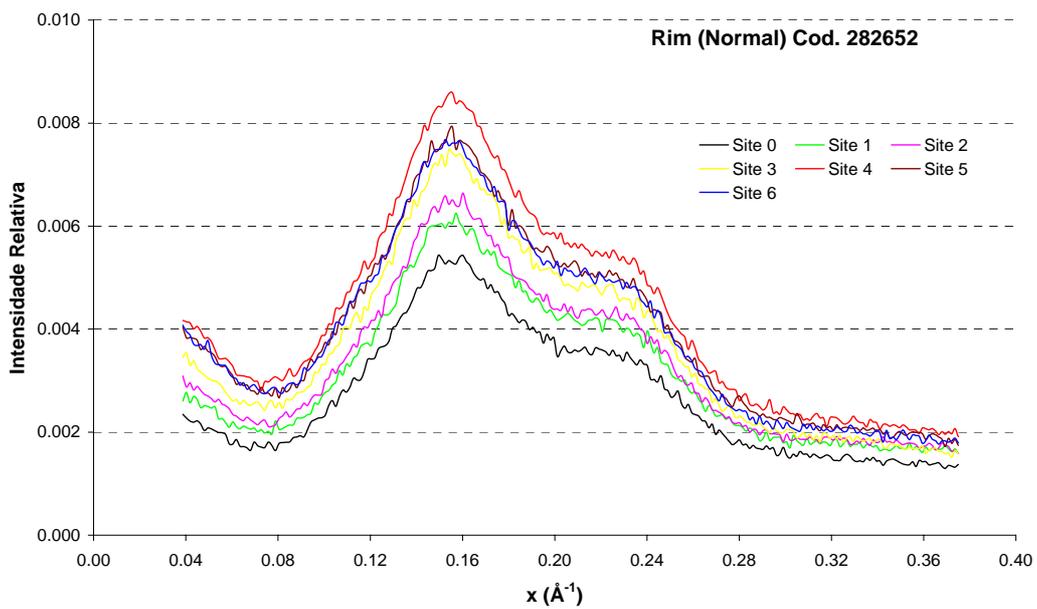


Figura IV.15. Perfil de difração da amostra 7 (rim normal).

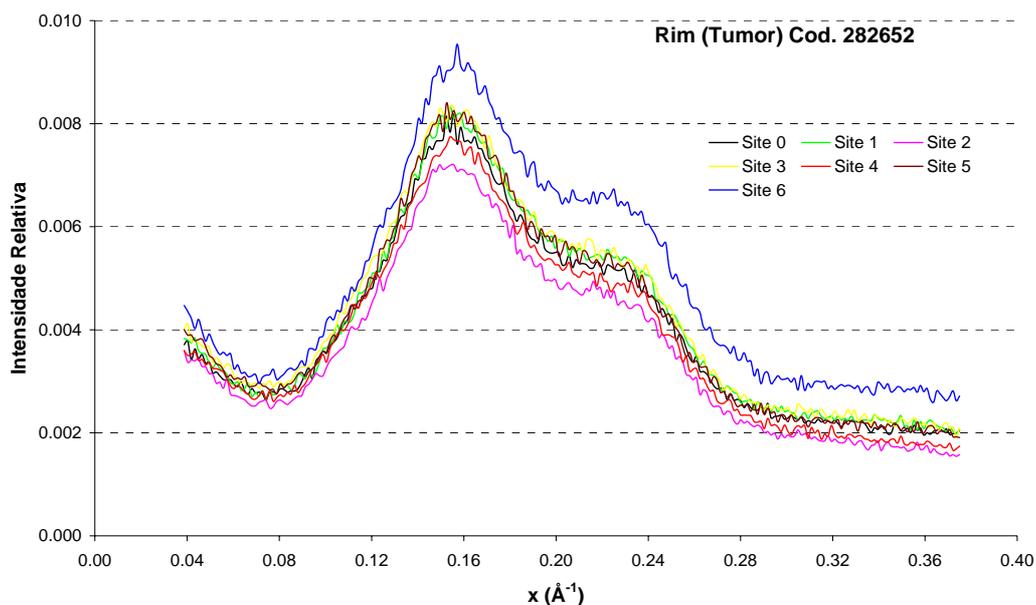


Figura IV.16. Perfil de difração da amostra 8 (tumor de rim).

V.2.2. Comparação entre os perfis de difração dos tecidos saudáveis e patológicos.

As figuras IV.17 a IV.20 comparam os perfis obtidos para cada amostra no centro. Dos resultados apresentados pode-se observar que o perfil de difração para a mama normal apresenta um pico mais estreito em $x=0,1112 \text{ \AA}^{-1}$ ($\theta = 14,4^\circ$). Para os demais tecidos normais e patológicos, a forma do perfil de difração é a mesma e pode-se observar a presença de dois picos em $x=0,1571 \text{ \AA}^{-1}$ ($\theta = 20,4^\circ$) seguido de uma região larga de baixa intensidade. Esses perfis são similares ao perfil da água devido à alta concentração de água presente nestes tecidos.

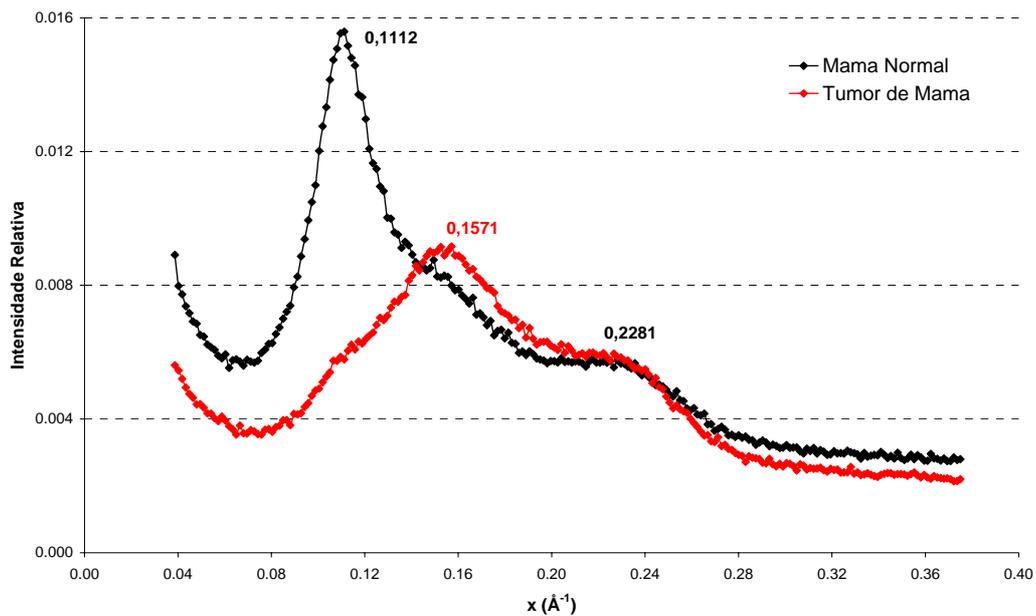


Figura IV.17. Comparação entre os perfis de difração da amostra 1 (mama normal) e amostra 2 (tumor de mama).

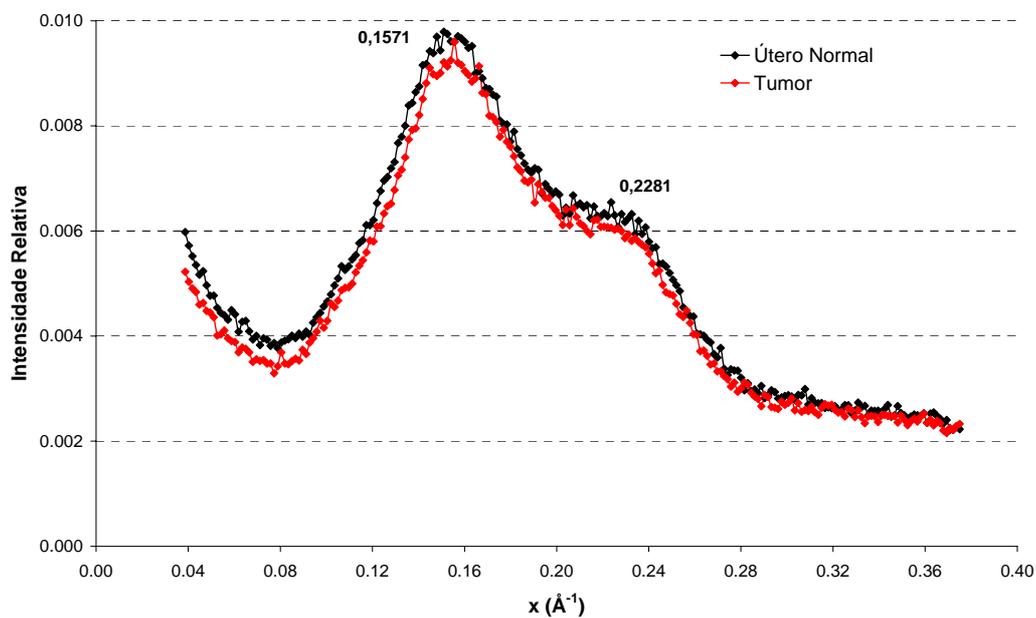


Figura IV.18. Comparação entre os perfis de difração da amostra 3 (útero normal) e amostra 4 (tumor de endométrio - mucosa uterina).

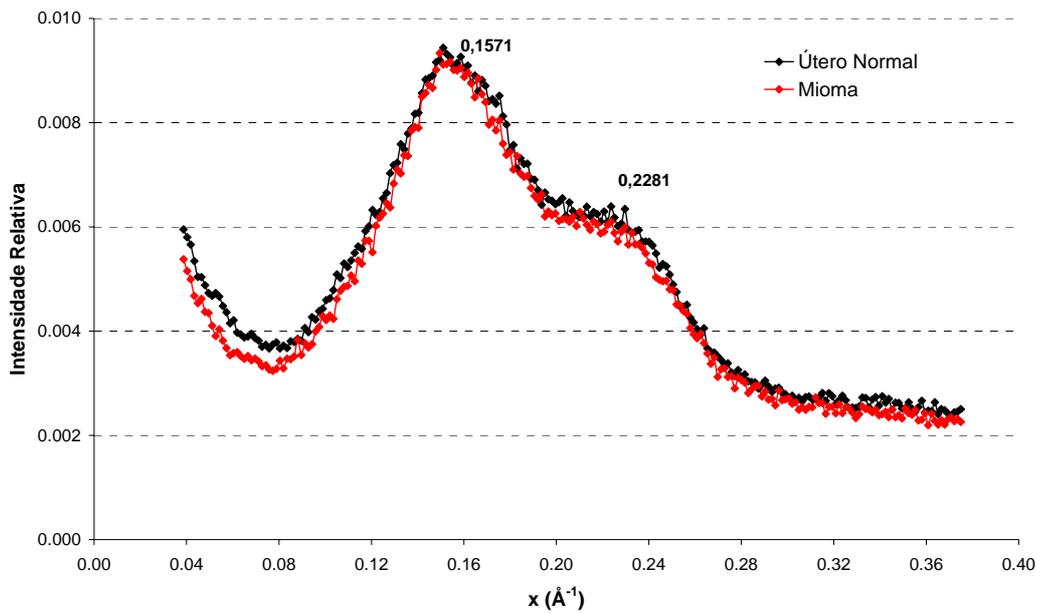


Figura IV.19. Comparação entre os perfis de difração da amostra 5 (útero normal) e amostra 6 (mioma de útero).

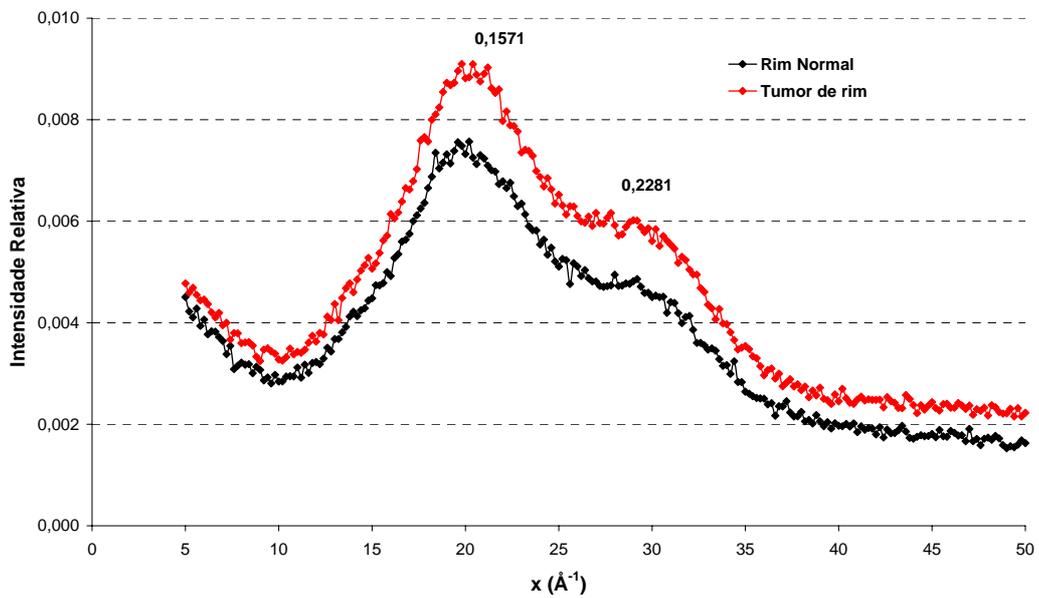


Figura IV.20. Comparação entre os perfis de difração da amostra 7 (rim normal) e amostra 8 (tumor de rim).

A altura de pulso foi um parâmetro adicional utilizado para caracterização dos tecidos [KIDANE et al (1999)]. Este parâmetro é definido como a razão entre a altura do pico largo pela intensidade média nos valores altos da variável x . A região de x entre 0,300 to 0,375 \AA^{-1} foi escolhida em virtude da característica dos perfis de difração. Para valores mais altos de momentum transferido, o fator de forma molecular aproxima-se ao modelo atômico independente (IAM), ou modelo do gás-livre, que é independente dos efeitos de interferência e, assim, similar para todos os tecidos analisados. A tabela IV.1 mostra as alturas de pulso medidas em relação ao *background* para cada tecido estudado [CASTRO, 2005a].

Tabela IV.1. Alturas de pulso medidas.

Tecido	Altura de pulso	
	Saudável	Patológico
Mama	5.320 ± 0.160	3.846 ± 0.115
Útero	3.762 ± 0.113	3.713 ± 0.111
Rim	4.038 ± 0.121	3.833 ± 0.115

IV.3. IMAGENS SELETIVAS DE AMOSTRAS MAMÁRIAS HUMANAS

As figuras IV.21(a) e IV.22(a) mostram as imagens por transmissão para as amostras A e B, respectivamente. As figuras IV.21(b) e IV.22(b) mostram as imagens seletivas obtidas no modo de difração no ângulo característico do tecido adiposo saudável para ambas as amostras estudadas.

Pode-se notar que devido à dependência angular da seção de choque coerente, é possível realçar a presença de diferentes tecidos dentro das amostras. As

setas brancas nas figuras IV.21(b) e IV.22(b) indicam as áreas escuras correspondentes à presença do carcinoma ductal infiltrante. As regiões saudáveis (H) e patológica (P) na amostra B estão identificadas na figura IV.22(a).

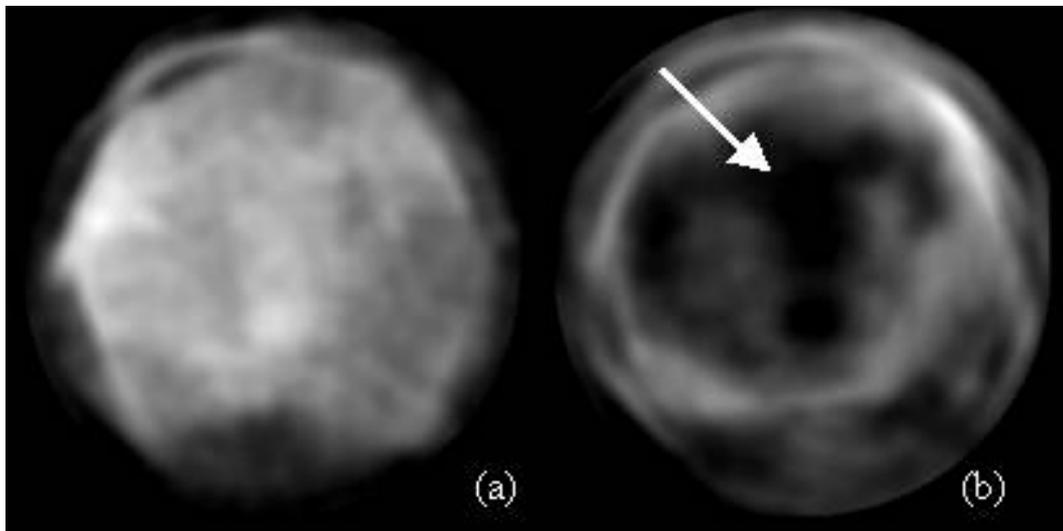


Figura IV.21. Amostra A: Imagens por (a) transmissão e por (b) espalhamento coerente.

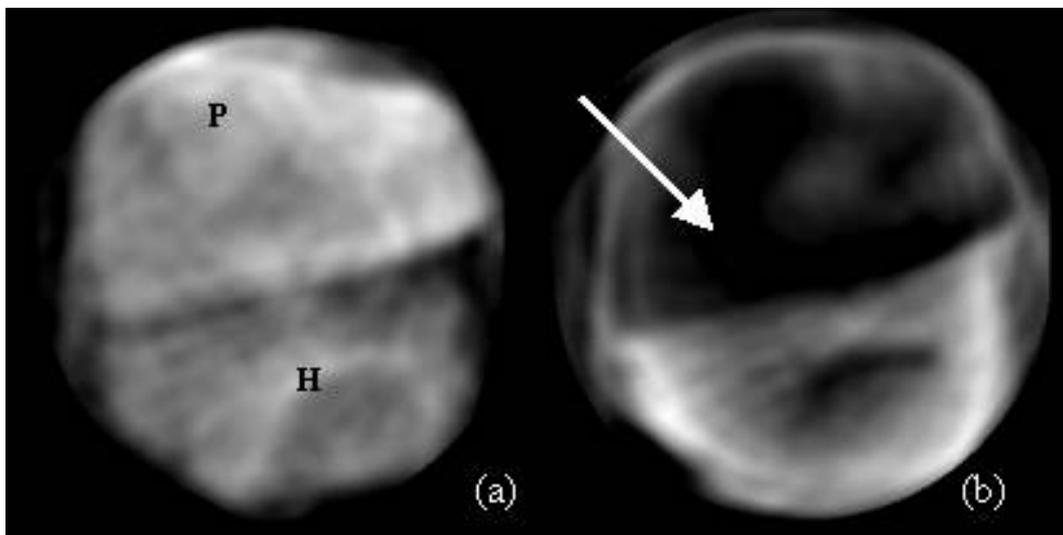


Figura IV.22. Amostra B: Imagens por (a) transmissão e por (b) espalhamento coerente.

Deve-se salientar que amostras identificadas como cancerosas tipicamente contêm alguma quantidade de tecido saudável ao redor da região com câncer, o que pode ser verificado na figura IV.21(b). As imagens por espalhamento mostram um aprimoramento na visibilidade das regiões que contêm o carcinoma em comparação com as imagens obtidas por transmissão [CASTRO, 2005b].

Enfatizamos no início desse capítulo que os resultados experimentais revelam um fato. O capítulo a seguir faz uma reflexão sobre esses dados experimentais.

CAPÍTULO V

CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES

Todo o meu esforço é no sentido de ensinar minhas aspirações a se conformarem aos fatos, e não de fazer os fatos se harmonizarem com minhas inspirações.
(Carlos Castro)

Se existe uma democracia ditatorial, a ciência se faz representar de forma única. Ninguém está impedido de falar. Não existe nenhuma conspiração contra a liberdade de expressão. Entretanto, o seu vocabulário silencia a maioria dos seres humanos. Mesmo para os conhecedores desse idioma, ela exige obediência a princípios independentes da sua subjetividade. Refutar conceitos e fatos estabelecidos lhe dá a supremacia libertadora do dogmatismo, mas sempre atendendo ao crivo experimental. Na ciência atual, a interpretação incorreta de um fato produz pouco prejuízo, pois todos se ocupam do prazer salutar de provar sua falsidade.

A "navalha de Occan" é um método econômico e objetivo de expor uma idéia. Aplicado à ciência é a procura da essência do problema, usando-se a navalha para cortar o gasto de energia com diretrizes antagônicas ao centro de interesse. Esse capítulo é a interpretação dos resultados experimentais, objetivando extrair conclusões e perspectivas tentando-se utilizar o método de Occan.

TECIDO é um conjunto de células arranjadas de maneira específica. A histologia estuda esses tecidos, que são representados por quatro tipos: epitelial, conjuntivo, muscular e nervoso. Um ORGÃO é formado por tecidos diferentes (por exemplo, pulmão, coração, fígado, etc) que exercem diversas funções. ESTROMA é o

conjunto de constituintes de um órgão, não diretamente relacionado com a sua função específica, mas que é comum a diferentes órgãos. PARÊNQUIMA é o conjunto de células destinadas a exercer uma ou mais funções específicas, portanto, existem apenas em determinados órgãos.

O tecido CONJUNTIVO encontra-se espalhado por todo o organismo e é o responsável pela conexão dos outros tecidos, mantendo-os juntos. É formado por tipos diferentes de células, com funções diferenciadas e por um conjunto de material intercelular constituído por material AMORFO e por elementos FIBRILARES. O material amorfo ou substância fundamental é viscoso, muito rico em água e é formado por glicoproteínas e etc. Os elementos fibrilares são de três tipos: fibras colágenas, reticulares e elásticas. Quando o tecido conjuntivo é formado por quase exclusivamente por células adiposas, ele passa a ser chamado TECIDO ADIPOSEO, que é constituído de células adiposas especializadas em armazenamento de energia sob a forma de LIPÍDEOS. Essas células são grandes e arredondadas e a gordura ocupa todo o citoplasma [GLEREAN, 2003].

Quando o tecido é formado pelo mesmo tipo de célula, ele é chamado de simples (por exemplo, tecido adiposo e epitelial). O tecido epitelial glandular constitui órgãos especiais chamados glândulas, que possuem canais excretores que se abrem na superfície da pele ou de uma mucosa. O ducto excretor da glândula mamária é um bom exemplo.

Considerando que os tumores malignos derivados de tecidos epiteliais são chamados de CARCINOMAS e que o carcinoma ductal infiltrante representa 75% de todos os cânceres mamários, estamos em condições de dar uma resposta satisfatória para os perfis de difração mostrados na Figura IV.10.

A primeira conclusão surge da análise física do processo de espalhamento, que mostra a possibilidade de caracterização do tecido mamário e a possível diferenciação entre o tecido normal e patológico. Os resultados encontrados para os valores de momento transferido concordam com a literatura [KIDANE et al, 1999, POLETTI et al, 2002].

A justificativa para esses perfis só é possível com o auxílio da biologia e da química. O tecido mamário é estruturalmente formado por um número muito grande de células adiposas. As gorduras ocupam todo o citoplasma dessas células, empurrando o núcleo e as organelas (mitocôndrias, ribossomas, etc) para a periferia da membrana celular. Os lipídeos mais importantes são os óleos e as gorduras, os quais são formados por um grupo funcional conhecido na química orgânica como ÉSTERES (Figura V.1) [ATKINS & JONES, 2001].

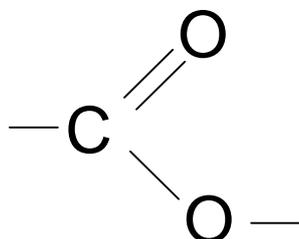


Figura V.1. Grupo funcional dos ésteres.

A estrutura do lipídeo apresenta três grupos de éster, que quando derivados do glicerol são chamados de TRIGLICERÍDEOS. A Figura V.2 representa uma molécula de triglicerídeo, onde R, R' e R'' representam radicais predominantemente saturados para as gorduras. Um exemplo de triglicerídeos é a triestearina em que os radicais são formados por C₁₇H₃₅. Portanto, a radiação interagindo com esse tecido apresenta um perfil de espalhamento bastante diferente de outros tecidos, com o primeiro pico mais estreito, para um valor de momento transferido mais baixo. A explicação para a melhor

definição das características de espalhamento do tecido adiposo está nos radicais da molécula de triglicerídeos, que apresentam longas extensões espaciais, resultando em um grau de ordem mais alto.

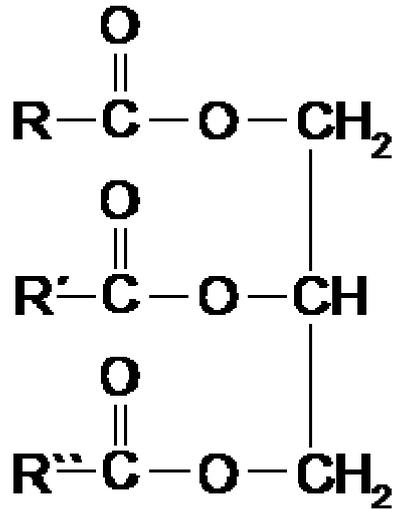


Figura V.2. Representação funcional da molécula de triglicerídeo.

A explicação para o perfil de espalhamento do tecido patológico da mama está na origem celular do desenvolvimento do tumor. Ele se inicia numa célula epitelial que quando se prolifera dá origem a uma concorrência espacial entre a região constituída por essas células e as células adiposas. Como o limite entre essas células não é bem definido, os seus perfis de espalhamento são concorrentes, como mostra Figura IV.10.

A Figura IV.5 mostra que a técnica foi capaz de diferenciar lesões em pulmão usando os efeitos de difração. As figuras IV.6 e IV.7 mostram que um considerável aumento no contraste foi obtido quando a varredura foi realizado por difração em comparação com o realizado por absorção. O contraste usando a varredura por difração foi cerca de duas vezes melhor que o contraste obtido por absorção.

A figura V.17 mostra que os tecido mamário saudável e patológico possuem

perfis de difração distintos, o que possibilita a aplicação da tomografia seletiva. Os resultados encontrados para os demais tecidos fixados em formal (Figuras IV.18, IV.19 e IV.20) apresentam a mesma distribuição de espalhamento para os tecidos normais e patológicos. Isso pode ser explicado considerando que o citoplasma das células do organismo humano é constituído de 80% de água. Portanto, a radiação encontra nas moléculas de água a simetria necessária para produzir um padrão de difração.

Pode-se observar na Figura IV.21(b) que o tecido identificado como patológico, contém tecidos saudáveis.

A imagem obtida por espalhamento consegue mostrar a região contendo o carcinoma, o que não foi possível para a imagem por transmissão. Esse resultado sugere uma possível aplicação dessa técnica para a detecção do tumor em seu estágio mais inicial.

A dependência espacial da seção de choque diferencial para um determinado ângulo, mostrou-se positiva para obter-se uma imagem seletiva em tecidos biológicos. Entretanto, esse estudo é essencialmente qualitativo. O maior número de tecidos sadios e neoplásicos precisam ser analisados e os resultados das imagens por espalhamento deverão ser confrontados com a análise histológica.

Em uma análise preliminar, a técnica de obtenção de imagens por espalhamento mostrou-se viável para aplicação médica ao ser possível diferenciar a estrutura molecular dos tecidos.

A possibilidade de essa técnica ser aplicada na indústria, em testes de ensaios não-destrutivos não pode ser descartada.

Dizem os cientistas que uma boa teoria terá que se adequar a fatos estabelecidos e fazer previsões de fatos novos. Essa tese é essencialmente experimental e utiliza-se de uma teoria física bem fundamentada – difração de raios X. Cabe então perguntar: Qual a novidade? O que a justifica?

A obtenção de perfis de difração em tecidos biológicos vem se consolidando em pesquisas recentes. A caracterização do tecido adiposo, da água e de alguns outros tecidos de porcos já estavam disponíveis na literatura quando do início dessa tese. Essas caracterizações foram obtidas, utilizando-se um aparelho de raios X convencional.

O uso da radiação síncrotron dá mais estabilidade à realização experimental e obteve-se resultados compatíveis com a literatura para os perfis do tecido adiposo e da água. Estendeu-se na obtenção da caracterização de outros tecidos humanos e caminhou-se para a primeira imagem por difração de raios X de tecidos biológicos. Em resumo: comprovou-se fatos estabelecidos e fez-se uma microtomografia seletiva do tecido mamário, com um carcinoma, no ângulo de Bragg do tecido adiposo.

O tratamento das amostras biológicas, para evitar decomposição, dado por outros pesquisadores consistia em conservá-las no gelo. A dificuldade para a manutenção do resfriamento e a sua locomoção são evidentes, culminando com a necessidade de esperar o equilíbrio térmico com o ambiente. Ao tratar-se das amostras na formalina a 10% e verificar que os resultados se equivalem conseguiu-se evitar esses incômodos.

Todos os tecidos amorfos mostram uma distribuição similar de intensidade espalhada em relação ao momento transferido. A forma espectral e as posições dos picos de espalhamento dos tecidos estudados são similares ao espalhamento da

água. Para distinguir tecidos normais e patológicos um outro parâmetro incluindo algum aspecto da forma espectral é necessário. A altura de pulso medida em relação ao *background* tem sido usada como um parâmetro adicional para classificar os tecidos. A altura de pulso é definida como a razão da altura do pico largo e a intensidade média nos valores de momento transferido entre 0,30 e 0,32 Å⁻¹. Essa região é independente dos efeitos de interferência e, assim, similar para todos os tecidos analisados.

V.1. TRABALHOS FUTUROS

A pesquisa de microtomografia por difração de raios X em tecidos biológicos objetivando-se a obtenção de uma imagem, para o auxílio do diagnóstico de uma determinada doença, traz na sua essência a necessidade de uma equipe de pesquisadores interdisciplinares: patologistas, químicos, analistas de sistema, físicos formariam a base de suas necessidades.

O algoritmo de reconstrução de imagem que se tem utilizado é o mesmo da transmissão com as devidas aproximações. Um algoritmo que leve em consideração a seção de choque diferencial e a absorção dos caminhos percorridos pela radiação na amostra se faz necessária.

A realização de experiência com tecidos biológicos liofilizados poderá trazer informações significativas. Sabe-se que as células neoplásicas malignas provocam alterações em determinadas organelas (por exemplo, mitocôndria), aumentando-as quantitativamente. Sem a onipresença da água no citoplasma, essas estruturas talvez possam ser evidenciadas por difração de raios X a baixos ângulos. Comprovando-se essa possibilidade, a técnica poderá ser usada no setor de patologia de um hospital

em auxílio à microscopia ótica. Com o avanço da tecnologia, o difratômetro tornar-se-á mais barato e menor, o qual juntamente com um sistema de liofilização eficiente, poderá dar o diagnóstico mais preciso e rápido para o tecido analisado. Realidade ou ficção? O futuro pertence à Ciência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSIROV, A.M., et al, Biological And Medical Applications of SR from the Storage Rings of VEPP-3 and "Siberia-2". The Origin of Specific Changes of Small-Angle X-Ray Diffraction Pattern of Hair and their Correlation with the Elemental Content, *Nucl. Instr. and Meth. A* 470, 380-387, 2001.

ARFELLI, F., Synchrotron Light and Imaging Systems for Medical Radiology, *Nucl. Instr. and Meth. A* 454, 11-25, 2000.

ATKINS, P.W. & JONES, L.L., *Princípios de Química*, Ed. Bookman, 2001.

AZÁROF, L.V. *Elements of X-Ray Crystallography*. Mc Graw-Hill, 1968.

BARROSO, R.C., Tomografia Computadorizada Seletiva Usando Efeitos de Interferência em Difração de Raios-X, Tese de Doutorado, COPPE/UFRJ, 100p., 1997.

BARROSO, R.C. et al, X-Ray Diffraction Tomography Using Interference Effects, *Nucl. Instr. and Meth. A* 418, 458-464, 1998.

BARROSO, R.C. et al, Image Reconstruction Algorithm To X-Ray Diffraction Tomography, *Nucl. Instr. and Meth. A* 422, 718-723, 1999a.

BARROSO, R.C. et al, Synchrotron Biomedical Applications Using X-Ray Diffraction Tomography In: *Nuclear Science Conference Record 1999*, v. 2, 855-859, 1999b.

BARROSO, R.C. et al, Angle-Dispersive Diffraction with Synchrotron Radiation at LNLS (Brazil): Potential for Use in Biomedical Imaging. *Appl. Rad. Isoto.* 53(4-5), 717-724, 2000.

BARROSO, R.C. et al, X-Ray Diffraction Microtomography Using Synchrotron Radiation, *Nucl. Instr. and Meth. A* 470, 75-79, 2001.

BATCHELAR, D.L. & CUNNINGHAM, I.A., Material-Specific Analysis Using Coherent-Scatter Imaging, *Med. Phys.* 29(8), 1651-1660, 2002.

BRADLEY, D.A. et al, Quantitative Measurement Of Small-Angle Gamma-Ray Scattering From Water, Nylon, And Lucite, *Med. Phys.* 16(6), 851-857, 1989.

CASTRO, C.R.F. et al, Perfis de Difração de Tecidos Humanos Normais e Patológicos: Caracterização Experimental no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – Brasil, *Anais do VIII Congresso Brasileiro de Física Médica CBFM*, 114-117, 2003.

CASTRO, C.R.F. et al, Coherent Scattering Characteristics of Normal and Pathological Breast Human Tissues, *Rad. Phys. Chem.* 71(3-4), 649-651, 2004.

CASTRO, C.R.F. et al, Scattering Signatures for Some Human Tissues Using Synchrotron Radiation, *X-Ray Spectrometry* 34(6), 477-480, 2005a.

CASTRO, C.R.F. et al, Coherent Scattering X-ray Imaging at the Brazilian National Synchrotron Laboratory: Preliminary Breast Images. *Nucl. Instr. and Meth. A* 548 (1-2), 116-122, 2005b.

CESAREO, R. et al, Interaction of keV Photons with Matter and New Application, *Phys. Reports* 213(3), 117-178, 1992.

CUSATIS C. et al, *J. Synchrotr. Radiat.* 5, 491-493, 1998.

CHAPMAN, D. et al, Diffraction Enhanced X-Ray Imaging, *Phys. Med. Biol.* 42, 2015-2025, 1997.

ELSHEMEY, W.M. et al, Characteristics of Low-Angle X-Ray Scattering from Some Biological Samples, *Phys. Med. Biol.* 44, 2907-2915, 1999.

EVANS S.H. et al, Measurement of Small-Angle Photon Scattering for Some Breast Tissues and Tissue Substitute Materials, *Phys. Med. Biol* 36 (1), 7-18, 1991.

FERNANDEZ, M. et al, Small-Angle X-Ray Scattering Studies of Human Breast Tissue Samples. *Phys. Med. Biol.* 47, 577-592, 2002.

GILES C. et al, High-Resolution X-Ray Diffraction Beamline at the LNLS for the Study of Charge, Orbital and Magnetic Structures, *J. Synchrotron Radiat.* 10, 430-434, 2003.

GLERAN, A. *Manual de Histologia*, Ed. Atheneu, 2003.

GONÇALVES, O.D. et al, Rayleigh Scattering From Crystal and Amorphous Structures, *Phys. Review A* 49(2), 889-893, 1994.

GRANT, J.A., et al, X-Ray Diffraction Microtomography, *Meas. Sci. Tech.* 4, 83-87, 1993.

- GUINIER, A., *X-Ray Diffraction*, W.H. Freeman and Co., 1963.
- HARDING G. et al, X-Ray Diffraction Computed Tomography, *Med. Phys.* 14, 515-525, 1987.
- HARDING, G. & SCHREIBER, B., Coherent X-Ray Scatter Imaging and Its Applications in Biomedical Science and Industry, *Rad. Phys. Chem.* 56 (1-2), 229-245, 1999.
- JACKSON, J.D., *Classical Electrodynamics*, Wiley, 1999.
- HUBBELL, J.H. & ØVERBØ, I., Scattering Factors and Cross Sections, *J. Phys. Chem. Ref. Data* 8, 1-69, 1979.
- KAK A.C. & SLANEY M., *Principles of Computerized Tomographic Imaging*, Society of Industrial and Applied Mathematics, 2001
- KANE, P.P. et al, Elastic Scattering of γ -Rays and X-Rays by Atoms, *Phys. Reports* 140(2), 75-159, 1986.
- KIDANE, G. et al, X-Ray Scattering Signatures for Normal and Neoplastic Breast Tissues. *Phys. Med. Biol.* 44, 1791-1802, 1999.
- KLEUKER, U. et al, Feasibility Study of X-Ray Diffraction Computed Tomography for Medical Imaging, *Phys. Med. Biol.* 43, 2911-2923, 1998.
- KOSANETZKY J. et al, X-Ray-Diffraction Measurements of Some Plastic Materials and Body-Tissues, *Med. Phys.* 14 (4), 526-532, 1987.
- LEWIS, R., Medical Applications of Synchrotron Radiation X-Rays, *Phys. Med. Biol.* 42: (7), 1213-1243, 1997.
- MARGARITONDO, G., A Primer in Synchrotron Radiation: Everything You Wanted to Know About SEX (Synchrotron Emission of X-Rays) But Were Afraid To Ask, *J. Synchrotron Rad.* 2, 148-154, 1995.
- MELO, R.C.N., *Células & Microscopia*, Ed. UFJF, 2002.
- MONTENEGRO, M.R. & FRANCO, M., *Patologia - Processos Gerais*, Ed. Atheneu, 2003.
- PEPLOW, D.E. & VERGHESE, K., Measured Molecular Coherent Scattering from

Factors of Animal Tissues, Plastics and Human Breast Tissue, *Phys. Med. Biol.* 43, 2431-2452, 1998.

POLLETTI, M.E. et al, X-Ray Scattering From Human Breast Tissues and Breast-Equivalent Materials, *Phys. Med. Biol.* 47, 47-63, 2002.

POLLETTI, M.E. et al, Measurements of X-Ray Scatter Signatures for Some Tissue-Equivalent Materials, *Nucl. Instr. and Meth. B* 213, 595-598, 2004.

ROYLE, G.J. et al, Applications of X-Ray Diffraction Analysis in Crystalline and Amorphous Body Tissues, *Rad. Phys. Chem.* 56, 247-258, 1999.

SCHÜLKE, W., Inelastic X-Ray Scattering, *Nucl. Instr. and Meth. A* 280, 338-348, 1989.

SHAUPP, D. et al, Small-Angle scattering of Photons at Higher Energies: Tabulation of relativistic HFS Modified Atomic Form Factors, *J. Phys. Chem. Ref. Data* 12(3), 467-512, 1983.

SPELLER, R., Tissue Analysis Using X-Ray Scattering, *X-Ray Spectrometry* 28, 244-250, 1999.

SUORTTI, P & THOMLINSON, W., Medical Applications of Synchrotron Radiation *Phys. Med. Biol.* 48, R1-R35, 2003.

TAKEDA, T. et al, Medical Applications With Synchrotron Radiation In Japan, *J. Sync. Rad.* 5, 326-332, 1998.

TARTARI A. et al, Fat and Water Photon Scattering Data for In Vivo Lean and Fatty Tissue Composition Studies, *Appl. Rad. Isoto.* 49 (5-6), 631-633, 1998.

TARTARI, A., Molecular Differential Cross Section for Low Angle Photon Scattering Tissues, *Rad. Phys. Chem.* 56, 205-211, 1999.

THOMLINSON, W., Applications of Synchrotron Radiation in the Medical Sciences, *Med. Phys.* 29(6), 1298-1298, 2002.

ANEXO I

ANEXO II

ANEXO III

