

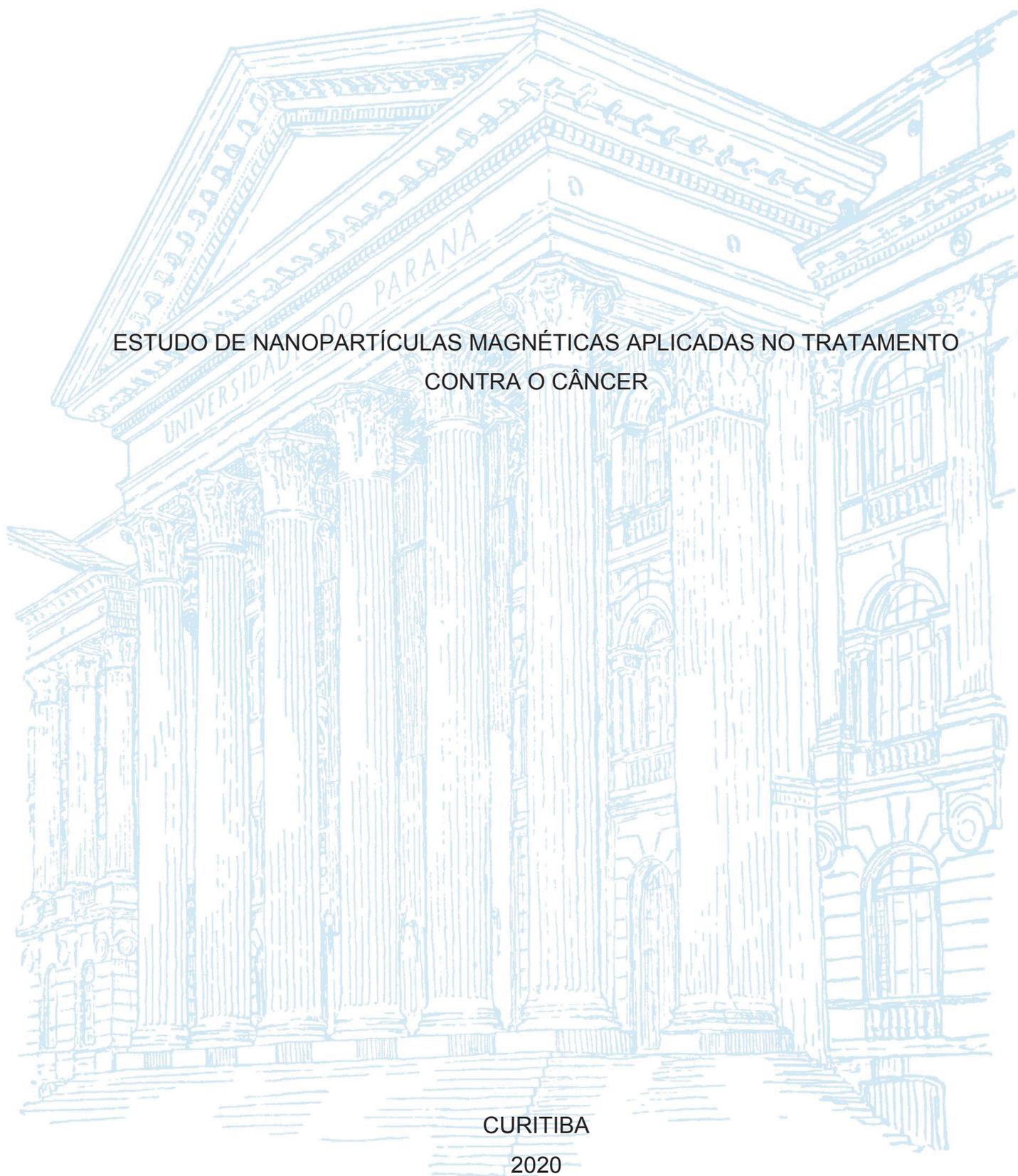
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA PAULA VASCONCELOS CHAVES

ESTUDO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS APLICADAS NO TRATAMENTO  
CONTRA O CÂNCER

CURITIBA

2020



ANA PAULA VASCONCELOS CHAVES

ESTUDO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS APLICADAS NO TRATAMENTO  
CONTRA O CÂNCER

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Dr. Marlio José do Couto Bonfim  
Co-orientadora: Prof(a). Dr(a). Juliana Luísa Müller  
lamamura

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

---

C512e Chaves, Ana Paula Vasconcelos  
Estudo de nanopartículas magnéticas aplicadas no tratamento contra o câncer [recurso eletrônico] / Ana Paula Vasconcelos Chaves – Curitiba, 2020.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Dr. Marlio José do Couto Bonfim

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Juliana Luísa Müller Iamamura

1. Nanopartículas magnéticas. 2. Câncer – Tratamento. I. Universidade Federal do Paraná. II. Bonfim, Marlio José do Couto. III. Iamamura, Juliana Luísa Müller. IV. Título.

CDD: 616.994



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA  
ELÉTRICA - 40001016043P4

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA ELÉTRICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANA PAULA VASCONCELOS CHAVES** intitulada: **ESTUDO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS APLICADAS NO TRATAMENTO CONTRA O CÂNCER**, sob orientação do Prof. Dr. MARLIO JOSE DO COUTO BONFIM, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Agosto de 2020.

Assinatura Eletrônica

31/08/2020 20:51:27.0

MARLIO JOSE DO COUTO BONFIM

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

31/08/2020 21:36:03.0

ANSELMO FRIZERA NETO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO)

Assinatura Eletrônica

01/09/2020 12:19:50.0

EDUARDO PARENTE RIBEIRO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

---

Dep.Eng.Elétrica-DELT, Centro Politecnico - UFPR - CURITIBA - Paraná - Brasil  
CEP 81531990 - Tel: 41 3361-3622 - E-mail: ppgee@eletrica.ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 51136

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>  
e insira o código 51136

A todas as mulheres que lutaram e lutam pelo  
nosso espaço na ciência e em qualquer lugar.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus pela oportunidade de realizar este trabalho e por tudo que faz em minha vida.

Agradeço imensamente aos professores Dr. Marlio José do Couto Bonfim e Dr(a). Juliana lamamura, meu orientador e co-orientadora respectivamente, os quais foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada por todo o ensinamento, orientação, dedicação, serenidade e compreensão durante todo o trabalho.

Agradeço a todos os professores que fizeram parte da minha jornada acadêmica até aqui.

Agradeço ao Setor de Ciências Biológicas da UFPR pela colaboração, especialmente ao MSc. Israel Henrique Bini, ao Dr. Gustavo Rodrigues Rossi, ao MSc. João Luiz Aldinucci Buzzo e ao professor Dr. Edvaldo da Silva Trindade.

Agradeço a pesquisadora Nora Dempsey do Institut Néel (Grenoble-França) por ter doado as nanopartículas magnéticas utilizadas neste trabalho.

Agradeço aos meus amados pais, Ana Lucia e Paulo, sem os quais eu não teria chegado até aqui. Obrigada pelo amor e apoio incondicional desde sempre.

Aos meus irmãos Natalha, Andrey e Pedro pela amizade e apoio.

Ao meu amado marido, Rodrigo, obrigada por acreditar em mim e me incentivar a seguir em frente.

Obrigada aos meus amigos de trabalho pela ajuda.

Obrigada à UFPR pela estrutura e ensino de qualidade.

"Até aqui o Senhor nos ajudou"  
(1 Samuel 7:12)

## RESUMO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, sendo responsável por um número estimado de 9,6 milhões de mortes no ano de 2018. Os tratamentos consolidados e atualmente utilizados possuem fortes efeitos colaterais, sendo que em alguns casos os pacientes são obrigados a suspendê-los para alívio destes efeitos. Diversos tratamentos alternativos estão sendo estudados, visando principalmente à redução destes efeitos colaterais. Dentre estes, destaca-se o uso de nanopartículas magnéticas (NPMs), cujas principais características que as tornam biocompatíveis com seres humanos são o seu pequeno tamanho (10 a 200 nm), baixa toxicidade, além da possibilidade de serem recobertas com materiais funcionais. Tradicionalmente as aplicações contra o câncer envolvem a inserção das NPMs no interior das células cancerosas seguida da aplicação de campos magnéticos de baixa intensidade e alta frequência por até uma hora, provocando aquecimento localizado das células cancerosas, que pode levar à sua morte. A proposta do presente trabalho difere das técnicas citadas na literatura e consiste na utilização de NPMs para causar destruição da célula cancerosa pelo movimento abrupto da NPM no interior da célula, através da aplicação de apenas um pulso de campo magnético externo de alta intensidade e curta duração. Com a aplicação de apenas um pulso de aproximadamente 1 ms de duração e pico de densidade de fluxo magnético de 0,5 T as NPMs deslocaram-se, em média, cerca de 7,1  $\mu\text{m}$ . O movimento abrupto da NPM pode causar ruptura da membrana celular, bem como a destruição de outras estruturas no interior da célula cancerosa, sem causar danos às células saudáveis, pois seu raio de ação fica limitado ao interior das células cancerosas ou em seu entorno. Técnicas de geração de campos magnéticos pulsados assim como a microscopia confocal de alta resolução para visualização das NPMs são utilizadas no decorrer do trabalho.

Palavras-chave: nanopartículas magnéticas, tratamentos contra câncer, campo magnético pulsado.

## ABSTRACT

According to the World Health Organization, cancer is the second leading cause of death in the world, accounting for an estimated 9.6 million deaths in 2018. Consolidated and currently used treatments have strong side effects, and in some cases patients are required to discontinue treatment to relieve these effects. Several alternative treatments are being studied, mainly aiming to reduce these side effects. Among these, the use of magnetic nanoparticles (MNPs) is highlighted, whose main characteristics that make it biocompatible with humans are its small size (10 to 200 nm), low toxicity, and the possibility of being coated with functional materials. Traditionally cancer applications involve the insertion of MNPs inside cancer cells followed by the application of low intensity and high frequency magnetic fields, causing localized heating of cancer cells, which can lead to their death. The purpose of this work is to use MNPs to cause cancer cell destruction, not by heating, but by abrupt MNP movement within the cell by applying a high intensity external pulsed magnetic field. The result obtained shows that with a pulse of 0.5 T of magnetic flux density and 1 ms of duration, the MNPs moved in average approximately 7.1  $\mu\text{m}$ . The abrupt movement of MNP can cause cell membrane rupture as well as the destruction of other structures within the cancer cell without causing damage to healthy cells because their range is limited to cell size. Pulsed magnetic field generation techniques as well as high resolution confocal microscopy for MNP visualization are used throughout the work.

Keywords: magnetic nanoparticles, cancer treatments, pulsed magnetic field.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESTRUTURA DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS .....	17
FIGURA 2 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DE MORTE DE CÉLULAS CANCEROSAS PROPOSTO (A – Campo magnético aplicado, B – Morte celular por apoptose, C – Morte celular por necrose) .....	19
FIGURA 3 – CURVA DE MAGNETIZAÇÃO (B-H) TÍPICA.....	25
FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO DO DOMÍNIO MAGNÉTICO DE MATERIAIS PARAMAGNÉTICOS .....	26
FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO DO DOMÍNIO MAGNÉTICO DE MATERIAIS FERROMAGNÉTICOS .....	26
FIGURA 6 – ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA RELAÇÃO ENTRE COERCIVIDADE E RAIO DA NPM.....	27
FIGURA 7 – CURVAS DE HISTERESE MEDIDAS EM FUNÇÃO DO DIÂMETRO (d) E ESPESSURA (e) DE NANOMAGNETOS CIRCULARES. PARA CADA GRÁFICO O EIXO HORIZONTAL É O CAMPO APLICADO E O EIXO VERTICAL É A MAGNETIZAÇÃO .....	28
FIGURA 8 – CURVA DE HISTERESE TÍPICA.....	29
FIGURA 9 – ESBOÇO MOSTRANDO O PROCEDIMENTO DO PROCESSO DE HIPERTERMIA.....	35
FIGURA 10 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA MAGNÉTICO DE ADMINISTRAÇÃO DE MEDICAMENTOS .....	38
FIGURA 11 – PULSO MAGNÉTICO DO GERADOR $\mu$ s.....	41
FIGURA 12 – PULSO MAGNÉTICO DO GERADOR MS .....	42
FIGURA 13 – SISTEMA DE PORTA-AMOSTRAS VERTICAL .....	43
FIGURA 14 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DO PORTA-AMOSTRAS VERTICAL .....	43
FIGURA 15 – SISTEMA DE PORTA-AMOSTRAS UNILATERAL COM ELETROÍMÃ .....	44
FIGURA 16 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DO PORTA-AMOSTRAS UNILATERAL COM ELETROÍMA .....	44
FIGURA 17 – CARACTERIZAÇÃO DA CURVA DE HISTERESES DO MATERIAL MAGNÉTICO .....	45

FIGURA 18 – MICROSCÓPIO DE VARREDURA A LASER CONFOCAL MULTIFÓTON.....	46
FIGURA 19 – SOLUÇÃO AQUOSA DE NPM FLUIDMAG.....	47
FIGURA 20 – REPRESENTAÇÃO NPM FLUIDMAG .....	47
FIGURA 21 – SOLUÇÃO AQUOSA DA NPM NANO-SCREENMAG.....	48
FIGURA 22 – REPRESENTAÇÃO DA NPM NANO-SCREENMAG .....	48
FIGURA 23 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA PARA SIMULAÇÃO NO FEMM.....	49
FIGURA 24 – NANOPARTÍCULA MAGNÉTICA DE 200 NM.....	52
FIGURA 25 – OBSERVAÇÃO ATRAVÉS DE MICROSCOPIA CONFOCAL DA FLUORESCÊNCIA NA COR VERDE DA NANOPARTÍCULA MAGNÉTICA.....	53
FIGURA 26 – COMBINAÇÃO DO GERADOR DE PULSOS $\mu\text{s}$ COM O PORTA- AMOSTRAS VERTICAL .....	54
FIGURA 27 – DISTÂNCIA PERCORRIDA PELAS NANOPARTÍCULAS AO UTILIZAR O GERADOR DE PULSOS $\text{ms}$ E O PORTA-AMOSTRAS UNILATERAL COM ELETROÍMÃ .....	55
FIGURA 28 – PERFIL DAS NPMS.....	56
FIGURA 29 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA DENSIDADE DE FLUXO MAGNÉTICA AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A .....	57
FIGURA 30 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A .....	58
FIGURA 31 – RESULTADO DO GRADIENTE DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A .....	59
FIGURA 32 – RESULTADO DE $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$ AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A.....	60

FIGURA 33 – DESLOCAMENTO DAS NPMS AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A.....	61
FIGURA 34 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA DENSIDADE DE FLUXO MAGNÉTICO EM FUNÇÃO DA CORRENTE A 2 MM DE DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ.....	62
FIGURA 35 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO COM VALORES DE CORRENTE DIFERENTES.....	63
FIGURA 36 – RESULTADO DO GRADIENTE DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO COM VALORES DE CORRENTE DIFERENTES.....	64
FIGURA 37 – RESULTADO DE $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$ EM FUNÇÃO DA DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ .....	65
FIGURA 38 – DESLOCAMENTO DAS NPMS EM FUNÇÃO DA DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE 220 A.....	67
FIGURA 39 – TENTATIVA DE INTERNALIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS PELAS CÉLULAS B16-F10.....	68
FIGURA 40 – PROCESSO DE LIMPEZA DO PORTA-AMOTRAS.....	69
FIGURA 41 – LAMÍNULA E PORTA-AMOTRAS QUEBRADOS APÓS PROCESSO DE LIMPEZA.....	69
FIGURA 42 – PORTA-AMOTRAS RETANGULAR.....	70
FIGURA 43 – LAMÍNULA QUEBRADA APÓS O PROCESSO DE LIMPEZA E VAZAMENTO DA CULTURA CELULAR .....	71
FIGURA 44 – PORTA-AMOTRAS RETANGULAR APÓS PROCESSO DE LIMPEZA.....	71
FIGURA 45 – FOTO TIRADA DA INTERFACE DO MICROSCÓPIO CONFOCAL...	72

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CÁLCULO DO GRADIENTE DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO MULTIPLICADO PELA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO .....	33
TABELA 2 – CÁLCULO DO DESLOCAMENTO DAS NPMS.....	55
TABELA 3 – RESULTADOS DO CÁLCULO DO DESLOCAMENTO DAS NPMs A 2 mm DE DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ .....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

NPM - Nanopartícula Magnética

NPMS - Nanopartículas Magnéticas

IRM - Imagem por Ressonância Magnética

SAR - Taxa de Absorção Específica (*Specific Absorption Rate*)

FWHM - Largura à meia altura (*Full width at half maximum*)

## LISTA DE SÍMBOLOS

H - Intensidade de campo magnético  
B - Densidade de fluxo magnético ou indução magnética  
 $\mu_0$  - Permeabilidade magnética do vácuo  
 $\mu_r$  - Permeabilidade magnética relativa  
 $\mu$  - Permeabilidade magnética  
M - Magnetização  
 $\chi$  - Susceptibilidade Magnética  
 $F_m$  - Força Magnética  
 $V_m$  - Volume da partícula  
 $\nabla$  - Gradiente  
 $F_s$  - Força do fluido  
 $\pi$  - Número PI  
 $\eta$  - Viscosidade  
 $r_p$  - Raio hidrodinâmico da partícula  
 $v_p$  - Velocidade da partícula  
 $u$  - Velocidade fluido  
 $m_p$  - Massa da partícula  
s - Deslocamento da partícula  
t - Tempo  
Ni - Níquel  
Fe - Ferro  
Mn - Molibdênio  
 $Fe_3O_4$  - Oxido de Ferro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	19
1.2 OBJETIVOS .....	20
1.2.1 Objetivo geral .....	20
1.2.2 Objetivos específicos.....	20
1.3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO .....	21
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>22</b>
2.1 MATERIAIS MAGNÉTICOS: CONCEITOS FUNDAMENTAIS.....	22
2.2 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS: COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS ..	30
2.3 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS: APLICAÇÕES IN VIVO .....	33
2.3.1 Hipertermia.....	34
2.3.2 Aumento de contraste de imagem não invasiva .....	36
2.3.3 Entrega de medicamento .....	37
2.4 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 2 .....	38
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>40</b>
3.1 GERADOR DE PULSO .....	40
3.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA DE PORTA-AMOSTRAS .....	42
3.3 MICROSCOPIA CONFOCAL .....	45
3.4 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS .....	46
3.5 SIMULAÇÕES MAGNÉTICAS .....	48
3.6 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 3 .....	50
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>51</b>
4.1 RESULTADOS DA VISUALIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS .....	51
4.2 RESULTADOS DOS PORTA-AMOSTRAS E GERADORES DE PULSO .....	53
4.3 RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES MAGNÉTICAS .....	56
4.3.1 Comparação entre as Simulações Magnéticas e os Resultados Práticos .....	56
4.3.2 Simulações Relacionadas a Variação de Corrente do Gerador de Pulsos .....	62
4.4 RESULTADOS DA INTERNALIZAÇÃO DAS NPMS PELAS CÉLULAS CANCEROSAS .....	67
4.5 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 4 .....	73
<b>5 CONCLUSÕES E PERSPETIVAS</b> .....	<b>74</b>
5.1 CONCLUSÕES .....	74

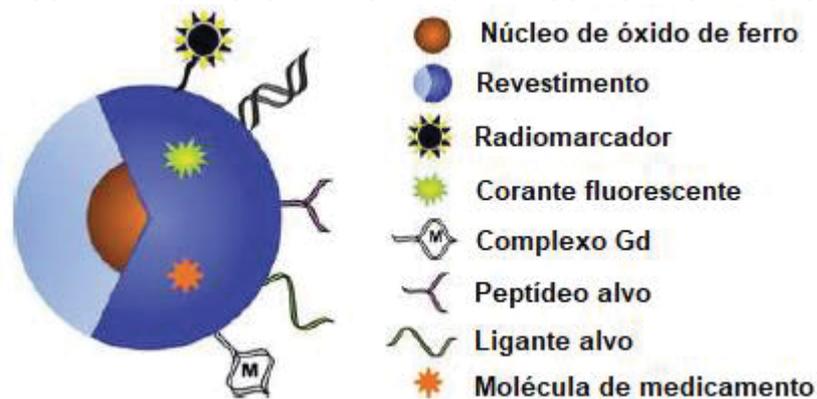
5.2 PERSPECTIVAS E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	74
5.3 PUBLICAÇÕES RELACIONADAS COM ESTE TRABALHO DE PESQUISA.....	75
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>76</b>
<b>APÊNDICE 1 – GERADOR DE PULSO <math>\mu</math>s .....</b>	<b>81</b>
<b>APÊNDICE 2 – ESQUEMÁTICO DO GERADOR DE PULSO ms .....</b>	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As nanopartículas magnéticas (NPMs) são atualmente alvo de vários estudos na área biomédica, dentre os quais destaca-se a aplicação no tratamento contra o câncer. As principais características das NPMs que as tornam biocompatíveis para seres humanos são o seu pequeno tamanho, baixa toxicidade, formação de monodomínios magnéticos (superparamagnetismo)<sup>1</sup>, além da possibilidade de serem recobertas com materiais funcionais (REDDY, 2012).

Conforme a FIGURA 1, as NPMs são compostas por um núcleo ferromagnético ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), que é, normalmente, revestido por um polímero para protegê-lo contra aglomeração e oxidação. Este revestimento também pode ser combinado a diversos grupos funcionais, resultando em biocompatibilidade melhorada, protegendo entidades biológicas de reações tóxicas adversas.

FIGURA 1 – ESTRUTURA DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS



FONTE: YIGIT et al. (2012).

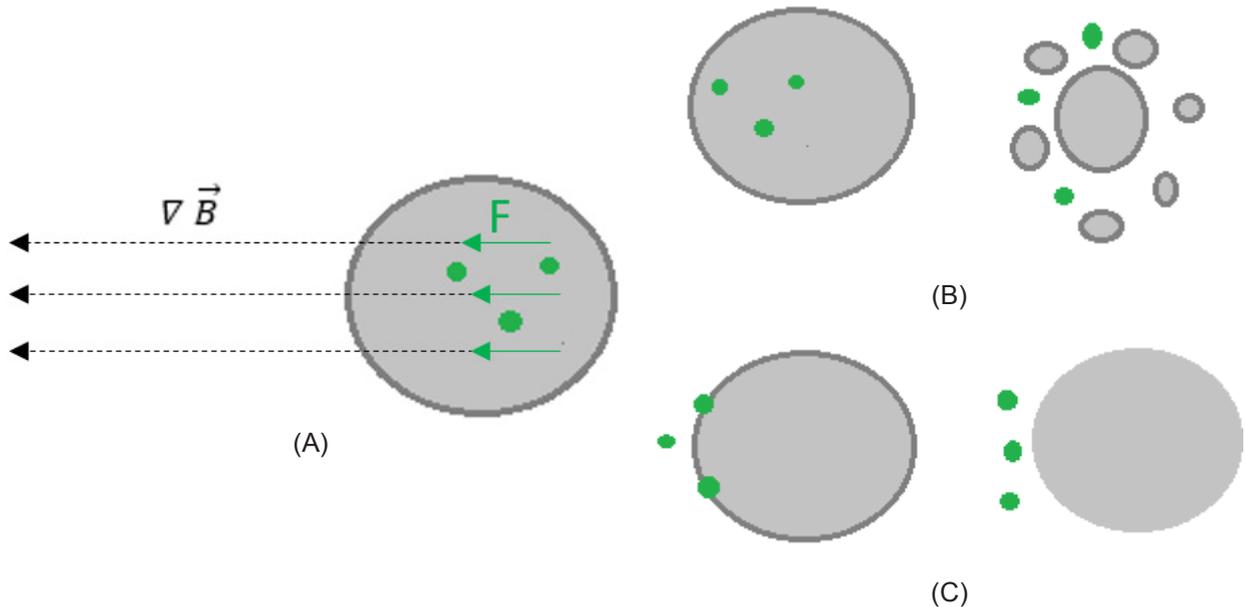
Tradicionalmente as aplicações contra o câncer envolvem a inserção das NPMs no interior das células cancerosas seguida da aplicação de campos magnéticos de baixa intensidade e alta frequência (HERGT, 2006). A interação do campo magnético alternado com as NPMs causa um aquecimento localizado (hipertermia) que pode levar à morte das células cancerosas. Outro aspecto da interação de um campo magnético externo com a NPM é relativo à força de atração sofrida por ela. Quando

<sup>1</sup> Materiais superparamagnéticos são aqueles que não apresentam magnetização remanente (MODY et al., 2013).

um material superparamagnético é colocado na presença de um campo magnético externo, surgirá uma força de atração que tenderá a movimentar o material. Esta força é diretamente proporcional ao campo magnético aplicado assim como o seu gradiente, podendo ser suficiente para causar danos à membrana da célula na qual a NPM está inserida. Neste projeto o núcleo da NPM utilizada é composto por óxido de ferro, devido às suas características de superparamagnetismo, baixo custo, biocompatibilidade e biodegradabilidade.

Este trabalho pode ser sintetizado na FIGURA 2. Nela, as NPMs são internalizadas em células cancerosas e em seguida são atraídas pelo gradiente do campo magnético, que é gerado pelo sistema de gerador de pulsos, conforme FIGURA 2 (a). Esta atração causa um deslocamento que pode alterar a estrutura interna das células, causando morte por apoptose, conforme a FIGURA 2 (b). A apoptose é uma forma de morte celular programada caracterizada por características morfológicas. Caso o deslocamento seja suficiente para romper a membrana celular, ocorre a morte por necrose, conforme a FIGURA 2 (c). A necrose é uma forma de morte celular não programada e com a liberação do conteúdo intracelular após danos na membrana celular, causando inflamação (FINK, 2005; ELMORE, 2007). Como o pulso aplicado é muito rápido (ms) e a NPM é menor do que a célula, apenas a primeira tende a deslocar-se, enquanto a última permanece estática.

FIGURA 2 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DE MORTE DE CÉLULAS CANCEROSAS PROPOSTO (A – Campo magnético aplicado, B – Morte celular por apoptose, C – Morte celular por necrose)



FONTE: A autora (2020).

## 1.1 JUSTIFICATIVA

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, sendo responsável por um número estimado de 9,6 milhões de mortes no ano de 2018. Globalmente, por volta de 1 em 6 mortes ocorrem devido ao câncer (WORD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Atualmente, quimioterapia e radioterapia são os tratamentos utilizados contra o câncer, porém estes não são estritamente direcionados as células tumorais, ocasionando danos substanciais em tecidos e órgãos saudáveis e limitando assim as doses de terapia. Por isso, é de extrema importância o desenvolvimento de estratégias terapêuticas seletivas, afetando apenas os locais e tecidos desejados do organismo. A capacidade de as nanopartículas magnéticas serem aplicadas diretamente nas células tumorais faz com que estas se tornem uma alternativa potencial aos métodos tradicionais de combate às células cancerosas (YIGIT, 2012).

A técnica atual que utiliza NPMs no tratamento contra o câncer é denominada hipertermia e consiste na morte de tumores carregados com NPMs devido ao

aquecimento provocado pela aplicação de campos magnéticos externos por até uma hora. O desafio desta técnica é provocar e manter aquecimento suficiente em toda região do tumor para causar sua morte (LEMINE, 2019). Por isso, é importante o desenvolvimento de técnicas com exposições a campos magnéticos com tempo reduzido e mais assertivas. O presente trabalho pode contribuir em ambos os quesitos: morte das células cancerosas pela aplicação de apenas um pulso de curta duração (ordem de milissegundos).

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é estudar a eficácia da aplicação de campos magnéticos pulsados de alta intensidade (até 1 T) em células cancerosas carregadas com NPMs, visando sua morte.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma pesquisa bibliográfica e sintetizar os principais conceitos que envolvem nanopartículas magnéticas e sua aplicação no tratamento contra o câncer;
- Desenvolver um gerador de campo magnético pulsado;
- Realizar simulações magnéticas sobre o sistema de gerador de pulso variando a intensidade da corrente do sistema e a distância da NPM em relação ao eletroímã;
- Efetuar estimativas de deslocamento das NPMs e comparar com os resultados experimentais;
- Analisar através de microscopia confocal o comportamento de NPMs sob a presença de campos magnéticos estáticos e pulsados;
- Internalizar as NPMs em células cancerosas.

### 1.3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

Este trabalho foi dividido em cinco capítulos, incluindo a introdução. O conteúdo de cada um destes capítulos será brevemente explicado a seguir.

O Capítulo 2 aborda os conceitos gerais de materiais magnéticos, incluindo os tipos de materiais magnéticos e o seu comportamento em relação a um campo magnético externo. Em seguida são analisadas a composição e as características das NPMs, tendo como ponto principal o cálculo do deslocamento das NPMs quando submetidas a um campo magnético externo. O Capítulo 2 também apresenta exemplos de aplicações de NPMs in vivo.

A metodologia seguida neste trabalho é detalhada no Capítulo 3, em que é apresentado o desenvolvimento dos cinco componentes para este trabalho, que são o gerador de pulsos, o sistema de porta amostras, a microscopia confocal, as NPMs utilizadas e as simulações magnéticas.

O Capítulo 4 relata os resultados e discussões do trabalho. E por fim, as conclusões e trabalhos futuros são apresentados no Capítulo 5.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 MATERIAIS MAGNÉTICOS: CONCEITOS FUNDAMENTAIS

Um campo magnético pode ser representado por linhas de indução que apresentam a mesma direção de  $\vec{B}$ , que é conhecido como densidade de fluxo magnético ou indução magnética, com unidade em Tesla (T) ou Weber por metro quadrado (Wb/m<sup>2</sup>). Quando um campo magnético é aplicado no vácuo, a densidade de fluxo pode ser definida como (GETZLAFF, 2007):

$$\vec{B} = \mu_0 \vec{H} \quad (1)$$

Sendo que  $\mu_0$  é a permeabilidade magnética do vácuo ( $4\pi 10^{-7}$  H/m),  $\vec{H}$  é a intensidade de campo magnético, com unidade Ampère por metro (A/m). Quando um material ferromagnético é submetido a um campo magnético externo, há um aumento da indução magnética. Este aumento da magnetização é medido através da permeabilidade magnética  $\mu$ , definida como divisão entre a indução magnética e o campo aplicado, conforme Equação 2 (GETZLAFF, 2007).

$$\mu = \frac{\vec{B}}{\vec{H}} \quad (2)$$

A permeabilidade indica a quantidade de indução magnética que é gerada por um material quando este é exposto a um determinado campo magnético. A indução magnética é obtida somando-se o campo aplicado com o campo exterior resultante da magnetização do material. O momento magnético induzido por unidade de volume, devido ao material, é designado intensidade de magnetização ou magnetização, e é representado por  $\vec{M}$ , medido em A/m (GETZLAFF, 2007).

$$\vec{M} = \frac{\vec{B}}{\mu_0} - \vec{H} \quad (3)$$

A permeabilidade relativa serve para medir a intensidade do campo magnético induzido. A permeabilidade magnética de um material ferromagnético não é constante, variando quando o material é magnetizado e pode ser calculada conforme a Equação 4 (GETZLAFF, 2007).

$$\mu_r = \frac{\mu}{\mu_0} \quad (4)$$

A magnetização de um material magnético é proporcional ao campo aplicado. É possível definir um fator de proporcionalidade designado por susceptibilidade magnética, conforme Equação 5 (GETZLAFF, 2007).

$$\chi = \frac{\vec{M}}{\vec{H}} \quad (5)$$

Quando um campo magnético é aplicado a um conjunto de átomos, vários tipos de comportamentos são observados, representando os vários tipos de magnetismo. Em geral, os materiais magnéticos podem ser agrupados segundo três tipos de comportamento: diamagnéticos, paramagnéticos e ferromagnéticos (SADIKU, 2004).

O diamagnetismo é uma forma muito fraca de magnetismo que é não permanente e que persiste somente enquanto um campo externo está sendo aplicado. Ele é induzido através de uma alteração no movimento orbital dos elétrons devido à aplicação de um campo magnético. A magnitude do momento magnético induzido é extremamente pequena, e em uma direção oposta àquela do campo que foi aplicado. Para a maioria dos materiais diamagnéticos, como por exemplo o bismuto, chumbo, cobre, silício, diamante, cloreto de sódio,  $\chi$  é da ordem de  $-10^{-5}$  (CALLISTER, 2008).

Os materiais em que os átomos têm um momento magnético permanente não nulo podem ser paramagnéticos ou ferromagnéticos. O paramagnetismo ocorre em materiais para os quais os campos magnéticos produzidos pelos movimentos de translação dos elétrons em torno do núcleo e de rotação dos elétrons em torno de seus próprios eixos não se cancelam completamente. Diferentemente do diamagnetismo, o paramagnetismo depende da temperatura. Para a maioria dos

materiais paramagnéticos, como por exemplo o ar, platina, tungstênio, potássio,  $\chi$  é da ordem de  $+10^{-5}$  a  $+10^{-3}$  e depende da temperatura (CALLISTER, 2008).

O ferromagnetismo ocorre em materiais para os quais os átomos tem momento magnético permanente relativamente grande. São denominados materiais ferromagnéticos porque o material mais conhecido dessa categoria é o ferro. Outros materiais são o cobalto, o níquel e seus compostos. Os materiais ferromagnéticos são muito úteis na prática (como na composição de NPM). De forma distinta dos materiais diamagnéticos e dos paramagnéticos, os materiais ferromagnéticos possuem as seguintes propriedades (SADIKU, 2004):

- São capazes de serem magnetizados fortemente por um campo magnético;
- Retêm um grau considerável de magnetização quando retirados do campo;
- Perdem suas propriedades ferromagnéticas e tornam-se materiais paramagnéticos lineares quando a temperatura fica acima de uma certa temperatura conhecida como temperatura de Curie. Sendo assim, se um ímã permanente for aquecido acima de sua temperatura de Curie ( $770\text{ }^{\circ}\text{C}$  para o ferro), ele perde sua magnetização por completo;
- São não lineares.

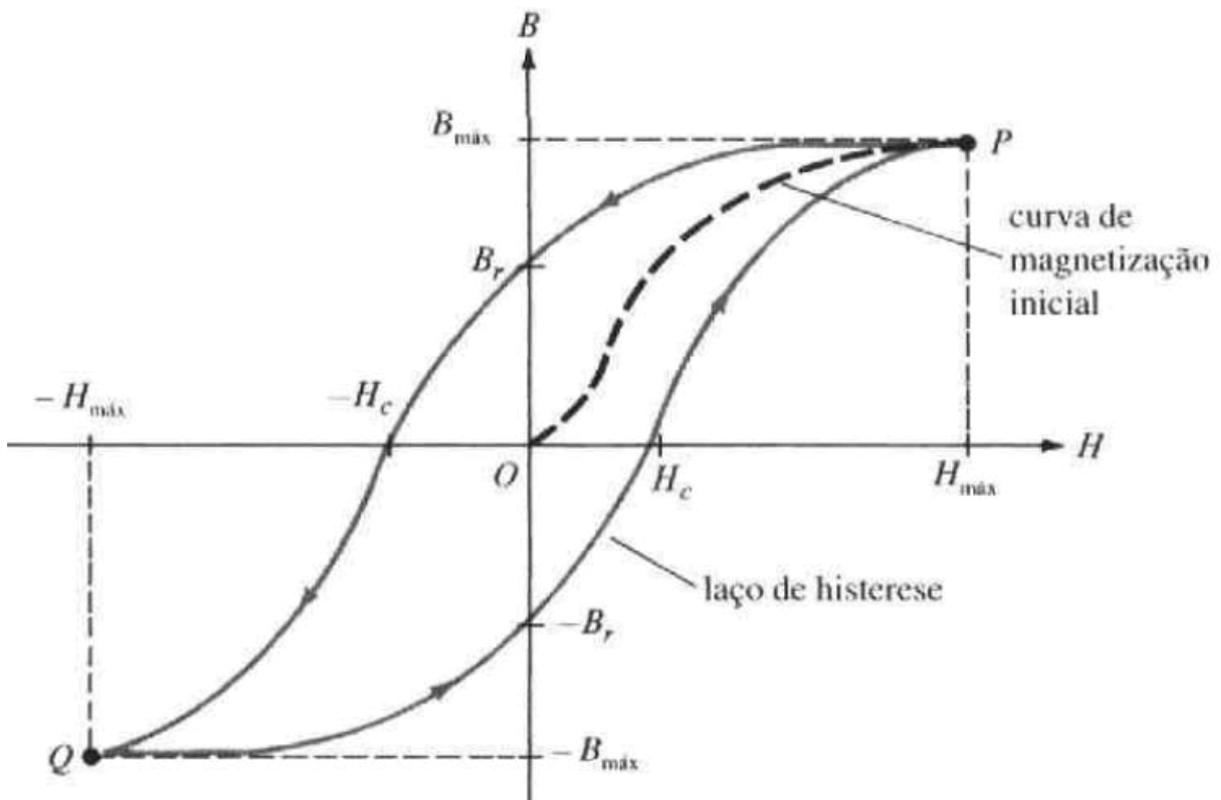
A relação entre  $\vec{B}$  e  $\vec{H}$  depende da magnetização prévia do material ferromagnético, ou seja, da sua história magnética, que é representada pela curva de magnetização ou curva B-H (BOYLESTAD, 2012).

Assumindo que o material ferromagnético, cuja curva B-H está representada na FIGURA 3, está inicialmente desmagnetizado, à medida que H aumenta (devido ao aumento da corrente) de O até a máxima intensidade de campo aplicada  $H_{\text{máx}}$ , a curva OP vai sendo gerada. Esta curva é definida como a curva inicial de magnetização. Após alcançar a saturação em P, se H diminuir, B não segue a curva inicial, mas se atrasa em relação a H. Este fenômeno de B se atrasar em relação a H é denominado histerese (que significa “atraso” em grego) (SADIKU, 2004).

Se H for reduzido a zero, B não é reduzido a zero, mas a  $B_r$ , que é definido como a densidade de fluxo remanente. O valor de  $B_r$  depende de  $H_{\text{máx}}$ , a intensidade de campo máxima aplicada. Se H cresce negativamente (ao se inverter o sentido da corrente), B torna-se zero quando H torna-se  $H_c$ , que é conhecida como intensidade de campo coercitiva. O valor de  $H_c$  depende de  $H_{\text{máx}}$  (BOYLESTAD, 2012).

Um aumento adicional de  $H$  na direção negativa até alcançar  $Q$  e a reversão até alcançar  $P$  resulta em uma curva fechada denominada laço de histerese. O formato dos laços de histerese varia de um material para outro. A área de um laço de histerese resulta na energia perdida (perda histerética) por unidade de volume durante um ciclo da magnetização periódica do material ferromagnético. Essa perda de energia se dá na forma de calor (BOYLESTAD, 2012).

FIGURA 3 – CURVA DE MAGNETIZAÇÃO (B-H) TÍPICA



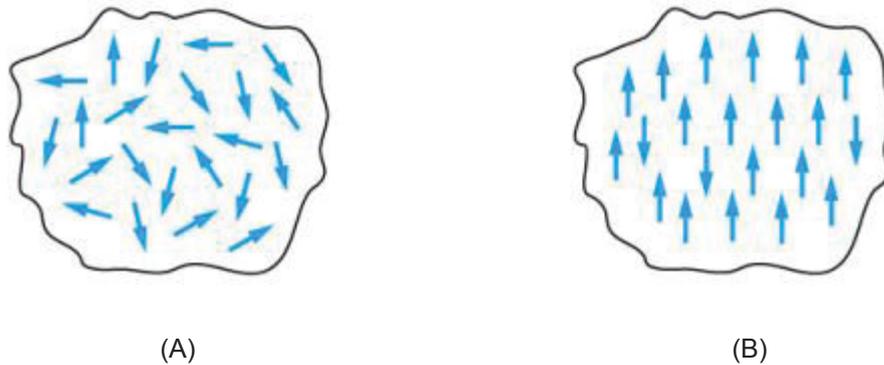
FONTE: SADIKU (2004).

Os domínios magnéticos são regiões dos materiais onde todas as moléculas que estão próximas umas das outras têm os seus momentos magnéticos alinhados em uma única direção. As fronteiras entre estas regiões são denominadas paredes de domínio. Os materiais paramagnéticos têm os domínios magnéticos naturalmente desorientados e na presença de um campo magnético externo estes tendem a alinhar-se enquanto houver a aplicação do campo, conforme FIGURA 4. Os materiais ferromagnéticos tem seus domínios magnéticos alinhados mesmo sem a presença de um campo magnético externo e quando aproximados de um campo magnético externo

estes tendem a alinhar-se na direção do campo magnético aplicado, conforme FIGURA 5 (Lu et al., 2007; PETRY, 2007).

FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO DO DOMÍNIO MAGNÉTICO DE MATERIAIS PARAMAGNÉTICOS

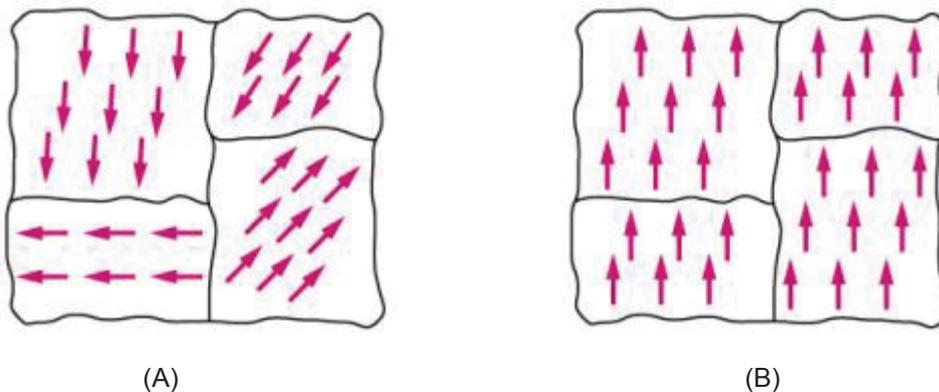
(A – Sem campo magnético aplicado, B – Com campo magnético aplicado)



FONTE: PETRY (2007).

FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO DO DOMÍNIO MAGNÉTICO DE MATERIAIS FERROMAGNÉTICOS

(A – Sem campo magnético aplicado, B – Com campo magnético aplicado)

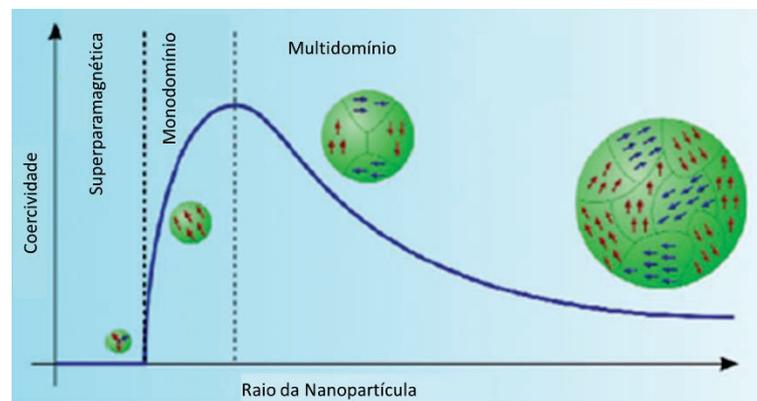


FONTE: PETRY (2007).

A estrutura de domínio de um material ferromagnético determina a dependência do seu comportamento magnético no tamanho do material (MODY et al., 2013). Quando o tamanho de um material ferromagnético é reduzido abaixo do diâmetro crítico (30 nm), este torna-se monodomínio. A configuração da magnetização dentro de uma partícula de monodomínio depende fortemente da anisotropia magnética e da forma da partícula (GUBIN, 2009). Como mencionado anteriormente, o comportamento de um material submetido a um campo magnético é observado pela

curva de histerese, que é caracterizada por dois parâmetros principais, que são a remanência e coercividade. O último está relacionado à abertura da curva. Tratando-se de nanopartículas, a coercividade é a propriedade de maior interesse e é fortemente dependente do tamanho. Foi encontrado que, conforme o tamanho das partículas é reduzido, a coercividade aumenta ao máximo e depois diminui para zero, como mostrado na FIGURA 6. Com uma diminuição adicional no tamanho das partículas abaixo o diâmetro crítico, a coercividade se torna zero e tais partículas se tornam superparamagnéticas (MODY et al., 2013).

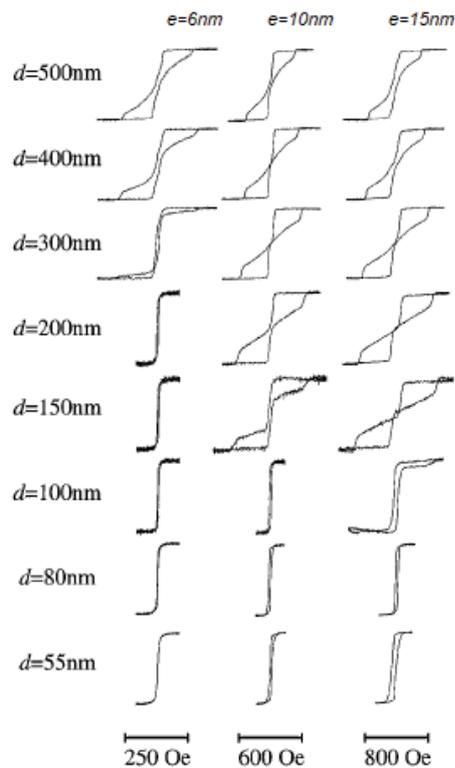
FIGURA 6 – ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA RELAÇÃO ENTRE COERCIVIDADE E RAIOS DA NPM



FONTE: MODY et al. (2013).

Cowburn et al. (1999) fizeram um estudo da dependência do tamanho das partículas na formação de domínios magnéticos, variando o diâmetro ( $d$ ) e espessura ( $e$ ) de discos circulares consistindo em uma liga de Ni-Fe-Mn (Níquel-Ferro-Molibdênio). O resultado da curva de histerese é ilustrado na FIGURA 7, ou seja, quanto menor o tamanho da partícula mais estreita é a curva de histerese.

FIGURA 7 – CURVAS DE HISTERESE MEDIDAS EM FUNÇÃO DO DIÂMETRO ( $d$ ) E ESPESSURA ( $e$ ) DE NANOMAGNETOS CIRCULARES. PARA CADA GRÁFICO O EIXO HORIZONTAL É O CAMPO APLICADO E O EIXO VERTICAL É A MAGNETIZAÇÃO

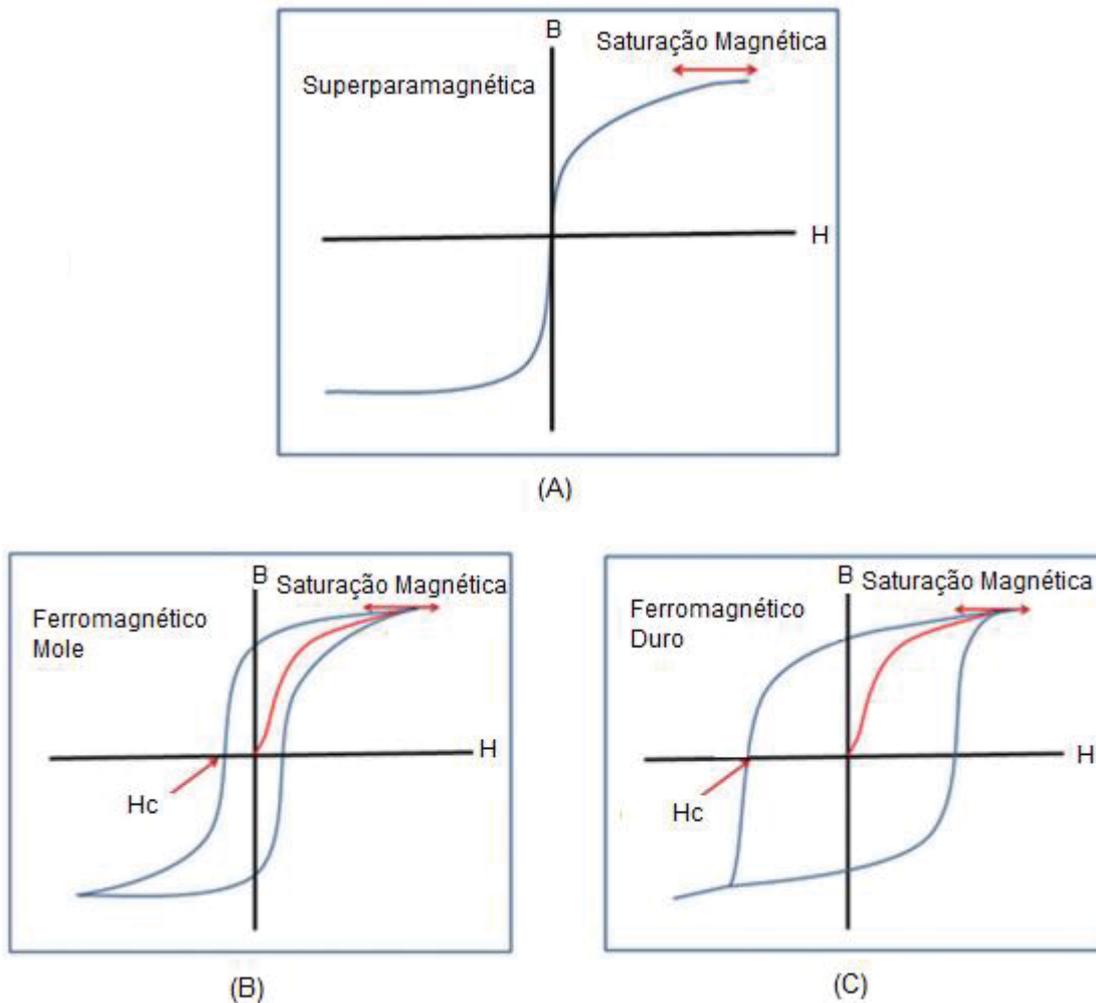


FORNE: COWBURN et al. (1999).

Os materiais ferromagnéticos podem ser categorizados como materiais magnéticos moles e duros, devido à variação na dependência do campo magnético. Materiais magnéticos moles são aqueles que podem ser desmagnetizados sob campos magnéticos baixos e, portanto, a coercividade ( $H_c$ ) é baixa conforme FIGURA 8 (B). Por outro lado, materiais magnéticos moles podem ser facilmente magnetizados e, portanto, a permeabilidade é alta. Os materiais magnéticos duros são aqueles de difícil magnetização, porém uma vez magnetizados, são difíceis de desmagnetizar, portanto possuem coercividade alta, conforme FIGURA 8 (C) (MODY et al., 2014; GUBIN et al., 2005). Diferentemente dos materiais ferromagnéticos, os materiais superparamagnéticos não apresentam magnetização remanente visto que seus dipolos magnéticos desalinham-se sem a presença do campo magnético externo conforme FIGURA 8 (A), o que os fazem ideais para aplicações biológicas pois não há um comportamento ativo das NPMs sem a aplicação do campo (MODY et al., 2014).

FIGURA 8 – CURVA DE HISTERESE TÍPICA

(A – Materiais superparamagnéticos, B – Materiais ferromagnéticos moles, C – Materiais ferromagnéticos duros)



FONTE: MODY et al. (2014).

Em suma, os materiais que apresentam uma pequena susceptibilidade magnética positiva na presença de um campo magnético são designados por paramagnéticos. Já os materiais que apresentam uma pequena susceptibilidade magnética negativa na presença de um campo magnético são designados por diamagnéticos. Os efeitos paramagnético e diamagnético desaparecem quando se remove o campo magnético aplicado. Os materiais que apresentam uma forte susceptibilidade magnética positiva na presença de um campo magnético são designados por ferromagnéticos. Em condições macroscópicas, os materiais ferromagnéticos continuam apresentando uma magnetização remanente, mesmo

quando removido o campo externo. Este efeito está associado à formação de domínios magnéticos, que são entidades coletivas de átomos ou moléculas que possuem a mesma orientação dos momentos magnéticos. Estes domínios possuem em geral dimensões micrométricas, no entanto estas dimensões são fortemente influenciadas pela temperatura, tipo e forma do material, campo externo etc. (GETZLAFF, 2007).

## 2.2 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS: COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS

As NPMs são formadas por materiais ferromagnéticos, porém devido à sua pequena dimensão, são em geral monodomínio, ou seja, cada partícula apresenta um único domínio magnético em todo seu volume. Devido a esta característica, se comportam como materiais paramagnéticos de alta susceptibilidade. Por esta razão, são denominadas de superparamagnéticas, e sob a ação de um campo magnético externo, seus dipolos magnéticos individuais ficam alinhados com este campo. Uma vez que o campo externo é removido, este alinhamento interno desaparece (GETZLAFF, 2007).

As NPMs têm tamanhos controláveis que variam até dezenas de nanômetros, o que coloca em dimensões menores ou comparáveis às de uma célula (10–100  $\mu\text{m}$ ), um vírus (20–450 nm), uma proteína (5–50 nm) ou um gene (2 nm de largura e 10–100 nm de comprimento), ou seja, estas podem "se aproximar" de uma entidade biológica de interesse (PANKHURST et al, 2003).

Além disso, as NPMS podem ser revestidas com moléculas biológicas o que contribui para a interação ou ligação a uma entidade biológica, portanto, podem funcionar como uma forma de endereçamento das entidades biológicas (PANKHURST et al, 2009).

As nanopartículas magnéticas são magnetizáveis e, portanto, podem ser manipuladas por um gradiente de campo magnético externo. Essa propriedade, combinada à penetrabilidade intrínseca dos campos magnéticos ao tecido humano, propicia aplicações envolvendo o transporte e / ou imobilização de nanopartículas magnéticas, ou de entidades biológicas marcadas magneticamente. Desta forma, elas podem entregar um pacote, como um medicamento anticâncer, para uma região alvo do corpo, como um tumor (PANKHURST et al, 2009).

As nanopartículas magnéticas para aplicações na biologia são geralmente imersas em uma solução inerte à base de água deionizada. A concentração de nanopartículas por unidade de volume pode então ser alterada pela adição de água, de forma a atender as necessidades de cada aplicação.

A viscosidade do meio líquido tem um papel importante na movimentação das nanopartículas imersas em uma solução aquosa. Ao ser aplicado um campo magnético, há duas forças principais atuando em cada nanopartícula, que são a força magnética, que tende a movimentar a partícula, e a força de frenagem ligada à viscosidade do fluido. As demais forças como a gravitacional e interação entre as partículas podem ser desconsideradas, pois são muito inferiores (HAVERKORT, 2009). A força magnética pode ser obtida pela Equação 6 (BANERJEE et al, 2012):

$$\vec{F}_m = \mu_0 V_m \chi (\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a \quad (6)$$

Onde  $V_m$  é o volume da nanopartícula,  $\vec{H}_a$  é a intensidade de campo magnético externo aplicado,  $\nabla \vec{H}_a$  é gradiente espacial da intensidade de campo magnético externo e, como já mencionado anteriormente,  $\mu_0$  e  $\chi$  são respectivamente a permeabilidade magnética do vácuo e a susceptibilidade magnética (BANERJEE et al, 2012).

A força do fluido para uma partícula esférica é determinada pela lei de Stokes conforme abaixo (WEI E WANG, 2018):

$$\vec{F}_s = -6\pi\eta r_p (\vec{v}_p - \vec{u}) \quad (7)$$

Onde  $r_p$  e  $\vec{v}_p$  são o raio hidrodinâmico e a velocidade da partícula, e  $\eta$  e  $\vec{u}$  são a viscosidade e velocidade do fluido, respectivamente (WEI E WANG, 2018).

Como a susceptibilidade magnética das nanopartículas é medida baseada no total da nanopartícula, o raio magnético e o raio hidrodinâmico podem ser considerados iguais. Com isso, o volume da nanopartícula pode ser expresso por  $(4/3)\pi r_p^3$ . A força atuando na nanopartícula devido ao campo magnético e fluido viscoso pode ser descrita por meio da lei de Newton, conforme abaixo (WEI E WANG, 2018):

$$m_p \frac{d\vec{v}_p}{dt} = \mu_0 V_m \chi (\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a - 6\pi\eta r_p \vec{v}_p \quad (8)$$

Considerando que o fluido esteja em uma condição estática, a velocidade do fluido  $\vec{u}$  pode ser definida como zero (WEI E WANG, 2018).

O vetor de deslocamento ( $s$ ) das NPMs pode ser descrito pela Equação ordinária (BANERJEE et al, 2012; WEI E WANG, 2018):

$$\frac{d\vec{s}}{dt} = v_p = \frac{\vec{F}_m}{6\pi\eta r_p} \quad (9)$$

Através da resolução da integral da Equação 9, sabe-se que o deslocamento da nanopartícula ( $s$ ) é dado conforme abaixo (BANERJEE et al, 2012):

$$s(t) = \frac{\vec{F}_m}{6\pi\eta r_p} t = \frac{\mu_0 V_m \chi (\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a}{6\pi\eta r_p} t \quad (10)$$

Considerando que o tamanho de uma célula cancerosa seja de cerca de 9  $\mu\text{m}$  (SHI et al, 2015) e que a NPM estaria localizada no centro dela, o deslocamento mínimo necessário das NPMs para ultrapassar a membrana da célula cancerosa deve ser da mesma ordem de grandeza, porém não muito superior, para não causar danos em células vizinhas saudáveis. Estipulando este deslocamento como 5,5  $\mu\text{m}$ , foi calculado através da Equação 10 qual seria o valor da operação gradiente da intensidade de campo magnético multiplicado pelo valor da intensidade de campo magnético  $((\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a)$ . Este cálculo foi efetuado levando em consideração larguras de pulso de 10  $\mu\text{s}$  e 1 ms, pois são os valores de largura de pulso dos dois geradores utilizados neste trabalho, conforme será abordado na seção 3.1. A susceptibilidade do  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , que é o material do núcleo da NPM, é de 1,17, o raio considerado da NPM é de 0,278  $\mu\text{m}$ , conforme será discutido na seção 4.2, e a viscosidade considerada será a da água ( $10^{-3} \text{ N}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ ), pois a NPM utilizada está inserida em uma dispersão aquosa. A TABELA 1 mostra os resultados destes cálculos, que foram realizados apenas para ter-se uma noção da ordem de grandeza e não de valores absolutos.

$$s(t) = \frac{\mu_0 V_m \chi (\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a}{6\pi\eta r_p} t = \frac{4 \cdot \pi \cdot 10^{-7} \cdot \left(\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (0,278 \cdot 10^{-6})^3\right) \cdot 1,17 \cdot (\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a}{6 \cdot \pi \cdot 10^{-3} \cdot 0,278 \cdot 10^{-6}} t$$

TABELA 1 – CÁLCULO DO GRADIENTE DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO MULTIPLICADO PELA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO

Tempo	Gradiente da Intensidade de Campo Magnético * Intensidade de Campo Magnético
10 $\mu$ s	$2,18 \cdot 10^{16} \text{ A}^2/\text{m}^3$
1 ms	$2,18 \cdot 10^{14} \text{ A}^2/\text{m}^3$

Fonte: A autora (2019).

Conforme resultados da TABELA 1, quanto menor a largura de pulso do campo aplicado, maior será a intensidade de campo magnético bem como o seu gradiente necessários para deslocar a NPM.

### 2.3 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS: APLICAÇÕES IN VIVO

Um desafio crucial nas aplicações in vivo das NPMs é entender sua farmacocinética de modo a permitir o controle de seu comportamento in vivo a partir de suas dimensões e seu revestimento. Na maioria dos casos, as NPMs, seja para finalidade de entrega de medicamento ou como agentes de contraste para imagem por ressonância magnética, são administradas por via intravenosa e atingem as células cancerosas via circulação sanguínea. Isso naturalmente levanta questões como o período em que as partículas podem permanecer na circulação sanguínea e seu destino. Estas são questões críticas que determinam diretamente a eficácia diagnóstica e terapêutica. Estudos estreitam a janela de tamanho das nanopartículas para a faixa de 10 nm a 200 nm, tamanho adequado para injeção intravenosa. Fora deste intervalo, as NPMs não têm tempo de circulação suficiente para alcançar as áreas desejadas (XIE et al., 2009).

As NPMs têm a propriedade de se tornarem objetiváveis, portanto, capazes de alcançar os locais patológicos especificamente. Para atingir este objetivo, biovetores devem ser carregados primeiramente na NPMs antes da administração, o que dará as NPMs a capacidade de atingir alguns tecidos específicos. Por exemplo, se o objetivo é atingir um tumor: os biovetores como anticorpos ou peptídeos serão

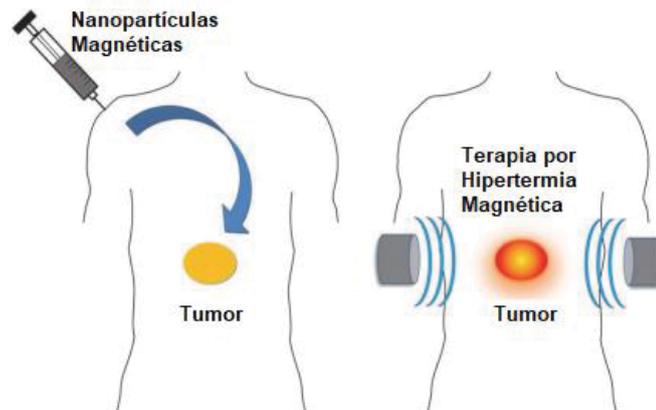
reconhecidos e capturados pelos correspondentes biomarcadores que são característicos da superfície das membranas das células tumorais. Através das interações específicas entre o biovetor na superfície das NPMs e os receptores nas membranas celulares, as NPMs podem se acumular nas membranas celulares ou mesmo se internalizarem através de endocitose mediada por receptor. As células normais, por outro lado, não serão rotuladas (XIE et al., 2009).

Pesquisas recentes mostram que as nanopartículas magnéticas podem ser aplicadas em biomedicina incluindo hipertermia, imagem por ressonância magnética e entrega de medicamento. Foi demonstrado recentemente (UZHYTCHAK et al., 2017) que a aplicação de campos magnéticos pulsados de alta intensidade aumentam significativamente a entrada de nanopartículas no interior de células (*uptake*), sem danos perceptíveis às células. Estes resultados demonstram uma forte interação entre as NPMs e campos magnéticos pulsados, motivando ainda mais o presente estudo.

### 2.3.1 Hipertermia

Ao serem submetidas a um campo magnético externo alternado, as NPMs podem apresentar efeitos de aquecimento devido às perdas durante o processo de reversão de magnetização. Este aquecimento que ocorre nas NPMs sob a influência de um campo magnético externo em altas frequências pode ser aplicado no tratamento contra o câncer por hipertermia (HERGT, 2006). A FIGURA 9 representa um esboço feito por ANDRADE et al. (2011) mostrando o procedimento geral para a injeção endovenosa das NPMs no corpo humano: primeiramente as NPMs são injetadas em um tumor e, em seguida, um campo magnético alternado aplicado externamente induz a hipertermia.

FIGURA 9 – ESBOÇO MOSTRANDO O PROCEDIMENTO DO PROCESSO DE HIPERTERMIA



FONTE: ANDRADE et al. (2011).

As perdas durante o processo de reversão de magnetização ocorrem devido a diferentes mecanismos, tais como histerese e relaxamento de Néel ou Brown. O mecanismo dominante responsável pelo aquecimento das NPMs em um campo magnético externo depende do tamanho da partícula, geometria, configuração física e viscosidade (SHI et al., 2015).

No relaxamento de Néel a dissipação do calor ocorre quando a partícula ultrapassa uma barreira de energia na presença de um campo magnético alternado. No caso do relaxamento Browniano, o aquecimento das partículas em suspensão líquida ocorre devido a arrasto viscoso entre as partículas e o líquido, causado pelo movimento rotacional a partir do campo magnético alternado aplicado (SHI et al., 2015; LEMINE, 2019).

O tratamento por hipertermia pressupõe que as células tumorais são mais suscetíveis a temperaturas elevadas (entre 42°C e 45°C) do que células saudáveis. Assim, uma vez que se consegue a aplicação de NPMs especificamente nas células tumorais, o campo magnético externo de alta frequência pode ser aplicado nas proximidades do tumor, levando à geração de calor localmente para danificá-las, sem prejudicar os tecidos saudáveis (SHI et al., 2015).

Como o objetivo é gerar um aumento de temperatura que seja suficiente em todo o volume do tecido alvo para que a hipertermia induzida seja efetiva, então o método usado para colocar as nanopartículas no alvo torna-se crítico (WUST et al., 2006). Pesquisadores têm seguido o conceito de aquecimento intersticial por injeção

direta em múltiplos locais das NPMs e desenvolveram medidas sofisticadas para garantir que a taxa de absorção específica (SAR) em todo volume alvo seja suficiente para resultar em uma dose térmica terapêutica (SAPARETO e DEWEY, 1984). Porém, MOROZ et al. (2002) relatam dificuldade em obter uma solução térmica uniformemente eficaz em todo o volume do tumor. Há duas razões mais frequentes pelas quais uma pequena seção de um tumor pode não ser aquecida, que são o aumento local do fluxo sanguíneo, por exemplo, devido a um vaso sanguíneo próximo ou uma concentração inadequada de nanopartículas magnéticas implantadas (CETAS et al, 1998; MAIER et al., 2007).

### 2.3.2 Aumento de contraste de imagem não invasiva

As NPMs podem ser aplicadas para aumentar o contraste nos exames de imagem por ressonância magnética (IRM), que é uma técnica de imagem médica usada para visualizar estruturas internas e função de alguns tecidos. As nanopartículas de óxido de ferro foram as primeiras e são os agentes de contraste magnéticos baseados em nanopartículas mais comumente utilizados para ressonância magnética (SUN et al., 2008; NEUBERGER et al., 2005). O princípio de funcionamento da ressonância magnética consiste na aquisição de imagens internas do corpo através do aproveitamento dos numerosos átomos de hidrogênio que ele possui (água e gorduras principalmente), sendo adequada para a visualização de estruturas do tecido mole, como cérebro ou medula espinhal. Colocados sob um potente campo magnético, os átomos orientam-se numa mesma direção. Seguidamente, são excitados por ondas de radiofrequência durante um intervalo de tempo curto, sendo colocados em ressonância, e quando esse estímulo para, os átomos restituem a energia acumulada, produzindo um sinal que posteriormente é tratado para a obtenção das respectivas imagens. O processo pelo qual partículas em geral, nesse caso os prótons, retornam ao seu estado inicial é chamado de fenômeno de relaxação, que pode acontecer de duas maneiras: relaxação longitudinal, que tem sua eficiência determinada pela constante de tempo nomeada como T1 e relaxação transversal, que tem sua eficiência determinada pela constante de tempo nomeada como T2. Em muitos casos o sinal produzido por esta técnica não é suficiente para se

fazer diagnósticos médicos, sendo necessário o uso de agentes que potencializem o contraste das imagens, conhecidos como agentes de contraste (SOUZA, 2011).

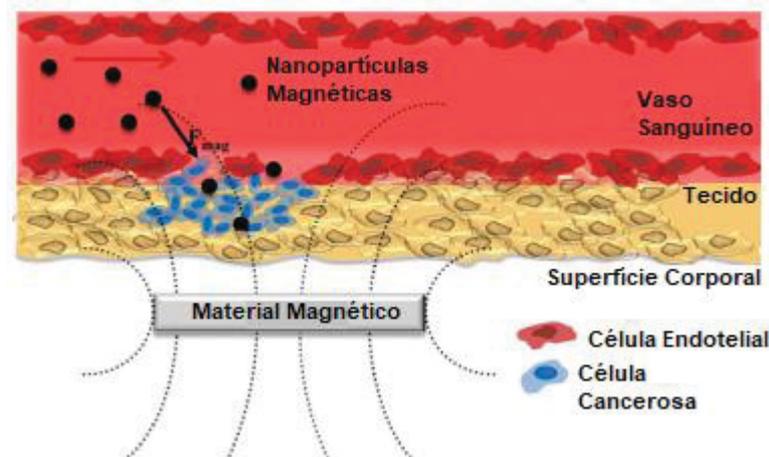
Nos últimos anos, inúmeras pesquisas estão sendo feitas no sentido de desenvolver materiais capazes de fornecer um contraste mais eficaz. As NPMs se destacam para esses propósitos por sua propriedade de superparamagnetismo e pelo fato de gerarem calor ao serem excitadas. A principal vantagem delas em relação aos outros agentes de contraste é o aumento do sinal obtido devido à redução dos tempos de relaxação T1 e T2.

A eficácia como agentes de contraste de IRM das NPMs de óxido de ferro depende em grande parte de suas propriedades físico-químicas, particularmente seu tamanho e química de superfície, sendo este último modificado por conjugação com substâncias biologicamente ativas como anticorpos, ligantes receptores, polissacarídeos e proteínas (DUAN et al., 2008). Em suma, a aplicação das NPMs como agente de contraste requer que elas sejam biocompatíveis, que tenham características superparamagnéticas e que não se agreguem dentro do organismo a fim de não serem reconhecidas pelo sistema imune (SOUZA, 2011).

### 2.3.3 Entrega de medicamento

As NPMs também podem ser empregadas como portadoras para o fornecimento de medicamento. Esta perspectiva é particularmente importante no tratamento do câncer, já que a quimioterapia tradicional e radioterapia apresentam efeitos colaterais consideráveis (DOBSON, 2006). A FIGURA 10 representa o conceito que envolve carregamento de medicamentos nas NPMs, quimicamente ou fisicamente, aproveitando também a capacidade de concentrar a NPMs em áreas de interesse, onde os medicamentos podem ser liberados de maneira controlada (PARK et al., 2010). O sistema magnético de administração de medicamentos funciona na entrega de nanopartículas magnéticas carregadas com medicamentos no local do tumor sob a influência do campo magnético externo (MODY et al., 2014). Por meio desta abordagem, a dosagem de medicamento pode ser reduzida drasticamente, o que favorece a minimização dos efeitos colaterais da quimioterapia e radioterapia (XIE et al., 2009).

FIGURA 10 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA MAGNÉTICO DE ADMINISTRAÇÃO DE MEDICAMENTOS



FONTE: PARK et al. (2010).

As propriedades magnéticas intrínsecas das NPMs fazem com que estas tenham a capacidade de responder à aplicação de um campo magnético externo. Esse recurso foi empregado no transporte de NPMs carregadas de medicamento para áreas de interesse. Experimentos apontam que uma combinação de um forte campo magnético e NPMs de grande porte em altas concentrações é necessária para alcançar a localização desejada. As restrições físicas impostas ao direcionamento magnético, como a rápida diminuição da força do campo em razão da profundidade do corpo e as dificuldades de contornar estruturas teciduais são pontos de atenção para a realização clínica desta tecnologia. Grande parte do trabalho nessa área concentrou-se no desenvolvimento de campos magnéticos de alto momento e de nanopartículas com novos revestimentos multifuncionais (DOBSON, 2006). Neste ponto, ensaios foram relatados por XIE et al. (2009) empregando campo externo para concentrar o medicamento em NPMs em animais. Uma questão na administração magnética de medicamentos é se a aplicação de forças magnéticas pode competir com forças convectivas de sangue (arrasto) que tendem remover as partículas (NACEV et al., 2011; LEE et al, 2013).

## 2.4 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 2

O deslocamento das NPMs, quando estas são submetidas a um campo magnético, está relacionado com duas forças que atuam nas mesmas: a força

magnética e força de arraste devido à solução aquosa em que estão inseridas. Além disso, este deslocamento é diretamente proporcional ao tempo de aplicação do pulso magnético, portanto, quanto menor o tempo de aplicação, maior o gradiente de campo magnético, bem como o próprio campo magnético necessários para a NPM percorrer uma dada distância.

As NPMs possuem a característica de ter coercividade e remanência nula, o que contribui para a aplicação deste tipo de material na área biológica, visto que o mesmo não possui atividade enquanto não for submetido a um campo magnético externo.

Hipertermia, aumento do contraste em imagem não invasiva e entrega de medicamento são alguns exemplos de como as NPMs vêm sendo alvo de estudo na área biomédica. Este trabalho propõe uma abordagem inédita, consistindo na aplicação das NPMs no interior das células cancerosas, com posterior deslocamento das mesmas, devido à aplicação de um campo magnético pulsado de curta duração (milissegundos), o que poderá causar danos ou até mesmo a morte destas células.

### 3 METODOLOGIA

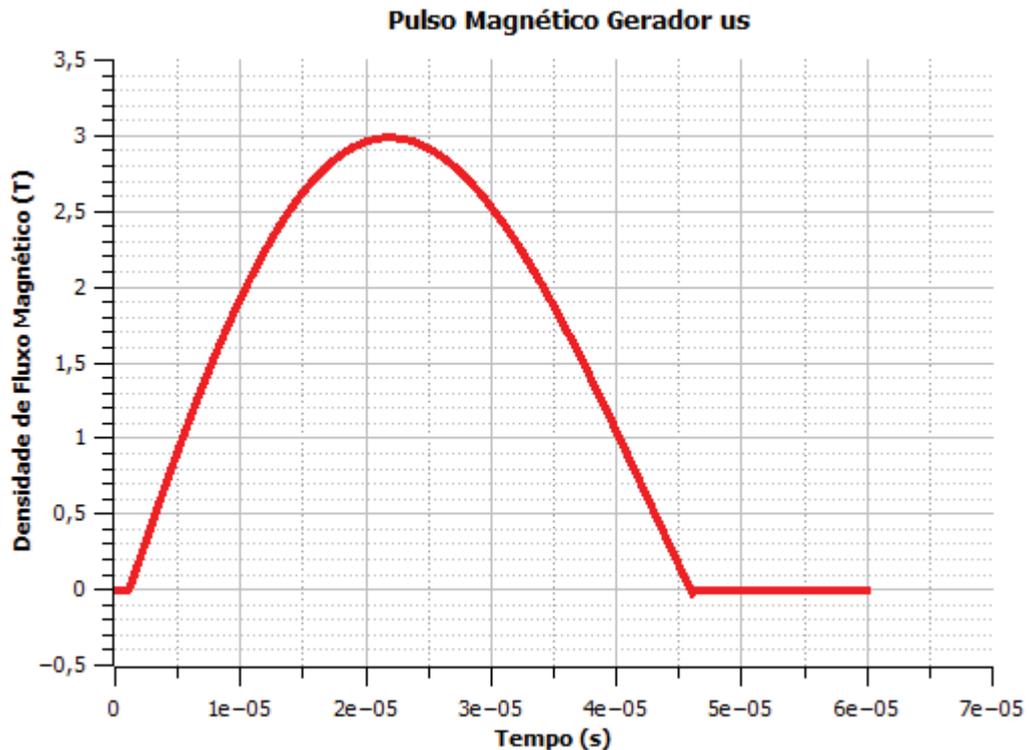
Os principais elementos necessários ao desenvolvimento deste trabalho são um gerador de campo magnético pulsado, um microscópio confocal e nanopartículas magnéticas biocompatíveis.

#### 3.1 GERADOR DE PULSO

Os campos magnéticos pulsados de alta intensidade são gerados a partir de uma corrente elétrica circulando em uma bobina. O gerador de campos magnéticos pulsados tem como função principal gerar pulsos controlados de alta corrente em uma bobina a partir da descarga de capacitores carregados com altas tensões. Esta passagem de corrente por uma bobina é responsável por criar o campo magnético (COSTA, 2017).

O primeiro gerador de campos magnéticos pulsados utilizado neste projeto é o gerador desenvolvido pelo aluno Leonardo Pereira da Costa no seu trabalho de conclusão de graduação apresentado em 2017, sob a orientação do prof. Dr. Márlcio José do Couto Bonfim.

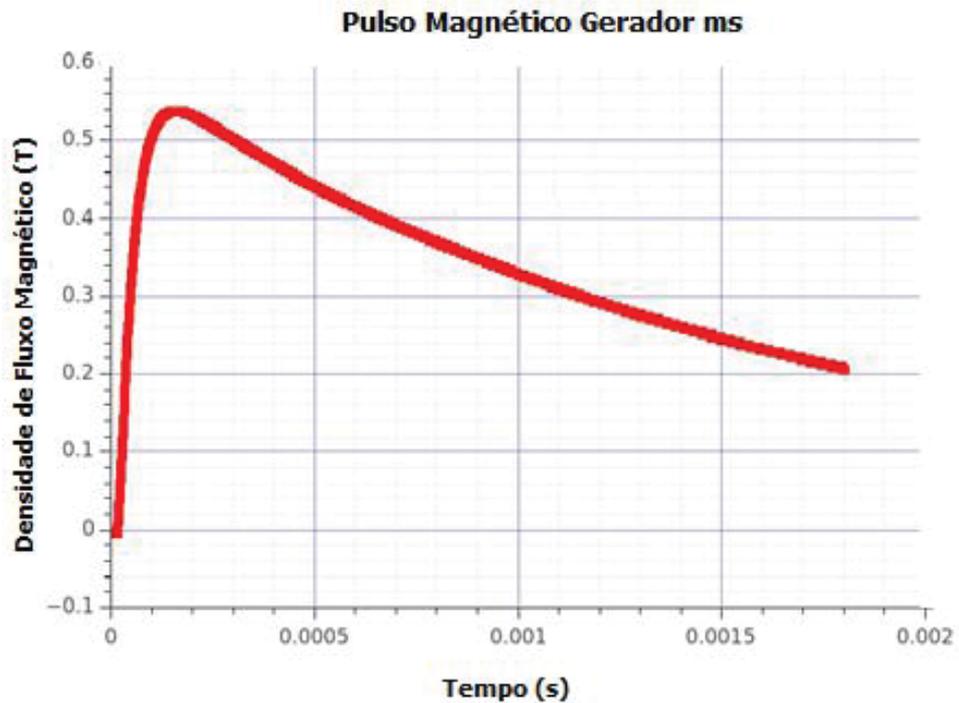
O campo magnético gerado é proporcional à tensão sobre o capacitor, ou seja, quanto maior a tensão, maior a corrente que passa pela bobina e conseqüentemente maior o campo magnético gerado (COSTA, 2017). A FIGURA 11 representa o pulso magnético do gerador nomeado neste trabalho como gerador  $\mu$ s. A partir desta figura, utilizando a Equação 1 e considerando a permeabilidade magnética como à do ar, já que o pulso é gerado no ar, calcula-se que o campo magnético máximo produzido pelo gerador  $\mu$ s é de  $23,87 \cdot 10^5$  A/m.

FIGURA 11 – PULSO MAGNÉTICO DO GERADOR  $\mu\text{s}$ 

FONTE: COSTA (2017).

Porém, conforme será explicado na seção 4.2, o gerador  $\mu\text{s}$  não foi eficaz para movimentar as NPMS, por isso fez-se necessário elaborar um segundo gerador de pulso alterando a ordem de grandeza da duração do pulso de  $\mu\text{s}$  para ms. A FIGURA 12 representa o gráfico do pulso magnético do gerador denominado neste trabalho como gerador ms. A curva da densidade de fluxo magnético em função do tempo foi obtida por meio de um osciloscópio em conjunto com um medidor de densidade de fluxo magnético (marca: PHYWE, modelo: 13610-93) a 2 mm de distância do eletroímã. Ambos os geradores possuem o mesmo princípio de operação: a descarga do capacitor através da bobina gera um pulso de corrente que por sua vez gera o campo magnético. O que distingue os dois geradores são os valores de capacitância, largura do pulso e o próprio campo. Utilizando a Equação 1, calcula-se que o campo magnético máximo produzido pelo gerador ms é de  $39,8 \cdot 10^4$  A/m.

FIGURA 12 – PULSO MAGNÉTICO DO GERADOR MS



FONTE: A autora (2019).

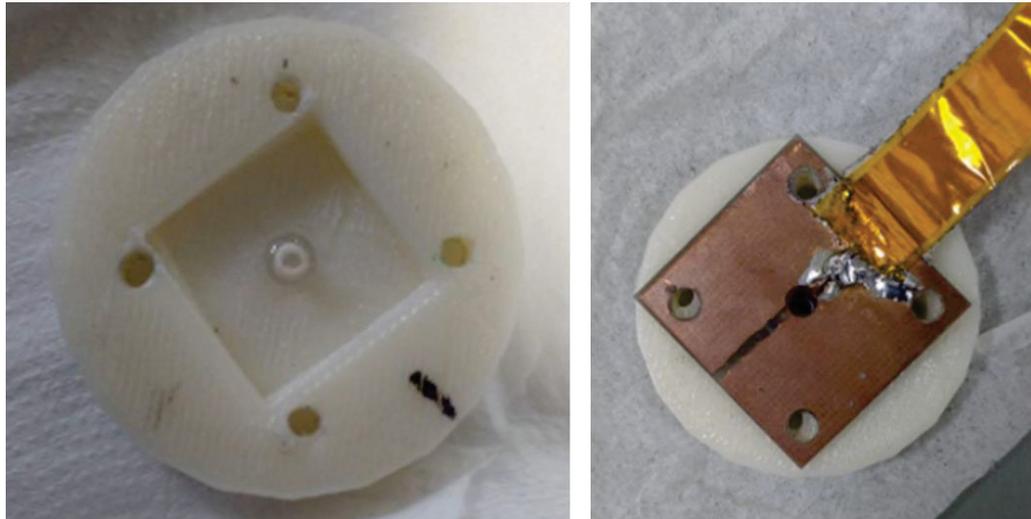
Os circuitos utilizados nestes geradores são apresentados nos Apêndices 1 e 2.

### 3.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA DE PORTA-AMOSTRAS

Todos os porta-amostras desenvolvidos foram elaborados com dimensional específico para encaixar no microscópio confocal. Além disso, embaixo dos mesmos foram coladas lamínulas limpas (espessura entre 0,13 mm e 0,16 mm) utilizando cola epóxi.

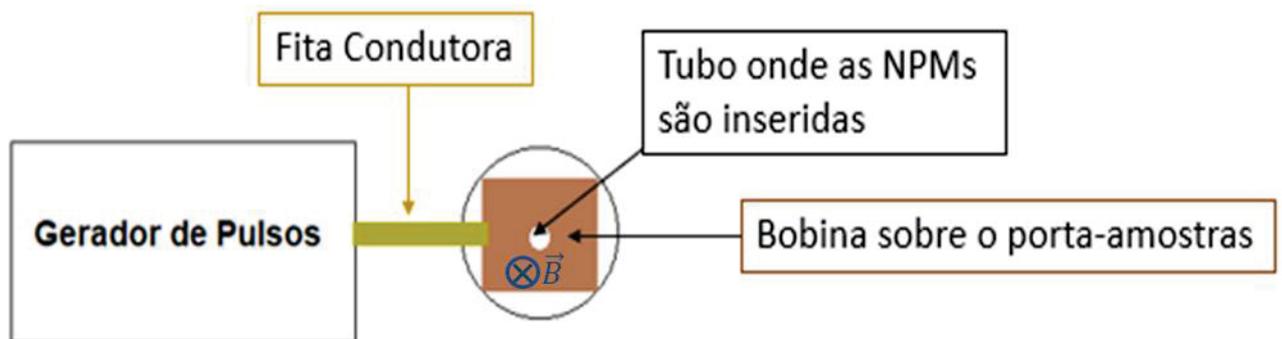
O primeiro sistema de porta-amostras desenvolvido (porta-amostras vertical) é representado pela FIGURA 13 e foi fabricado utilizando a impressora 3D do LAMMI. Neste sistema a bobina é colocada na parte superior do porta-amostras e as NPMs são colocadas dentro de um tubo central de cerca de 2 mm de diâmetro. O esquemático deste porta-amostras é representado na FIGURA 14.

FIGURA 13 – SISTEMA DE PORTA-AMOSTRAS VERTICAL



FONTE: A autora (2018).

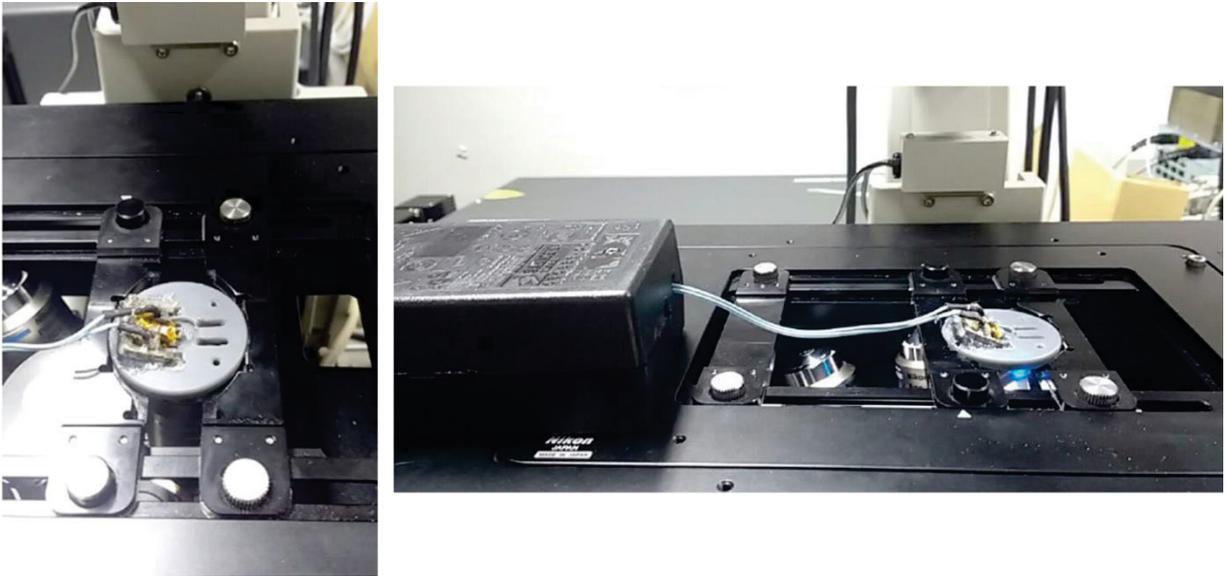
FIGURA 14 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DO PORTA-AMOSTRAS VERTICAL



FONTE: A autora (2020).

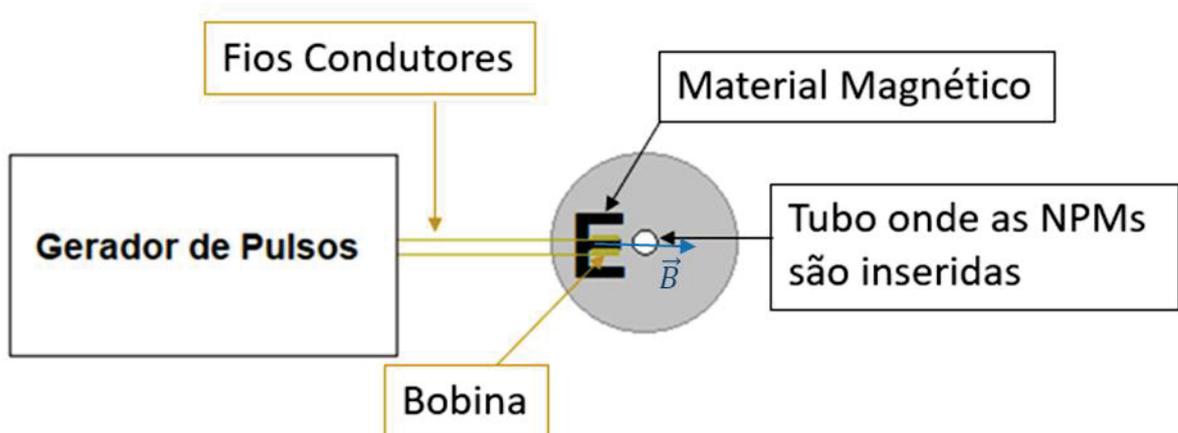
No segundo sistema de porta-amostras (porta-amostras unilateral com eletroíma) a bobina foi construída em torno de um material magnético mole (FeSi) para concentrar o fluxo magnético na região onde as NPMs são colocadas. As NPMs também são colocadas dentro de um tubo central de cerca de 2 mm de diâmetro. A FIGURA 15 ilustra este porta-amostras e a FIGURA 16 representa o seu esquemático.

FIGURA 15 – SISTEMA DE PORTA-AMOSTRAS UNILATERAL COM ELETROÍMÃ



FONTE: A autora (2019).

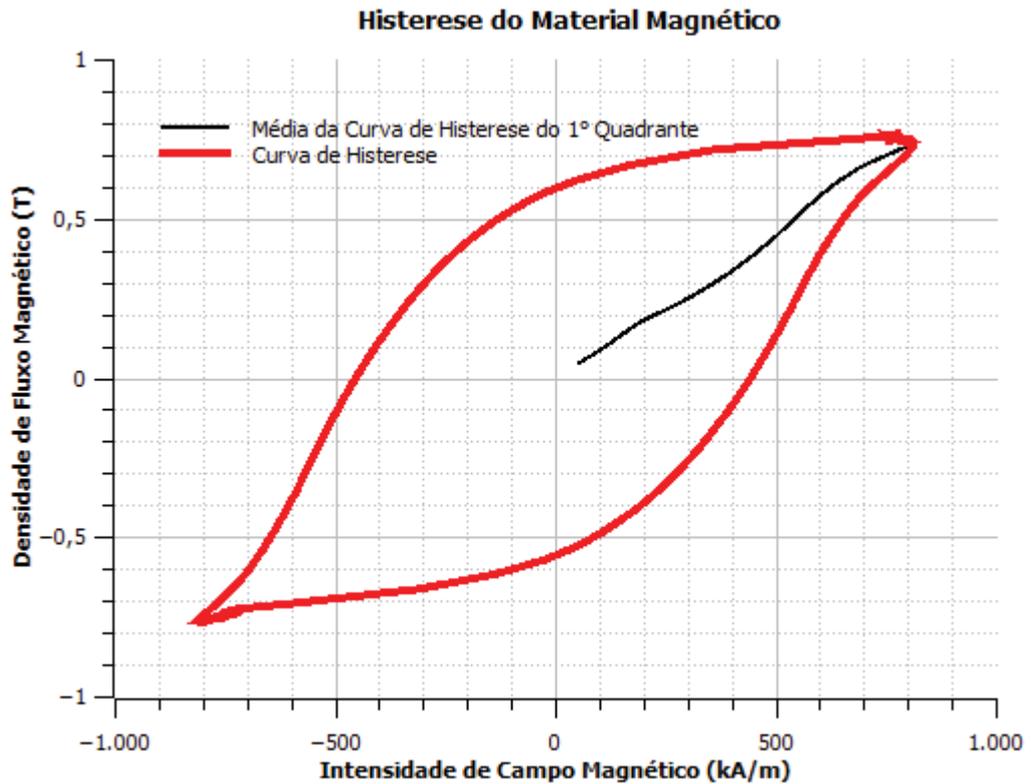
FIGURA 16 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA DO PORTA-AMOSTRAS UNILATERAL COM ELETROÍMÃ



FONTE: A autora (2020).

O material magnético utilizado na construção do eletroímã tem característica geométrica no formato da letra “E” e foi caracterizado utilizando um magnetômetro do tipo Hysteresograph desenvolvido pelo Laboratório de Magnetismo, Medidas e Instrumentação (LAMMI) da UFPR. A excitação foi um sinal triangular de 1 kHz. A curva de histerese resultante está representada pela FIGURA 17.

FIGURA 17 – CARACTERIZAÇÃO DA CURVA DE HISTERESSES DO MATERIAL MAGNÉTICO



FONTE: A autora (2019).

### 3.3 MICROSCOPIA CONFOCAL

O Centro de Tecnologias Avançadas em Fluorescência da Universidade Federal do Paraná (Setor de Ciências Biológicas) possui um microscópio confocal A1RSiMP (Nikon, Japão) ilustrado na FIGURA 18, que possibilita a visualização de partículas sub-micrométricas imersas em uma solução ou mesmo inseridas em células vivas. A colaboração foi firmada com o técnico do laboratório MSc. Israel Henrique Bini, com o Dr. Gustavo Rodrigues Rossi, com o MSc. João Luiz Aldinucci Buzzo e com orientador de ambos Prof. Dr. Edvaldo da Silva Trindade.

FIGURA 18 – MICROSCÓPIO DE VARREDURA A LASER CONFOCAL MULTIFÓTON



FONTE: NIKON INSTRUMENTS INC. (2018).

Para visualização dos vídeos e imagens salvos pela interface do microscópio confocal utilizou-se o software Fiji, que é um pacote de processamento de imagens de código aberto baseado no ImageJ (SCHINDELIN et al., 2019).

### 3.4 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

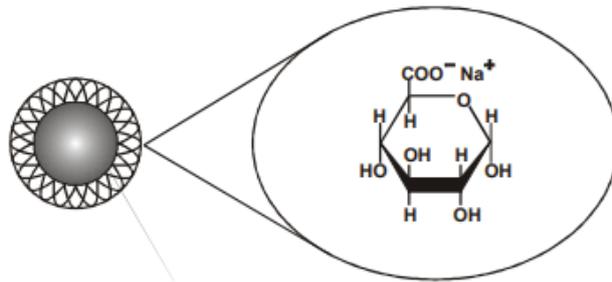
As NPMs utilizadas neste trabalho foram cedidas pelo Institut Néel (Grenoble-França), pela pesquisadora Nora Dempsey. A FIGURA 19 representa as nanopartículas denominadas pelo fornecedor Chemicell como fluidMAG, que são ferrofluidos constituídos por uma dispersão aquosa de óxidos de ferro magnéticos com diâmetro de 50 nm. Conforme a FIGURA 20, as partículas são cobertas com polímeros hidrofílicos que os protegem contra agregação com outros íons. Grupos funcionais terminais, tais como grupos de permuta de íons ou grupos reativos para imobilização covalente, podem ser utilizados para ligação a biomoléculas. Os ferrofluidos podem ainda ser usados para diagnósticos de ressonância magnética e aplicações de direcionamento magnético de medicamento.

FIGURA 19 – SOLUÇÃO AQUOSA DE NPM FLUIDMAG



FONTE: A autora (2018).

FIGURA 20 – REPRESENTAÇÃO NPM FLUIDMAG



FONTE: CHEMICELL (2018).

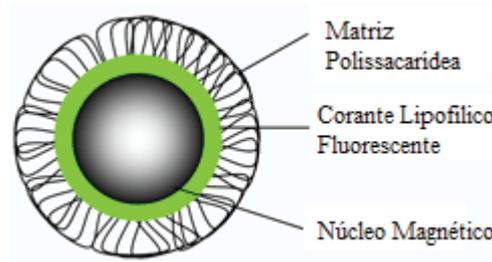
A FIGURA 21 representa a nanopartícula magnética denominada pelo fornecedor Chemicell como nano-screenMAG, que é uma dispersão aquosa de nanopartículas fluorescentes magnéticas em diâmetro hidrodinâmico 200 nm. Conforme FIGURA 22, as partículas de nano-screenMAG consistem em um núcleo de magnetita que é primeiramente coberto por um corante de fluorescência lipofílico. Uma segunda camada que envolve a partícula com um polímero hidrofílico que, assim como na fluidMAG, protege as partículas contra a agregação por outros íons. Grupos funcionais terminais, tais como grupos de permuta de íons ou grupos reativos para imobilização covalente, podem ser utilizados para ligação a biomoléculas. Neste caso é utilizado o grupo funcional Ácido Glucurônico – Carboxil. Este tipo de nanopartícula apresenta fluorescência na cor verde, com tipo de magnetização superparamagnético e núcleo formado por magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

FIGURA 21 – SOLUÇÃO AQUOSA DA NPM NANO-SCREENMAG



FONTE: A autora (2018).

FIGURA 22 – REPRESENTAÇÃO DA NPM NANO-SCREENMAG



FONTE: CHEMICELL (2018).

O raio hidrodinâmico que consta na especificação do fornecedor das NPMs é uma média amostral do raio hidrodinâmico das NPMs, portanto, na prática estas não necessariamente terão o raio que consta na especificação.

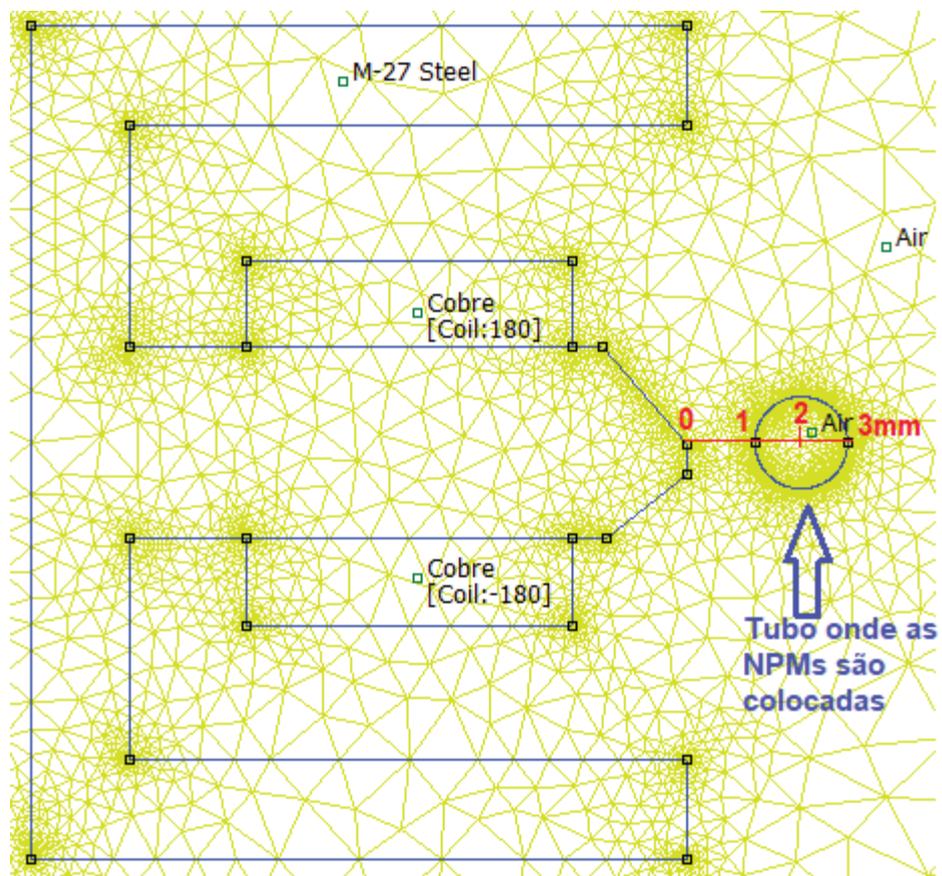
### 3.5 SIMULAÇÕES MAGNÉTICAS

Com o objetivo de melhor caracterizar os pulsos de campo magnético e verificar se o deslocamento que foi observado por microscopia é similar ao deslocamento calculado na teoria, foram realizadas simulações magnéticas pelo método dos elementos finitos utilizando o programa FEMM (*Finite Element Method Magnetics*). Com este programa é possível efetuar simulações de eletroímãs compostos por

bobinas com núcleo de material magnético, levando em conta a curva de magnetização do material. Pode-se assim determinar a densidade de fluxo magnético, a intensidade de campo magnético e seu gradiente espacial, parâmetros importantes para estimativa do deslocamento das nanopartículas e otimização da etapa de geração dos pulsos de campo.

O sistema do porta-amostras unilateral com eletroímã da FIGURA 15, responsável por deslocar as NPMs, foi desenhado no programa FEMM conforme FIGURA 23. O círculo indicado na FIGURA 23 é a região do tubo onde as NPMs são colocadas, que possui 2 mm de comprimento e está a 1 mm de distância do eletroímã.

FIGURA 23 – ESQUEMÁTICO DO SISTEMA PARA SIMULAÇÃO NO FEMM



FONTE: A autora (2019).

A simulação foi feita considerando frequência de 1 kHz, tendo em vista que o gerador de pulsos que apresentou melhores resultados possui largura de pulso da ordem de milissegundos.

### 3.6 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 3

A metodologia de aplicação dos pulsos de campo magnético nas NPMs consiste na utilização de dois geradores de pulsos (gerador  $\mu\text{s}$  e gerador  $\text{ms}$ ), cujo princípio de funcionamento é o mesmo, diferenciando-se em intensidade de campo magnético e largura de pulso. Além disso, no sistema de porta-amostras vertical a bobina de fio de cobre fica sobre o tubo onde as NPMs são colocadas, no sistema de porta-amostras unilateral com eletroímã o fio de cobre é enrolado em volta de um material magnético para ampliar e concentrar a intensidade do campo magnético na região próxima às NPMs. Estes geradores de pulsos e os porta-amostras são utilizados em conjunto para deslocar as NPMs, cujo deslocamento é observado através de microscopia confocal. Duas NPMs foram testadas, uma com raio hidrodinâmico médio de 50 nm e outra de 200 nm e com revestimento fluorescente.

As simulações magnéticas são necessárias para verificar se o deslocamento que foi observado por microscopia é similar ao deslocamento calculado na teoria. Além disso, as simulações são utilizadas também para verificar o comportamento do gerador de pulsos e o deslocamento das NPMs com a variação da corrente.

## 4 RESULTADOS

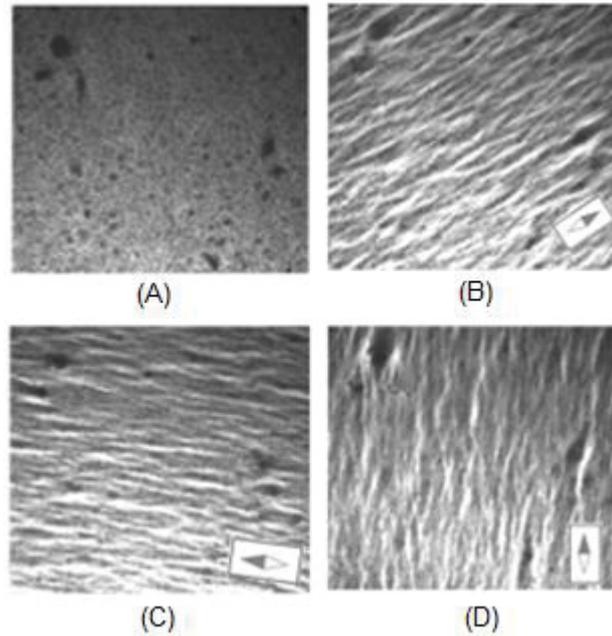
Além do estudo bibliográfico sobre as NPMs e campos magnéticos pulsados, foram efetuadas análises através de microscopia confocal do comportamento de NPMs sob a presença de campos magnéticos e estudo da metodologia de captação das nanopartículas pelas células cancerosas. Foram realizadas simulações computacionais para o cálculo da distância percorrida pelas nanopartículas.

### 4.1 RESULTADOS DA VISUALIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Amostras dos dois tipos disponíveis de nanopartículas foram colocadas sob a lente do microscópio, em seguida foi visualizado o seu aspecto antes e após a aproximação de um campo magnético estático (ímã). Não foi observada nenhuma diferença na NPM fluidMAG com a aproximação do ímã, isto porque, após contatar o fornecedor da nanopartícula (Chemicell), soube-se que estes ferrofluidos não são separáveis por um campo magnético externo porque possuem uma barreira de energia que impede o alinhamento do momento em direção ao campo. Estas substâncias são fluidos magnéticos reais, e o isolamento magnético só é possível com um separador magnético de alto gradiente, o que é caro e consome tempo. Portanto, a Chemicell recomenda o uso de nanopartículas magnéticas com tamanho mínimo de 100 nm, que se tornam descontínuos pela aplicação de um campo magnético externo (separador magnético). Assim, um isolamento magnético rápido e fácil das nanopartículas é possível através da simples aplicação de um campo magnético externo (CHEMICELL, 2018).

Em contrapartida, a nano-screenMAG (diâmetro de 200 nm), com a aproximação do ímã, apresentou um alinhamento no mesmo sentido das linhas de campo magnético, conforme FIGURA 24 .

FIGURA 24 – NANOPARTÍCULA MAGNÉTICA DE 200 NM  
(A – No estado natural, B – C – D – Quando próxima de um ímã)

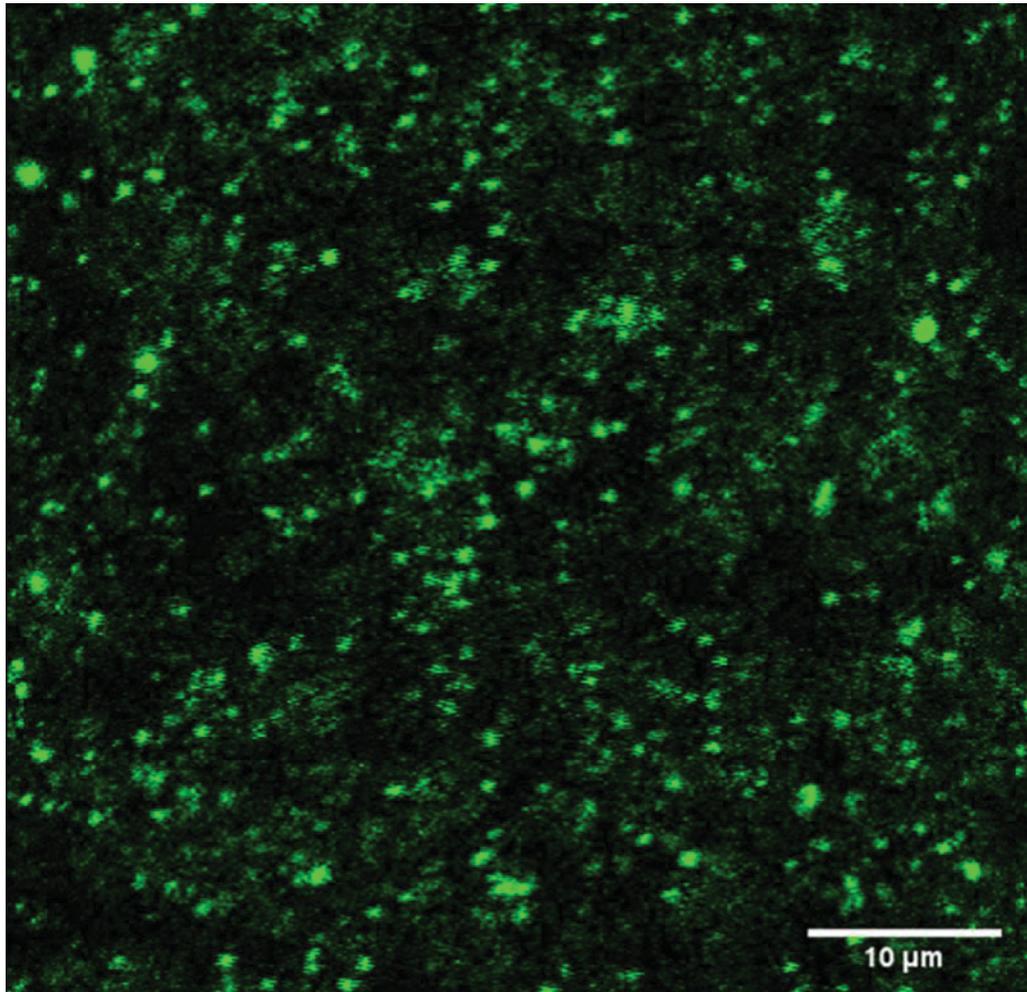


FONTE: A autora, 2018.

A partir de então, somente a nanopartícula de 200 nm foi utilizada neste trabalho. Constatou-se a fluorescência da nanopartícula considerando excitação em um comprimento de onda de 488 nm e a faixa de detecção entre 500 nm e 550 nm.

A FIGURA 25 representa o observado no microscópio confocal utilizando a amostra da nanopartícula magnética de 200 nm de diâmetro; os pontos fluorescentes em verde são as nanopartículas.

FIGURA 25 – OBSERVAÇÃO ATRAVÉS DE MICROSCOPIA CONFOCAL DA FLUORESCÊNCIA NA COR VERDE DA NANOPARTÍCULA MAGNÉTICA



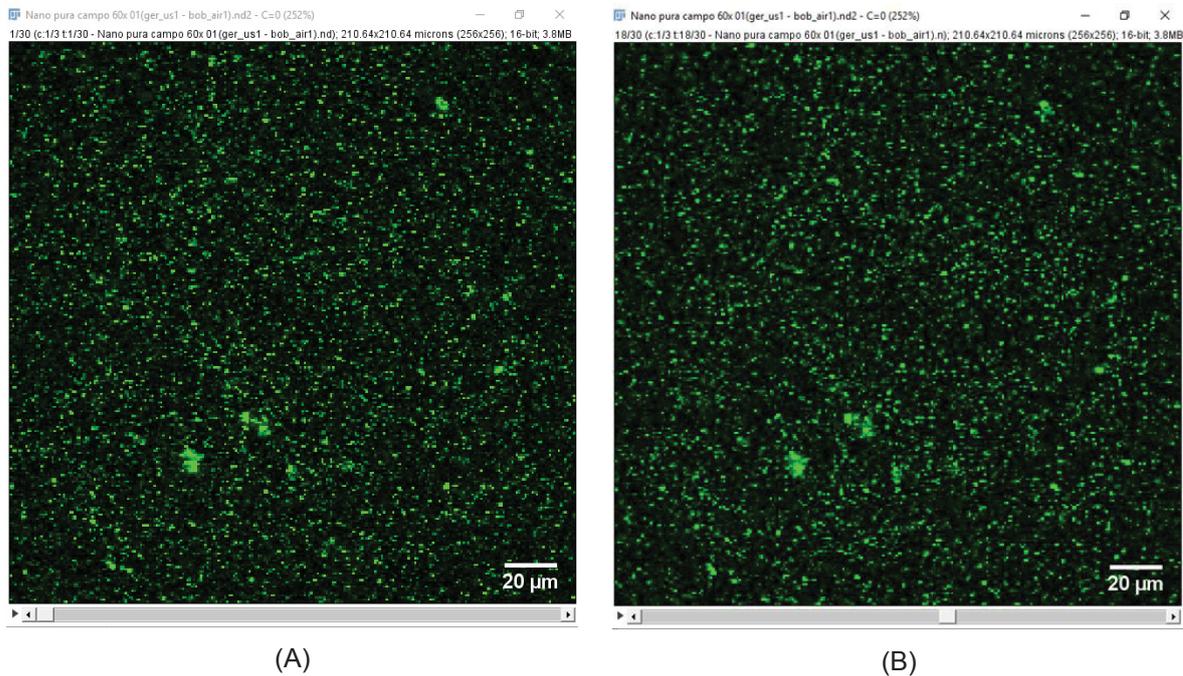
FONTE: A autora (2019).

#### 4.2 RESULTADOS DOS PORTA-AMOSTRAS E GERADORES DE PULSO

A utilização do porta-amostras vertical combinado ao gerador de pulsos  $\mu\text{s}$  não apresentou resultado satisfatório em termos de movimento da nanopartícula. O campo magnético dentro da bobina é intenso e uniforme, porém o gradiente é pequeno, fazendo com que exista uma movimentação muito pequena e apenas na vertical, dificultando a visualização pelo microscópio confocal. Pela comparação da FIGURA 26 (A) e FIGURA 26 (B), que são capturas de tela do vídeo gerado pelo Fiji em diferentes instantes, percebe-se que não houve movimentação das nanopartículas após o funcionamento do gerador de pulsos  $\mu\text{s}$ .

FIGURA 26 – COMBINAÇÃO DO GERADOR DE PULSOS  $\mu\text{s}$  COM O PORTA-AMOSTRAS VERTICAL

(A – Antes da aplicação do pulso, B – Após a aplicação do pulso)



FONTE: A autora (2019).

Devido à tentativa anterior frustrada, desenvolveu-se o segundo gerador de pulsos, denominado gerador ms (o tempo de aplicação do pulso passou da ordem de  $\mu\text{s}$  para ms), bem como a utilização de um porta-amostras unilateral com eletroímã, conforme mostrado nas seções 3.1 e 3.2, respectivamente. A FIGURA 27 (A) e a FIGURA 27 (B), que são imagens capturadas pela reprodução de vídeo pelo Fiji, representam a disposição das NPMs antes e após a aplicação do campo magnético pulsado. Nestas condições, foi possível perceber movimentação das NPMs em direção ao campo magnético aplicado (à esquerda da FIGURA 27 (A) e FIGURA 27 (B)).

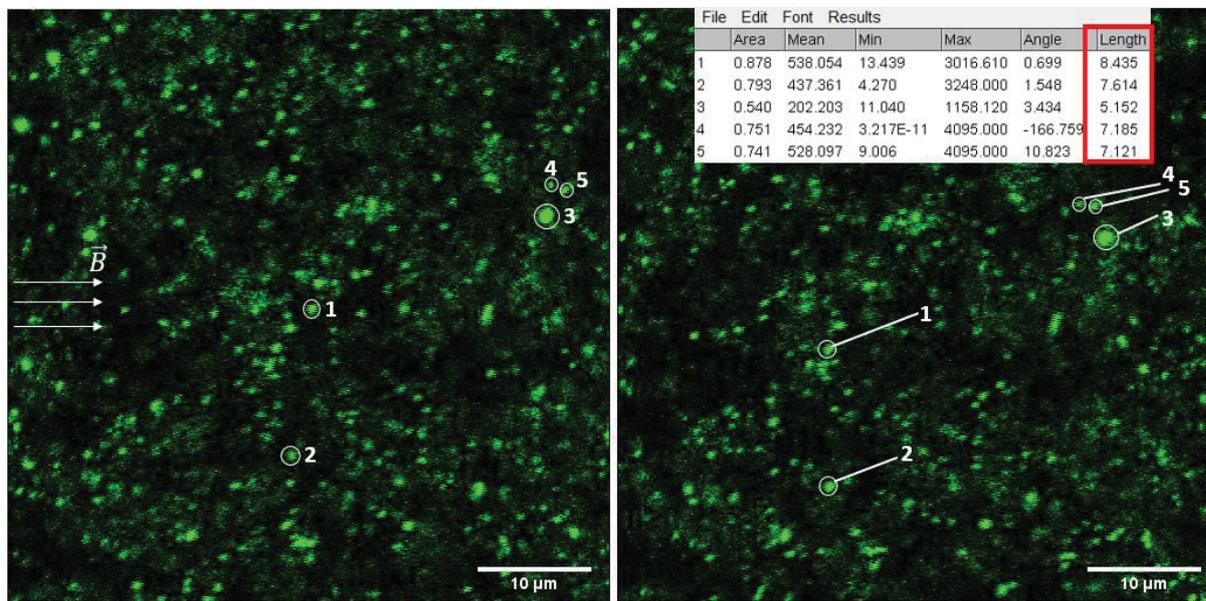
Conforme mostrado na FIGURA 27 (A) e FIGURA 27 (B), para medir a distância percorrida devido à aplicação de um pulso, traçou-se uma linha na posição inicial de cinco NPMs escolhidas aleatoriamente, até a posição que elas ocupavam logo após o pulso. Em seguida, foi medido o comprimento das linhas, que equivalem ao deslocamento de cada NPM.

Conforme resultados mostrados na TABELA 2, as NPMs moveram-se em média  $7,1 \mu\text{m}$ . As NPMs 1 e 2, que estavam mais próximas do eletroímã, apresentaram deslocamento similar entre si e maior do que as NPMs 3, 4 e 5, que

estavam mais distantes do eletroímã. Apesar das NPMs 4 e 5 estarem praticamente à mesma distância do gerador de pulsos que a NPM 3, a última apresentou deslocamento inferior as demais devido ao seu volume ser superior as outras. Isto denota que a Equação 10 pode não ser aplicável em situações de forças magnéticas elevadas e de curta duração, visto que nela o deslocamento da NPM é diretamente proporcional ao raio ao quadrado da NPM, e o resultado experimental mostrou que a NPM com maior raio foi a que teve menor deslocamento.

FIGURA 27 – DISTÂNCIA PERCORRIDA PELAS NANOPARTÍCULAS AO UTILIZAR O GERADOR DE PULSOS ms E O PORTA-AMOSTRAS UNILATERAL COM ELETROÍMÃ

(A – Sem aplicação do pulso, B – Após a aplicação de um pulso)



(A)

(B)

FONTE: A autora (2019).

TABELA 2 – CÁLCULO DO DESLOCAMENTO DAS NPMs

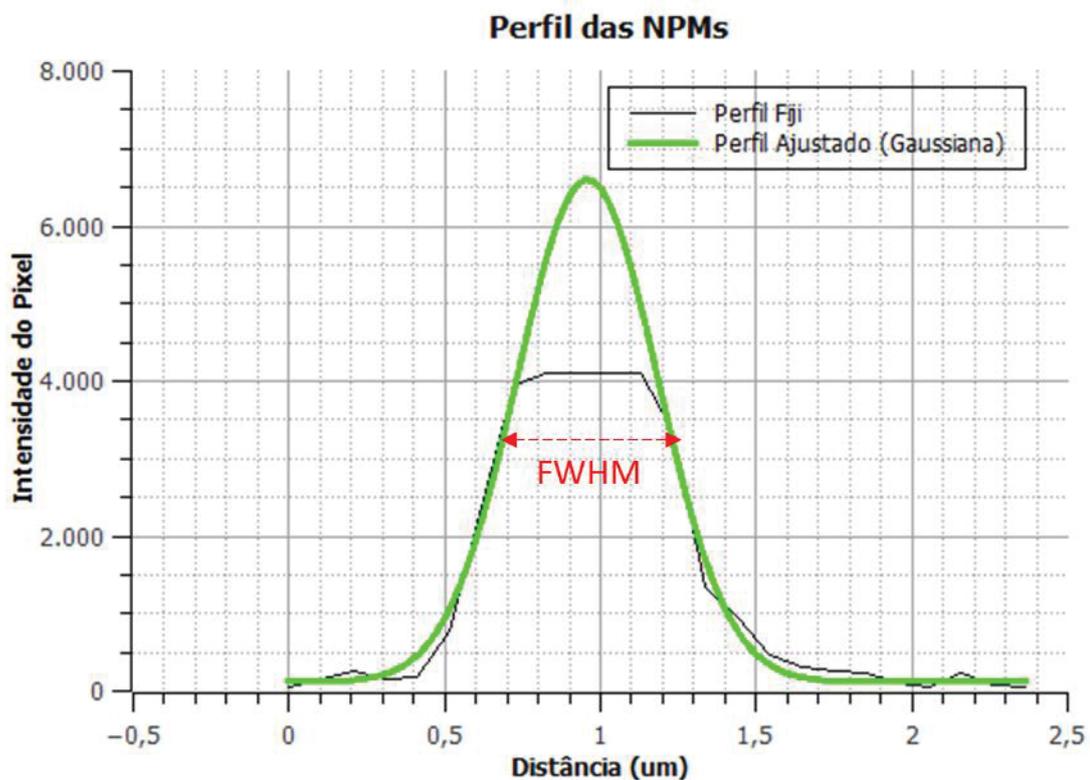
NPM	Deslocamento
1	8,43 $\mu\text{m}$
2	7,61 $\mu\text{m}$
3	5,15 $\mu\text{m}$
4	7,18 $\mu\text{m}$
5	7,12 $\mu\text{m}$
<b>Média</b>	7,1 $\mu\text{m}$
<b>Desvio Padrão</b>	1,1 $\mu\text{m}$

FONTE: A autora (2019).

Com o intuito de medir o diâmetro da NPM, obtiveram-se os dados de perfil da NPM identificada como 1 na FIGURA 27 através do Fiji, que foram ajustados a uma

gaussiana, conforme FIGURA 28, já que os dados do Fiji estavam saturados devido ao ajuste de contraste. Com isso, o valor à meia altura da gaussiana (*Full width at half maximum* - FWHM) é de  $0,556 \mu\text{m}$ , que corresponde ao diâmetro da NPM. As partículas magnéticas podem ser agregadas sob a ação de interações magnéticas entre partículas, podendo ser esta a razão de o valor medido ( $0,556 \mu\text{m}$ ) estar maior do que o especificado ( $200 \text{ nm}$ ) (BANERJEE et. al, 2012; CAO et al. 2016).

FIGURA 28 – PERFIL DAS NPMS



FONTE: A autora (2019).

### 4.3 RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES MAGNÉTICAS

#### 4.3.1 Comparação entre as Simulações Magnéticas e os Resultados Práticos

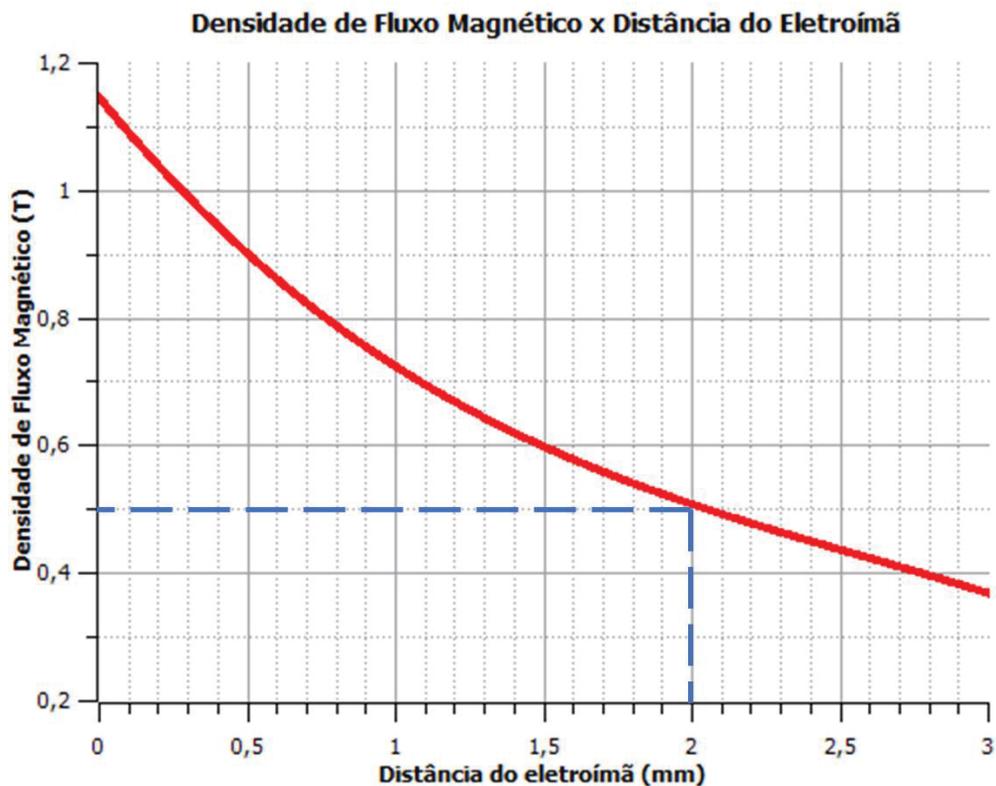
As simulações magnéticas apresentadas a seguir permitiram um melhor entendimento da distribuição de campo dentro do tubo onde estão localizadas as NPMS, bem como da intensidade de campo magnético e seu gradiente espacial. De posse destas informações, é possível estimar teoricamente os deslocamentos sofridos

pelas NPMs após aplicação dos pulsos de campo em diversos cenários, o que facilita o processo de otimização do sistema como um todo e analisa suas limitações.

As simulações foram feitas considerando uma distância entre as amostras e o eletroímã de até 3 mm, conforme ilustrado na FIGURA 23.

A FIGURA 29 apresenta a variação da densidade de fluxo magnético ao longo da distância em relação ao eletroímã. Como pode ser visto na FIGURA 12, considerando uma corrente de pico de 55 A que é atingida 0,2 ms após o início do pulso, o valor de pico da densidade de fluxo magnético medido a 2 mm de distância do eletroímã é de aproximadamente 0,55 T. Valor similar foi obtido com a simulação, conforme pode ser visto na FIGURA 29, em que a 2 mm de distância o valor da densidade de fluxo magnético é de aproximadamente 0,5 T.

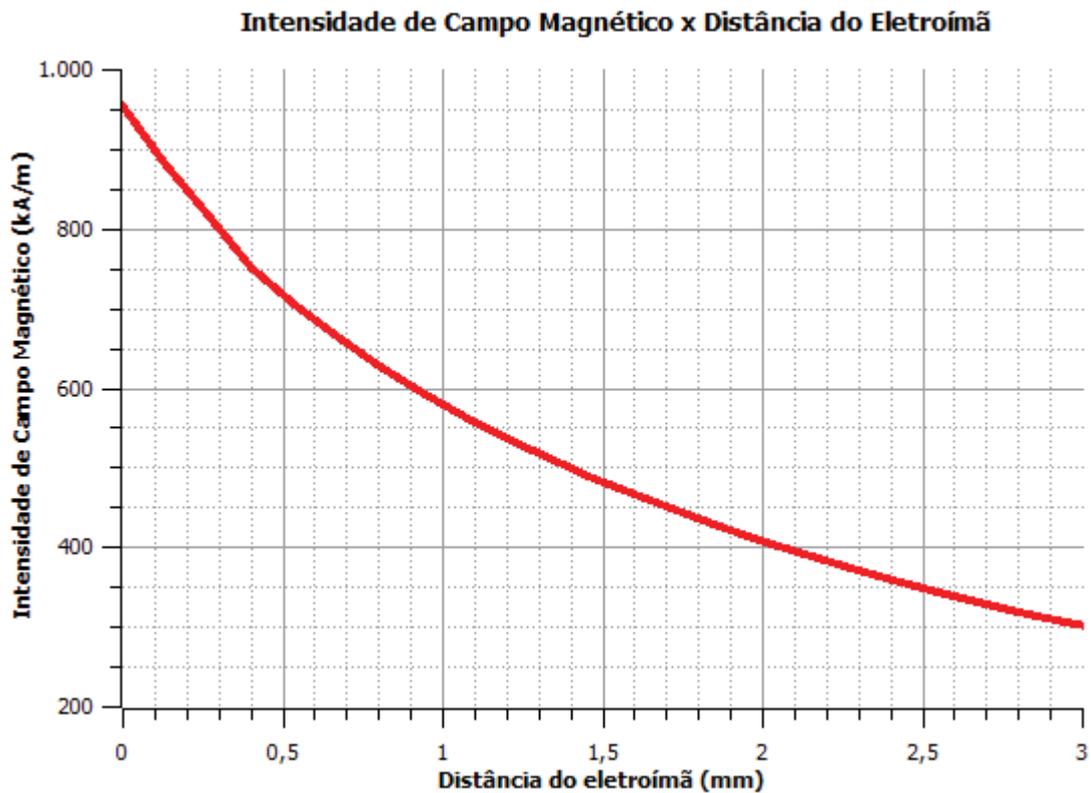
FIGURA 29 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA DENSIDADE DE FLUXO MAGNÉTICA AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A



FONTE: A autora (2019).

A FIGURA 30 representa o resultado da simulação da intensidade de campo magnético ao longo da distância em relação ao eletroímã, considerando uma corrente de pico de 55 A, que é atingida 0,2 ms após o início do pulso (vide FIGURA 12).

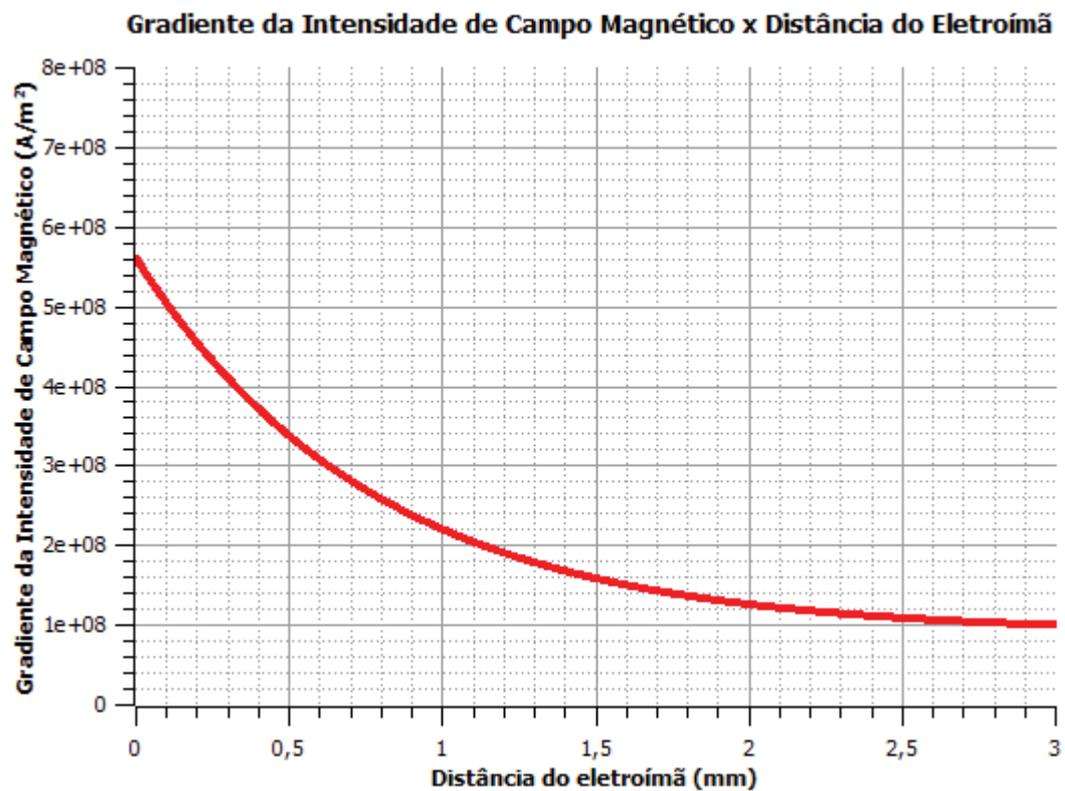
FIGURA 30 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A



FONTE: A autora (2019).

Com os valores da intensidade de campo magnético em função da distância, é possível calcular o gradiente da intensidade de campo magnético, conforme FIGURA 31.

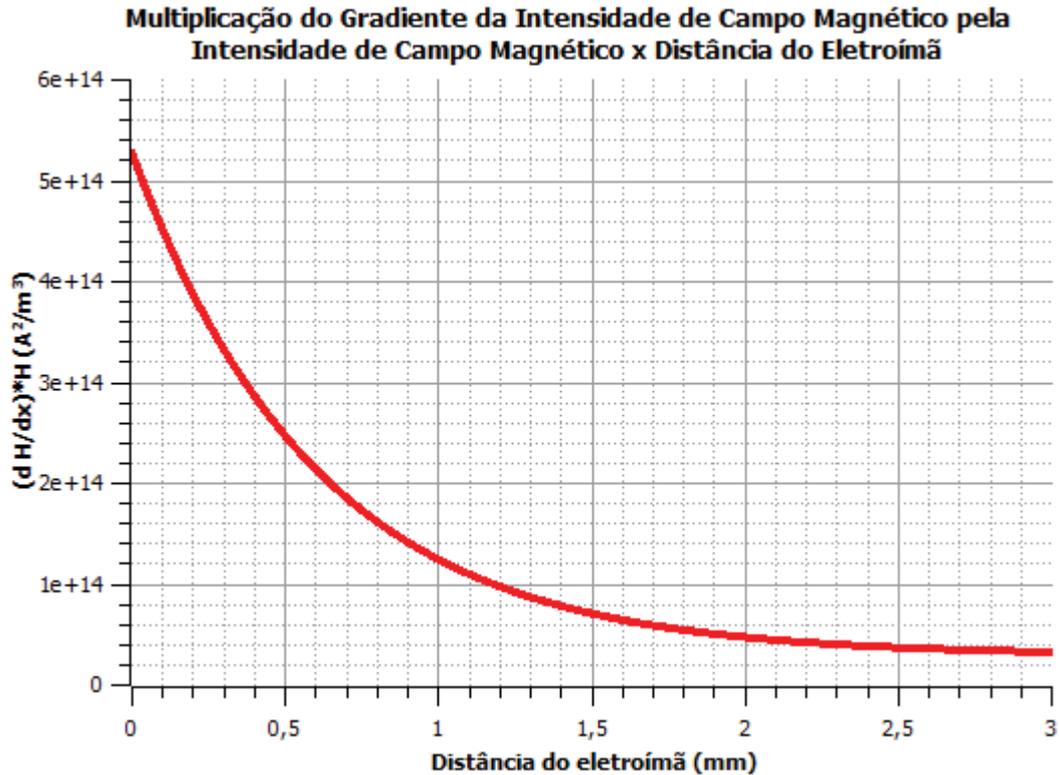
FIGURA 31 – RESULTADO DO GRADIENTE DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A



FONTE: A autora (2019).

A FIGURA 32 representa o resultado da operação  $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$ , que é uma grandeza diretamente proporcional à força magnética sofrida pelas NPMs.

FIGURA 32 – RESULTADO DE  $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$  AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A



FONTE: A autora (2019).

Levando em consideração os resultados da simulação do gradiente do campo multiplicado pelo campo (FIGURA 32), sabendo-se que a susceptibilidade do Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> é 1,17, o raio da NPM é 0,278 μm, a viscosidade da água é de 10<sup>-3</sup> N.s/m<sup>2</sup> e o tempo de aplicação do pulso é de 1 ms, é possível calcular o deslocamento teórico percorrido pelas NPMs através da Equação 10. Por exemplo, considerando que as NPMs estejam na metade do tubo, ou seja, a 2 mm de distância do eletroímã, tem-se que:

$$s(t) = \frac{\mu_0 V_m \chi (\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a}{6\pi\eta r_p} t = \frac{4 \cdot \pi \cdot 10^{-7} \cdot \left(\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (0,278 \cdot 10^{-6})^3\right) \cdot 1,17 \cdot 5,12 \cdot 10^{13}}{6 \cdot \pi \cdot 10^{-3} \cdot 0,278 \cdot 10^{-6}} \cdot 10^{-3}$$

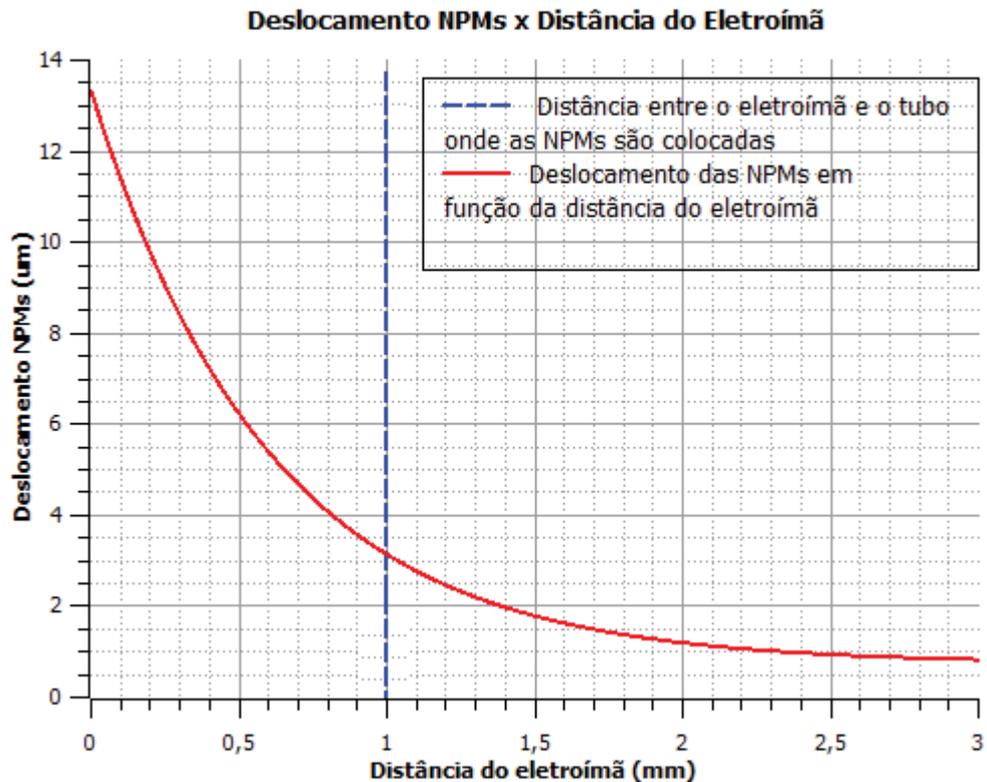
$$s(t) = 1,29 \mu\text{m}$$

Ou seja, a 2 mm de distância do eletroímã o cálculo do deslocamento das NPMs resulta em um valor de 1,29 μm.

A FIGURA 33 mostra o resultado do cálculo do deslocamento das NPMs ao longo da distância em relação ao eletroímã. É notável que o deslocamento máximo

das NPMs no interior do tubo do porta-amostras, localizado entre 1 mm e 3 mm de distância do eletroímã conforme FIGURA 23, ocorre quando estas estão mais próximas do eletroímã, ou seja, a 1 mm de distância do eletroímã, apresentando um deslocamento teórico de aproximadamente de 3  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 33 – DESLOCAMENTO DAS NPMs AO LONGO DA DISTÂNCIA EM RELAÇÃO AO ELETROÍMÃ, CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE PICO DE 55 A



FONTE: A autora (2019).

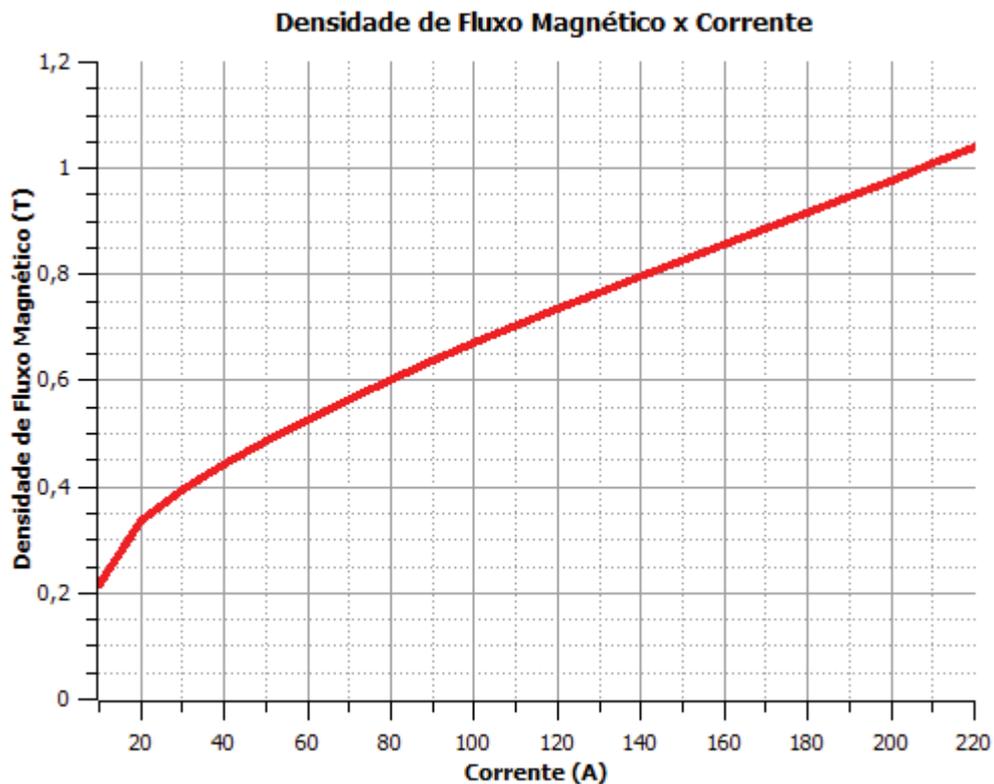
O deslocamento calculado de 1,29  $\mu\text{m}$  a 2 mm de distância do eletroímã possui a mesma ordem de grandeza do deslocamento observado nos ensaios, porém é bem inferior ao mesmo, que conforme TABELA 2, é em média 7,1  $\mu\text{m}$ . Esta diferença nos valores teórico e experimental, deve-se ao fato das equações encontradas na literatura serem mais apropriadas a situações de pequenas forças e longa duração, o que difere substancialmente da situação do presente trabalho.

#### 4.3.2 Simulações Relacionadas a Variação de Corrente do Gerador de Pulsos

Com o intuito de verificar o desempenho no deslocamento das NPMs ao variar a corrente no gerador de pulsos, foram simulados os valores de intensidade de campo magnético bem como de densidade de fluxo magnético com valores de correntes diferentes, e posteriormente calculado o valor do deslocamento para cada cenário.

Foi feita uma simulação da densidade de fluxo magnético a uma distância de 2 mm do eletroímã, ou seja, no meio do tubo onde as NPMs são colocadas, com 22 valores de corrente diferentes. A FIGURA 34 mostra que não há uma relação linear entre a densidade de fluxo magnético e a corrente, devido à saturação do núcleo magnético.

FIGURA 34 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA DENSIDADE DE FLUXO MAGNÉTICO EM FUNÇÃO DA CORRENTE A 2 MM DE DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ

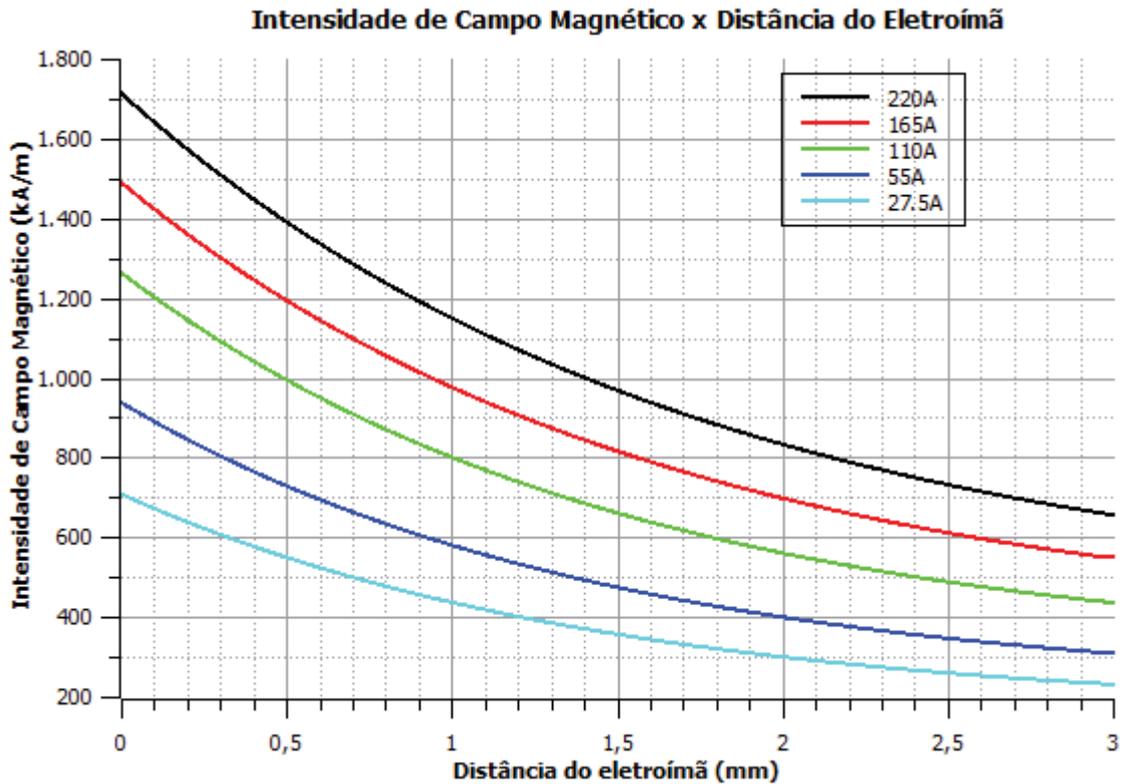


FONTE: A autora (2019).

Para calcular o deslocamento das NPMs, foram selecionados 5 valores de corrente e a FIGURA 35 representa o resultado da simulação dos valores de

intensidade de campo magnético correspondentes a estes valores de corrente do gerador de pulsos.

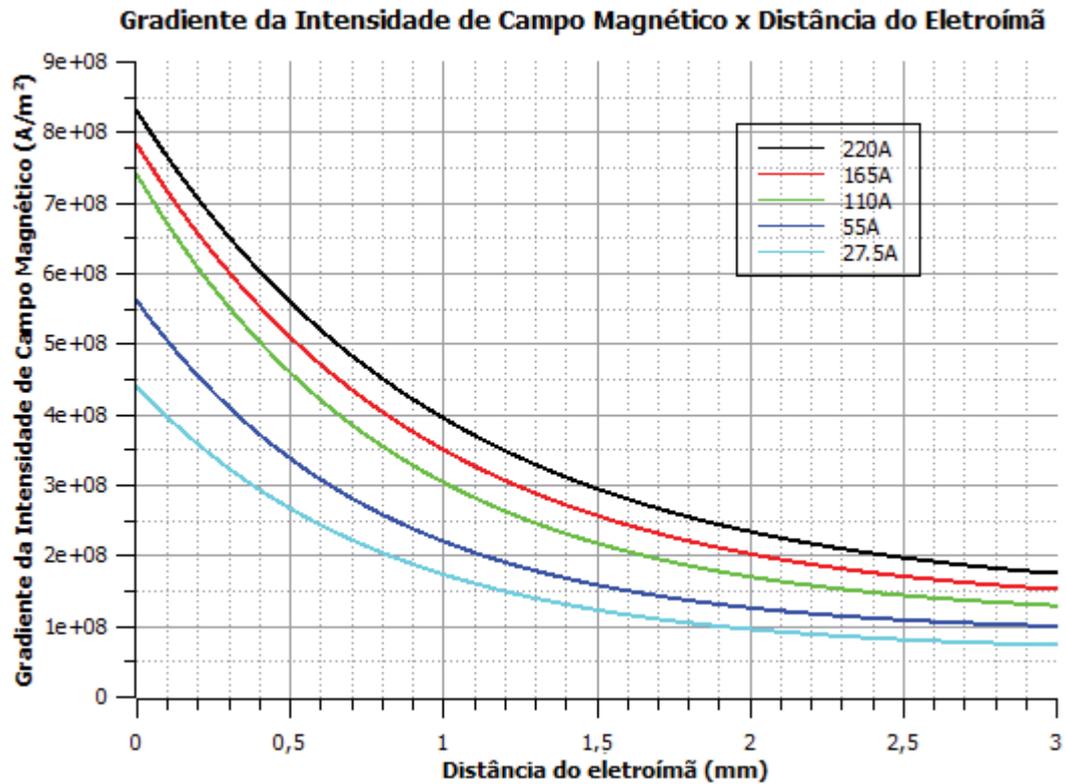
FIGURA 35 – RESULTADO DA SIMULAÇÃO DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO COM VALORES DE CORRENTE DIFERENTES



FONTE: A autora (2019).

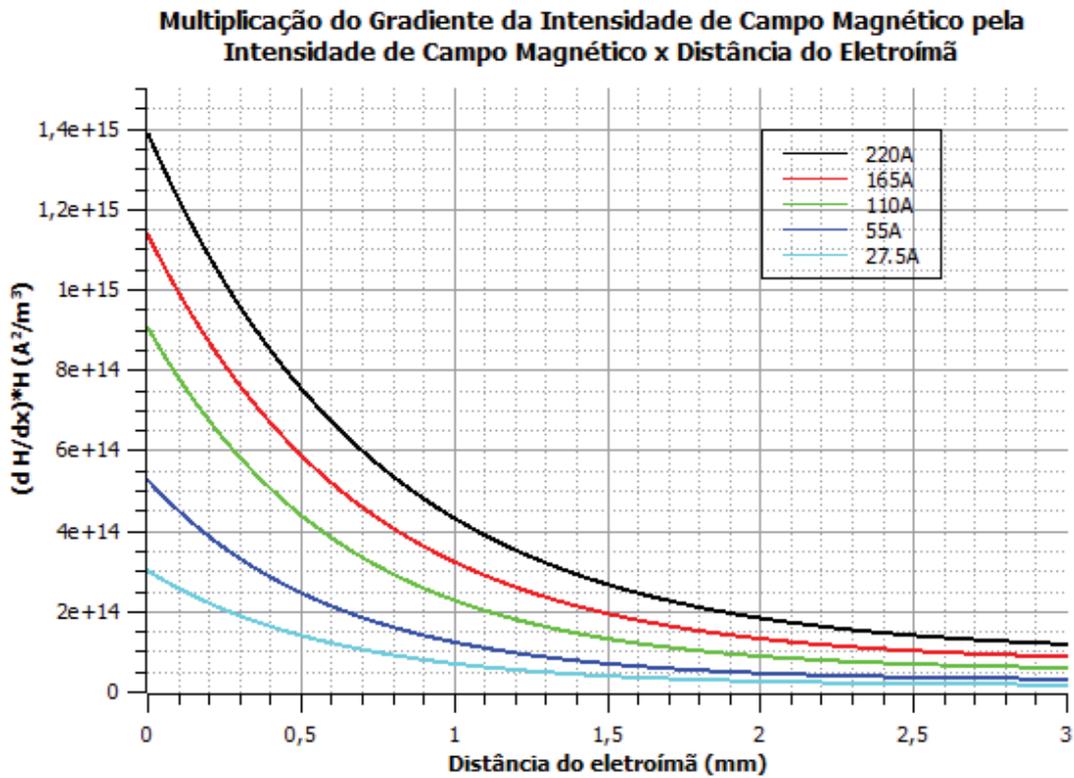
Com os valores da intensidade de campo magnético é possível calcular os valores do gradiente da intensidade de campo magnético, conforme FIGURA 36.

FIGURA 36 – RESULTADO DO GRADIENTE DA INTENSIDADE DE CAMPO MAGNÉTICO COM VALORES DE CORRENTE DIFERENTES



FONTE: A autora (2019).

A FIGURA 37 representa o resultado da operação  $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$  de acordo com os valores de corrente.

FIGURA 37 – RESULTADO DE  $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$  EM FUNÇÃO DA DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ

FONTE: A autora (2019).

Por meio destes valores de  $(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$  é possível utilizar a Equação 10 para calcular o valor do deslocamento das NPMs quando estas estão localizadas, por exemplo, a 2 mm de distância do eletroímã, considerando o tempo de aplicação de pulso de 1 ms.

Além disso, baseando-se no resultado considerando uma corrente de pico de 55 A, em que o deslocamento calculado a 2 mm de distância do eletroímã foi de 1,29  $\mu\text{m}$  e o experimental foi de 8,43  $\mu\text{m}$ , foi feita uma extrapolação linear de qual seria um possível deslocamento observado na prática para cada valor de corrente, conforme mostrado na TABELA 3.

TABELA 3 – RESULTADOS DO CÁLCULO DO DESLOCAMENTO DAS NPMs A 2 mm DE DISTÂNCIA DO ELETROÍMÃ

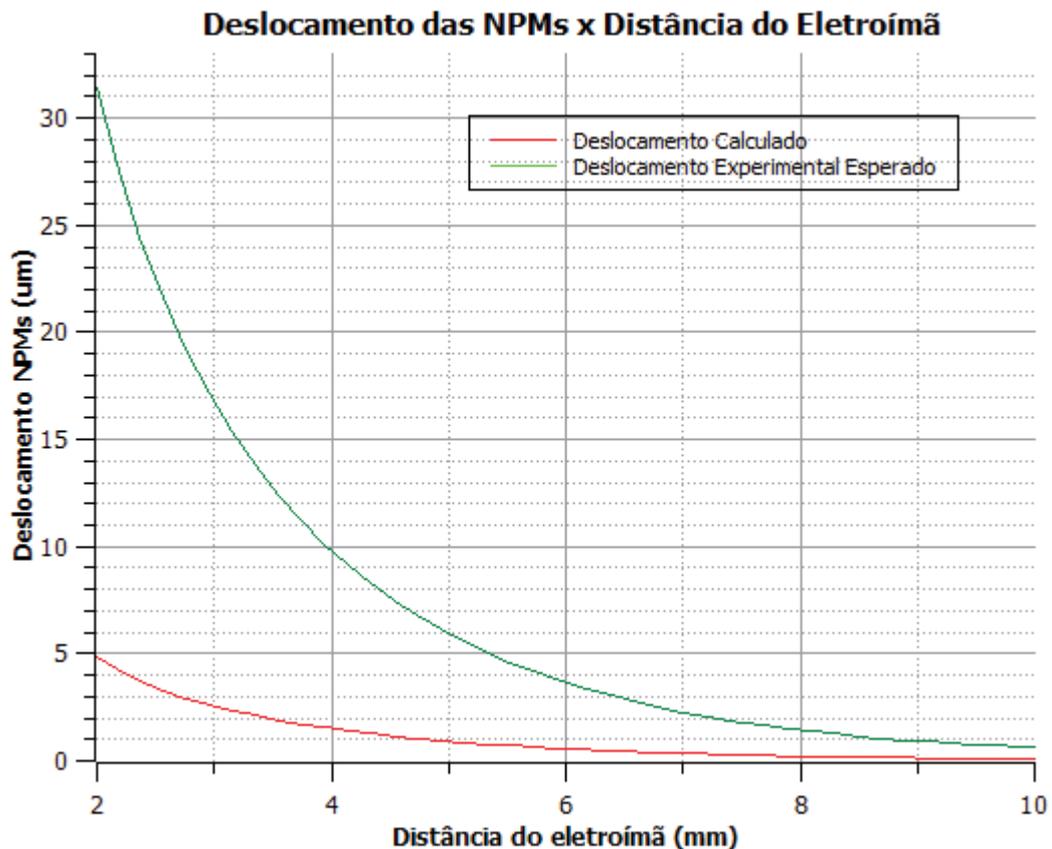
Corrente (A)	$(\nabla \vec{H}_a) \vec{H}_a$ (A <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> )	Deslocamento Calculado da NPM (µm)	Deslocamento Experimental Esperado da NPM (µm)
27,5	2,92. 10 <sup>13</sup>	0,738	4,85
55	5,12. 10 <sup>13</sup>	1,29	8,43
110	9,60. 10 <sup>13</sup>	2,43	15,95
165	1,41. 10 <sup>14</sup>	3,57	23,44
220	1,94. 10 <sup>14</sup>	4,91	32,23

FONTE: A autora (2019).

Conforme resultados da TABELA 3, é possível afirmar que quanto maior o valor da corrente, maior será o gradiente da intensidade de campo magnético bem como a própria intensidade de campo magnético e, portanto, maior o deslocamento das NPMs. Além disso, os resultados do deslocamento calculado (terceira coluna da TABELA 3) corroboram os resultados da TABELA 1: a última mostra que para uma largura de pulso de 1 ms, o gradiente da intensidade de campo magnético multiplicado pela intensidade de campo magnético deve ser de no mínimo 2,18.10<sup>14</sup> A<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> para que a NPM apresente um deslocamento de 10 µm. Segundo a TABELA 3, nenhum valor de corrente cumpre esse requisito. No entanto, o cálculo do deslocamento experimental esperado mostra que com um valor de corrente de 110 A a NPM já se deslocaria acima de 10 µm.

Utilizando os valores de intensidade de campo magnético simulados quando utilizada corrente de 220 A, foi analisada a eficiência do pulso de campo em função da distância entre a nanopartícula e o eletroímã. De acordo com os resultados ilustrados na FIGURA 38, é possível notar que, para que as NPMs tenham um deslocamento mínimo de 1 µm, é necessário que estas estejam a uma distância máxima de cerca de 5 mm do eletroímã, isto levando em consideração o deslocamento calculado utilizando a Equação 10. Levando em conta o cálculo do deslocamento experimental esperado, as NPMs deveriam estar a uma distância de aproximadamente no máximo 9 mm do eletroímã para que estas desloquem-se no mínimo 1 µm. Por isso, a técnica proposta neste trabalho é indicada ao tratamento contra o câncer de pele, e não a algum tipo de câncer com maior profundidade no organismo.

FIGURA 38 – DESLOCAMENTO DAS NPMS EM FUNÇÃO DA DISTÂNCIA DO ELETRÓIMÃ CONSIDERANDO UMA CORRENTE DE 220 A

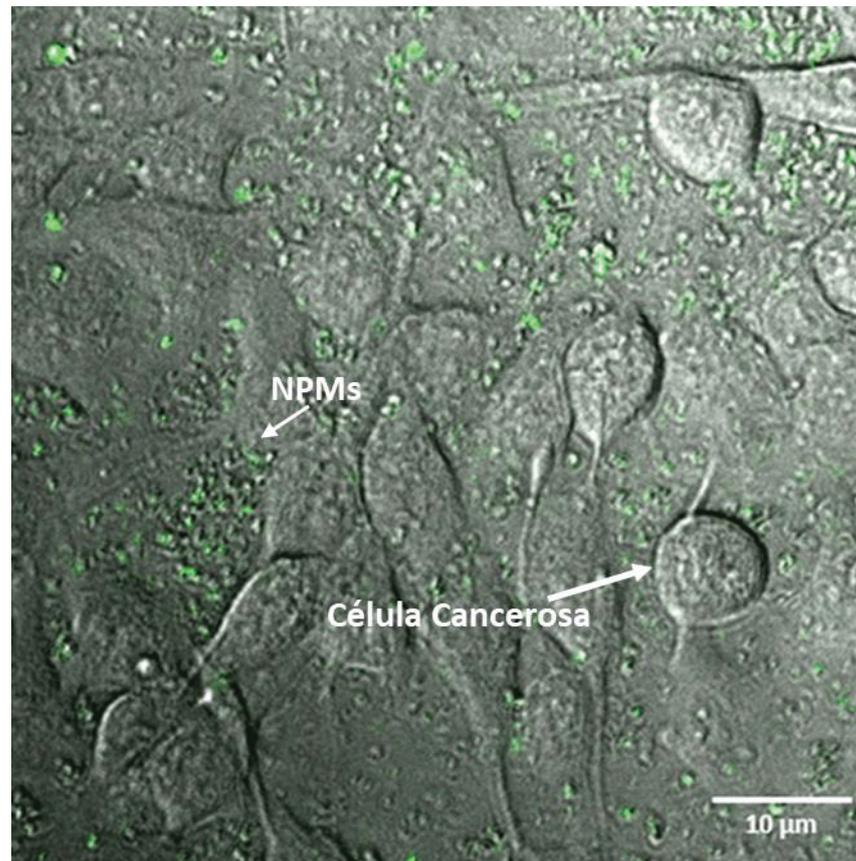


FONTE: A autora (2019).

#### 4.4 RESULTADOS DA INTERNALIZAÇÃO DAS NPMS PELAS CÉLULAS CANCEROSAS

O cultivo das células cancerosas, bem como a tentativa de introdução das nanopartículas juntamente às células foram desenvolvidos pelos doutorandos da área de biológicas Gustavo Rossi e João Luiz Aldinucci Buzzo. Foram utilizadas células de linhagem de melanoma murino B16-F10 (câncer de pele). Na FIGURA 39 é possível diferenciar as células das nanopartículas, visto que as últimas apresentam fluorescência na cor verde, ou seja, os pontos verdes são as nanopartículas. No mesmo plano confocal, é possível observar as células cancerosas (formas redondas). Porém, aparentemente, não há internalização das nanopartículas nas células.

FIGURA 39 – TENTATIVA DE INTERNALIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS PELAS CÉLULAS B16-F10



FONTE: A autora (2019).

Em seguida, foram feitos testes com a utilização do porta-amostras circular representado na FIGURA 15. Primeiramente, é necessário higienizar o meio. Para isto o porta-amostras é imerso em uma solução de água com detergente e colocado no ultrassom por meia hora conforme FIGURA 40 (A) e FIGURA 40 (B) respectivamente. Em seguida, o porta-amostras é colocado em um meio com álcool e passa mais meia hora no ultrassom.

FIGURA 40 – PROCESSO DE LIMPEZA DO PORTA-AMOTRAS

(A – Porta-amstras imerso em solução de água e detergente, B – Porta-amstras no ultrassom)



(A)



(B)

FONTE: A autora (2020).

Na primeira tentativa de limpeza, a lamínula bem como o porta-amstras quebraram, conforme FIGURA 41, provavelmente devido às vibrações mecânicas provocadas pelo ultrassom.

FIGURA 41 – LAMÍNULA E PORTA-AMOTRAS QUEBRADOS APÓS PROCESSO DE LIMPEZA



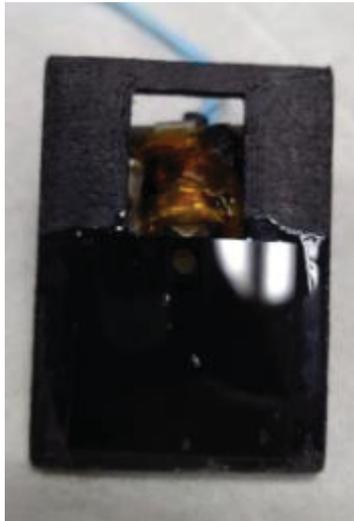
FONTE: A autora (2020).

Por isso, o porta-amstras foi refeito aumentando a área em que a lamínula é colada, conforme pode ser visto na FIGURA 42 (A). Outras melhorias no porta-amstras também foram feitas, tais como a mudança de formato de circular para

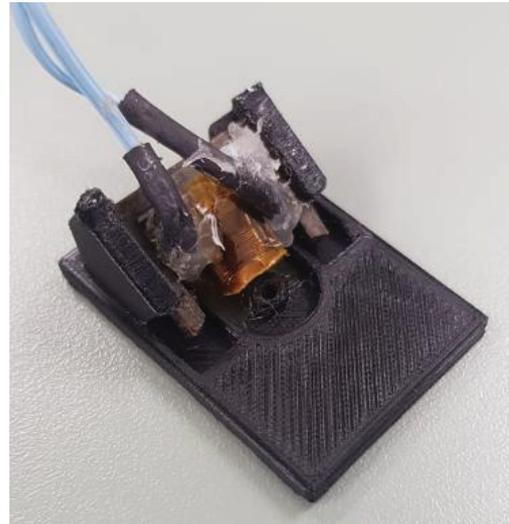
retangular, que se encaixa perfeitamente na área de observação do microscópio confocal e a inclusão de dois encaixes que servem para inserir o eletroímã conforme FIGURA 42 (B), já que no porta-amostras circular o eletroímã era colado. A área do tubo onde as NPMs são colocadas e a distância entre o tubo e o eletroímã não foram alteradas.

FIGURA 42 – PORTA-AMOSTRAS RETANGULAR

(A – Parte inferior do porta-amostras, B – Parte superior do porta-amostras)



(A)



(B)

FONTE: A autora (2020).

Ao fazer o processo de limpeza do porta-amostras da FIGURA 42, este apresentou uma rachadura na lamínula, conforme pode ser visto na FIGURA 43. Apesar disso, foi tentado inserir o cultivo de células no porta-amostras, já que a rachadura não estava na região do tubo onde estas são colocadas. No entanto, como pode ser visto pela FIGURA 43, há o aparecimento de uma coloração roxa nas proximidades do tubo, o que denota que houve o vazamento do material celular.

FIGURA 43 – LAMÍNULA QUEBRADA APÓS O PROCESSO DE LIMPEZA E VAZAMENTO DA CULTURA CELULAR



FONTE: A autora (2020).

A solução contra o vazamento e a rachadura foi utilizar uma quantidade maior de cola entre a lamínula e o porta-amostras, bem como a utilização de cola nas extremidades da lamínula. A FIGURA 44 ilustra o porta-amostras retangular após o processo de limpeza. É possível ver que a cola que havia sido utilizada nas extremidades da lamínula degradou-se devido à limpeza, no entanto, mesmo com essa degradação, a lamínula não quebrou.

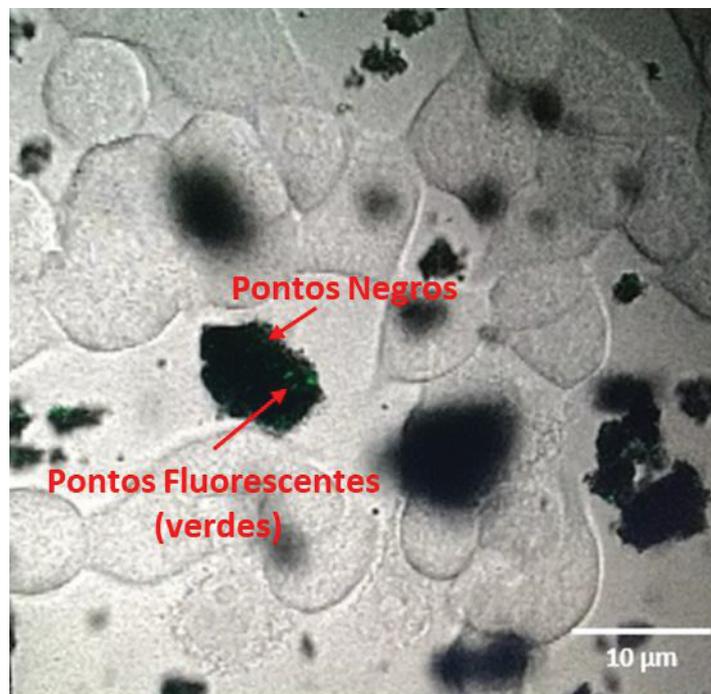
FIGURA 44 – PORTA-AMOSTRAS RETANGULAR APÓS PROCESSO DE LIMPEZA



FONTE: A autora (2020).

Após o processo de limpeza relatado no parágrafo anterior, foi inserida a cultura de células de linhagem melanoma murino B16-F10 (câncer de pele) no tubo do porta-amostras e em seguida as NPMs foram colocadas no mesmo meio. A FIGURA 45 é uma imagem da interface com o microscópio confocal. É possível observar alguns pontos negros e alguns pontos fluorescentes na imagem, porém não foi possível afirmar com certeza o que são estes pontos. Uma das hipóteses é que possam ser partículas de poeira incorporadas à solução em alguma das etapas do processo.

FIGURA 45 – FOTO TIRADA DA INTERFACE DO MICROSCÓPIO CONFOCAL



FONTE: A autora (2020).

O ensaio da FIGURA 45 foi realizado em março de 2020 e é o último ensaio realizado antes da pandemia do COVID-19, que impossibilitou o andamento dos ensaios laboratoriais e, portanto, presenciais. O agendamento para utilização do microscópio confocal é bastante concorrido, pois ele é utilizado para várias pesquisas distintas na UFPR. Sendo assim, mesmo no período que antecedeu a pandemia foi difícil a sua reserva, já que os experimentos são demorados e exigem sempre a presença de técnico e aluno da área biológica. Ao total foram efetuados 15 experimentos no confocal.

#### 4.5 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 4

As observações no microscópio confocal mostraram que a NPM de raio hidrodinâmico de 200 nm é fluorescente na cor verde, por isso esta foi selecionada para utilização neste trabalho em detrimento da NPM de raio hidrodinâmico de 50 nm, pois esta não é fluorescente e nem visível no microscópio confocal. Esta fluorescência é importante tendo em vista que facilita a observação das NPM quando estas estão no mesmo meio das células cancerosas.

O gerador de pulso  $\mu$ s associado ao porta-amostras vertical não resultou em um deslocamento visível no microscópio confocal, visto que apesar de o campo magnético ser intenso no interior da bobina, o gradiente de campo magnético é pequeno. Em contrapartida, o gerador de campo ms associado ao porta-amostras unilateral com eletroímã resultou em um deslocamento médio da nanopartícula de cerca de 7,1  $\mu$ m, com uma corrente de pico de 55 A. Este deslocamento é próximo ao deslocamento calculado por meio das simulações magnéticas e das equações descritas na subseção 2.2.

As simulações e cálculos do deslocamento das NPMs ao se aumentar o valor de corrente do circuito do gerador de pulsos mostrou que não há uma relação linear entre o aumento da corrente e o campo magnético, e por consequência entre o aumento da corrente aplicada e o deslocamento da NPM, devido à saturação do núcleo magnético utilizado. Além disso, foi calculado que, para que a NPM tenha um deslocamento mínimo de 1  $\mu$ m com uma corrente de 220 A, é necessário que as nanopartículas estejam afastadas do núcleo magnético em no máximo 5 mm.

Em relação à interação das NPMs com as células cancerosas, foi possível identificar as NPMs no mesmo plano das células cancerosas devido à fluorescência das NPMs, porém não foi possível visualizar a internalização entre ambas.

## 5 CONCLUSÕES E PERSPETIVAS

### 5.1 CONCLUSÕES

Através do estudo bibliográfico efetuado, é possível concluir que aplicações de nanopartículas magnéticas são promissoras no tratamento contra o câncer. A intenção deste trabalho é o estudo da aplicação de NPMs em células cancerosas, submetendo as NPMs a um campo magnético, que pode gerar um deslocamento das NPMs e, conseqüentemente, causar danos às células indesejadas.

Primeiramente, foi possível identificar através de microscopia confocal que a NPM, cujo raio hidrodinâmico é de 200 nm, possui revestimento na cor verde. Esse aspecto facilita a identificação das NPMs quando estas estão no mesmo meio das células.

Outro aspecto importante é a comprovação de que os resultados de deslocamento na teoria condizem com a prática. As simulações magnéticas bem como as equações descritas neste trabalho e os resultados observados por microscopia confocal convergem para que o deslocamento das NPMs seja na ordem de  $\mu\text{m}$ . Caso o deslocamento da nanopartícula seja suficiente para romper a membrana da célula cancerosa, ocorre a morte da mesma por necrose. Outra possibilidade é este deslocamento ser responsável por ativar mecanismos de defesa da célula, ocasionando morte da mesma por apoptose.

Até a apresentação deste trabalho não foi possível identificar a internalização da NPM na célula cancerosa, no entanto, foi possível observar, graças à fluorescência da NPM, que tanto a célula quanto a NPM estão no mesmo plano do microscópio confocal.

### 5.2 PERSPECTIVAS E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

A perspectiva é a possível internalização das NPMs nas células cancerosas. Após isto, poderá ser observado o comportamento da célula cancerosa frente ao deslocamento da NPM devido à aplicação do campo magnético. Este mesmo princípio

poderá ser aplicado a células saudáveis do organismo, com o intuito de verificar o efeito do movimento de NPMs em tais células.

Outro aspecto que poderá ser analisado em trabalhos futuros é uma análise estatística do movimento das NPMs ao serem submetidas a um campo magnético, tais como média e desvio padrão.

### 5.3 PUBLICAÇÕES RELACIONADAS COM ESTE TRABALHO DE PESQUISA

- CHAVES, A.P.V. et al. Study of Magnetic Nanoparticles Under Pulsed Magnetic Fields Applied in Cancer Treatment. **IEEE Latin American Transactions**, 2020. **(Em revisão)**.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, A. et al. Coating Nanomagnetic Particles for Biomedical Applications. **Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges**, 2011.

BANERJEE, U. et al. Aggregation dynamics of particles in a microchannel due to an applied magnetic field. **Microfluidics and Nanofluidics**, 2012.

BOYLESTAD, R. L. **Análise de Circuitos**. 12 ed. São Paulo: Pearson, 2012.

CALLISTER, JR., WILLIAM D. **Ciência e Engenharia dos Materiais: Uma Introdução**. 5 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

CAO, Q. et al. Targeting behavior of magnetic particles under gradient magnetic fields produced by two types of permanent magnets. **IEEE Transactions on Applied Superconductivity**, 2016.

CETAS, T. C.; GROSS, E. J.; CONTRACTOR, Y. A ferrite core/metallic sheath thermoseed for interstitial thermal therapies. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 45, n. 1, p. 68–77, 1998.

Chemicell. Disponível em: < <http://www.chemicell.com/home/index.html> >. Acesso em: 18 de novembro de 2018.

COSTA, R. P. **Gerador de Campos Magnéticos Pulsados de Alta Intensidade Utilizando Topologia Flyback**. 72f. Trabalho de Graduação (Bacharelado em Engenharia Elétrica) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

COWBURN, R. P. et al. Single-domain circular nanomagnets. **Physical Review Letters**, v. 83, n. 5, p. 1042–1045, 1999.

DOBSON, J. Magnetic micro- and nano-particle-based targeting for drug and gene delivery. **Nanomedicine**, 2006.

DOBSON, J. Magnetic nanoparticles for drug delivery Drug. **Development Research**, 2006.

DUAN, H. et al. Reexamining the effects of particle size and surface chemistry on the magnetic properties of iron oxide nanocrystals: New insights into spin disorder and proton relaxivity. **Journal of Physical Chemistry C**, 2008.

ELMORE, S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. **Toxicologic Pathology**, 2007.

FINK, S. L.; COOKSON, B. T. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: Mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. **Infection and Immunity**, 2005.

GETZLAFF, M. **Fundamentals of magnetism**. Alemanha: Springer Science & Business Media, 2007.

GUBIN, S. P. **Magnetic Nanoparticles**, 2009.

GUBIN, S. P. et al. Magnetic nanoparticles: Preparation, structure and properties. **Uspekhi Khimii**, v. 74, n. 6, p. 539–574, 2005.

HAVERKORT, J. W.; KENJEREŠ, S.; KLEIJN, C. R. Magnetic particle motion in a Poiseuille flow. **Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics**, 2009.

HERGT, R. et al. Magnetic particle hyperthermia: Nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. **Journal of Physics Condensed Matter**, 2006.

LEE, H. Y.; WU, B. K.; CHERN, M. Y. Schottky photodiode fabricated from hydrogen-peroxide-treated ZnO nanowires. **Applied Physics Express**, 2013.

LEMINE, O. M. Magnetic Hyperthermia Therapy Using Hybrid Magnetic Nanostructures. **Hybrid Nanostructures for Cancer Theranostics**, 2019.

LU, A. H.; SALABAS, E. L.; SCHÜTH, F. Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application. **Angewandte Chemie - International Edition**, 2007.

MAIER-HAUFF, K. et al. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: Results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. **Journal of Neuro-Oncology**, 2007.

YIGIT, M. V.; MOORE, A.; MEDAROVA, Z. Magnetic nanoparticles for cancer diagnosis and therapy. **Pharmaceutical Research**, v. 29, n. 5, p. 1180–1188, 2012.

MODY, V. V. et al. Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v. 4, n. 4, p. 385–392, 2014.

MODY, V. V.; SINGH, A.; WESLEY, B. Basics of magnetic nanoparticles for their application in the field of magnetic fluid hyperthermia. **European Journal of Nanomedicine**, v. 5, n. 1, p. 11–21, 2013.

MOROZ, P.; JONES, S. K.; GRAY, B. N. Tumor response to arterial embolization hyperthermia and direct injection hyperthermia in a rabbit liver tumor model. **Journal of Surgical Oncology**, 2002.

NACEV, A. et al. The behaviors of ferromagnetic nano-particles in and around blood vessels under applied magnetic fields. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2011.

NEUBERGER, T. et al. Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2005

PANKHURST, Q. A. et al. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, 2009.

PANKHURST, Q. A. et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, 2003.

PARK, J. H. et al. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2010.

PETRY, C. A. **Curvas de Magnetização Perdas Magnéticas Materiais Magnéticos**. Centro Federal de Educação Tecnológica de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. Disponível em: [https://professorpetry.com.br/Ensino/Repositorio/Docencia\\_CEFET/Reticificadores/2007\\_1/Aula\\_12.pdf](https://professorpetry.com.br/Ensino/Repositorio/Docencia_CEFET/Reticificadores/2007_1/Aula_12.pdf) Acesso em: 01/07/2020

PINHO, L. C. A. B. **Materiais Magnéticos e suas Aplicações**. 99f. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia Electrotécnica e de Computadores) – Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2009. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/59887/1/000135917.pdf> Acesso em: 13/04/2019

REDDY, L. H. et al. Magnetic nanoparticles: Design and characterization, toxicity and biocompatibility, pharmaceutical and biomedical applications. **Chemical Reviews**, 2012.

SAPARETO, S. A.; DEWEY, W. C. Thermal dose determination in cancer therapy. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, 1984.

SADIKU, Matthew N. O. **Elementos de Eletromagnetismo**. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2004.

SHI, D. et al. Photo-fluorescent and magnetic properties of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Nanoscale**, 2015.

SCHINDELIN, J. et al. Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 676–682, 2012.

SOUZA, A. T. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro para aplicações biomédicas – um estudo citotóxico em linhagem celular de carcinoma cervical humano (células HeLa)**. 131f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Biofísica Molecular) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

SUN, C.; LEE, J. S. H.; ZHANG, M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2008.

UZHYTCHAK, M. et al. The use of pulsed magnetic fields to increase the uptake of iron oxide nanoparticles by living cells. **Applied Physics Letters**, 2017.

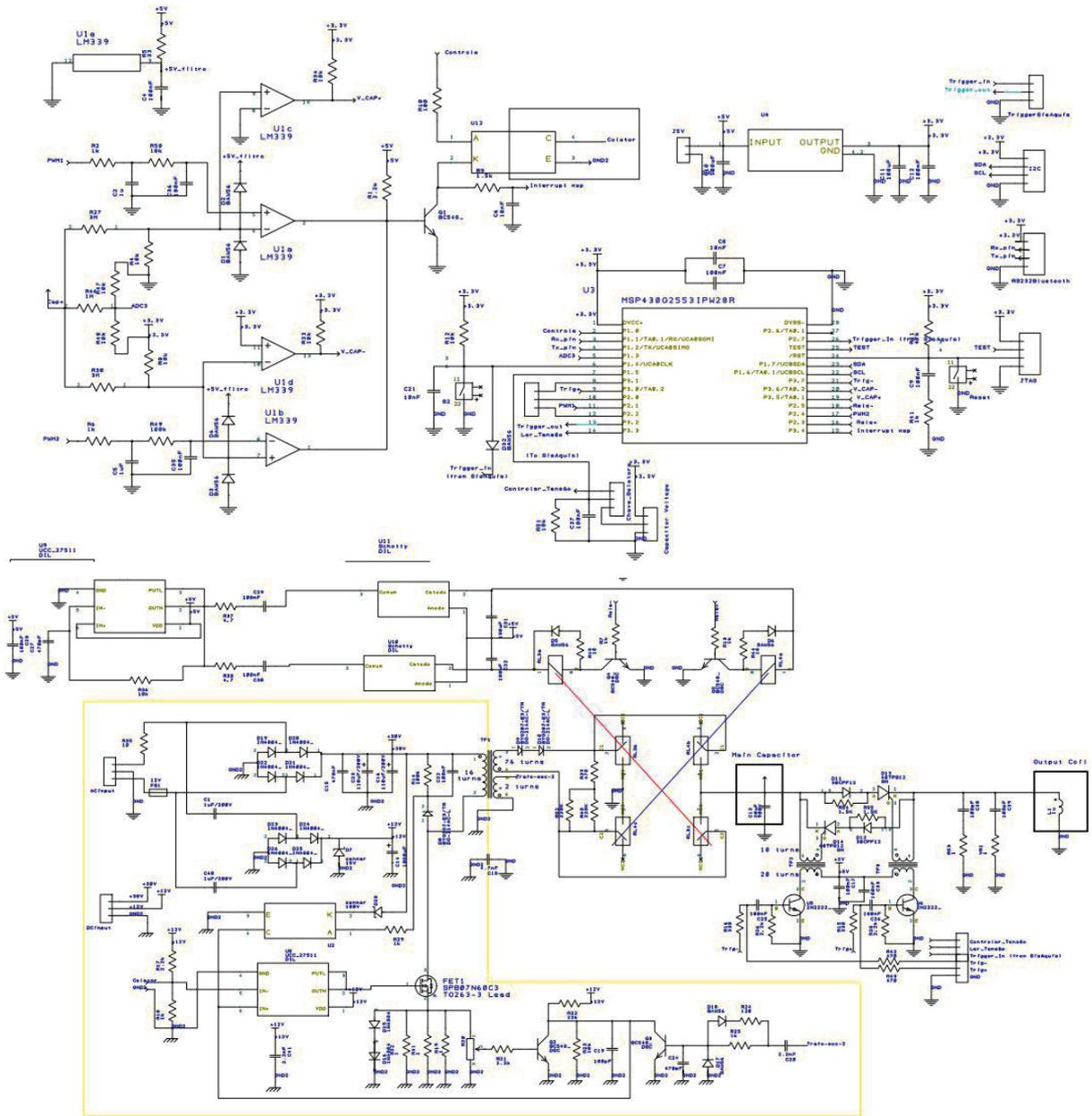
WEI, W.; WANG, Z. Investigation of Magnetic Nanoparticle Motion under a Gradient Magnetic Field by an Electromagnet. **Journal of Nanomaterials**, 2018.

WONG, D. W. et al. Interplay of cell death signaling pathways mediated by alternating magnetic field gradient. **Cell Death Discovery**, 2018.

World Health Organization. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1) Acesso em: 18/11/2018.

XIE, J. et al. Iron Oxide Nanoparticle Platform for Biomedical Applications. **Current Medicinal Chemistry**, 2009.

# APÊNDICE 1 – GERADOR DE PULSO $\mu$ s



## APÊNDICE 2 – ESQUEMÁTICO DO GERADOR DE PULSO ms

