

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2023.

Aplicações do problema inverso na Biosusceptometria AC para reconstrução e quantificação de distribuições de nanopartículas magnéticas

GABRIEL GUSTAVO DE ALBUQUERQUE BIASOTTI

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Titular Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

Co-orientador: Dr. André Gonçalves Próspero

Botucatu

2021

Aplicações do problema inverso na Biosusceptometria AC para reconstrução e quantificação de distribuições de nanopartículas magnéticas

GABRIEL GUSTAVO DE ALBUQUERQUE BIASOTTI

Dissertação de mestrado apresentada
ao Instituto de Biociências,
Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho", Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Mestre em
Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Titular Dr. José Ricardo
de Arruda Miranda

Co-orientador: Dr. André Gonçalves
Próspero

Botucatu

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Biasotti, Gabriel Gustavo de Albuquerque.

Aplicações do problema inverso na Biosusceptometria AC para reconstrução e quantificação de distribuições de nanopartículas magnéticas / Gabriel Gustavo de Albuquerque Biasotti. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Coorientador: André Gonçalves Próspero

Capes: 30400007

1. Nanopartículas. 2. Nanomedicina. 3. Biotecnologia.
4. Farmacologia. 5. Biosusceptometria de Corrente Alternada.

Palavras-chave: Biosusceptometria AC; Imagiamento quantitativo; Nanomedicina; Nanopartículas magnéticas; Problema inverso.

AGRADECIMENTO

Agradeço aos meus pais, **Marcelo Biasotti** e **Adriana de Albuquerque Biasotti**, que sempre aprovaram e apoiaram minha trajetória acadêmica. Mesmo o início do meu mestrado ter sido um tanto quanto conturbado por não conseguir bolsa, eles sempre me incentivaram a continuar os estudos independentes disso e sempre tiveram dispostos a ajudar no que fosse. Também agradeço ao meu irmão **Daniel Augusto de Albuquerque Biasotti Correa** e sua esposa **Ana Carolina Correa Biasotti** por serem exemplos de que, independente do motivo, a determinação na vida das pessoas é essencial. Também incluo todas as outras pessoas que fazem parte da minha família direta ou indiretamente, principalmente minhas avós **Maria Luiza dos Santos Albuquerque** e **Cinira Antônia da Silva Biasotti** que acima de tudo prezam pela união familiar, por me proporcionarem um ambiente confortante em meios às crises encontradas por quem decide trilhar a vida acadêmica no Brasil. Queria também fazer um agradecimento especial a minha companheira de vida **Amanda Martins Borges** por cada vitória e derrota trilhadas juntas, sonhos compartilhados e realizados, todo incentivo e por sua compressão em relação ao custo pessoal gerado pelo caminho acadêmico.

Em relação ao ambiente de pesquisa, agradeço a todos os membros e ex-membros do Laboratório de Biomagnetismo (Erick, Gabriela, Gabriele, Guilherme, Gustavo, Lais, Leonardo e Marcelo), do Laboratório de Física Aplicada ao Radiodiagnóstico (Abner, Alexandre, Allan, Ana Luiza e a Professora Diana Rodrigues de Pina Miranda) e o pessoal da Medicina Nuclear da Faculdade de Medicina de Botucatu (Kerolyn, Lucas, Patrícia e Zandoná) por todas as experiências e conhecimentos compartilhados, assim como os trabalhos executados em parcerias. Além desses, gostaria de agradecer especialmente ao meu orientador e chefe do Laboratório de Biomagnetismo **Professor José Ricardo de Arruda Miranda** e co-orientador **André Gonçalves Próspero** que mesmo com poucos anos de experiência comparado a outros pesquisadores, é um exemplo de pesquisador que muitos deveriam seguir. Apesar do meu modo peculiar de trabalhar, ambos sempre confiaram em meu potencial, sempre tentaram despertar o melhor que posso oferecer a comunidade científica e certamente sem a orientação de ambos a execução desse trabalho não teria sido concluída. Também gostaria de agradecer ao **Maik Liebl** e **Frank Wiekhorst**, membros do grupo alemão Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB), por terem colaborado significativamente nos passos iniciais e andamento do projeto com seus amplos conhecimentos experimental e teóricos de técnicas biomagnéticas e por fornecerem as nanopartículas *Perimag® plain*. Também gostaria de agradecer ao **Professor Andris Figueiroa Bakuzis**, do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás, por fornecer as nanopartículas magnéticas de ferrita de manganês.

Também agradeço Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pelo fomento (Processo 88882.433284/2019-01) ao corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia e a Seção Técnica da Pós-graduação (em especial o Davi).

RESUMO

Aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas (MNPs – do inglês *Magnetic Nanoparticles*) têm se tornado cada vez mais comuns, onde as aplicações mais conhecidas são em diagnósticos de tumores, seu uso no tratamento por hipertermia e entrega de fármacos de maneira controlada. Para isso são essenciais técnicas capazes de detectar, localizar e quantificar as MNPs em meios biológicos. A biosusceptometria AC (BAC) é uma técnica biomagnética com histórico de estudos farmacológicos e fisiológicos utilizando marcadores magnéticos macroscópicos e, mais recentemente, na avaliação da circulação sanguínea, retenção hepática, perfusão renal e cerebral e a biodistribuição de MNPs. Diferente das outras técnicas, não há histórico da reconstrução de imagens quantitativas ou quantificação direta de materiais magnéticos via sistema BAC. Para outras técnicas biomagnéticas reconstruções quantitativas da distribuição espacial de MNPs já foram realizadas com sucesso por meio da resolução do problema inverso.

A proposta desse trabalho foi criar e implementar modelos matemáticos e computacionais para a resolução do problema inverso dos sistemas BAC Mono Canal (B1C) e BAC Multi Canal 19 (B19C) para reconstruções quantitativas da distribuição 2D de MNPs. Para o B1C, foi possível reconstruir as distribuições de MNPs com boa resolução espacial (1 voxel/cm), tempo de escaneamento de 6 minutos e sensibilidade de 0.85 mg de MNPs nos objetos simuladores (fantomas cúbicos contendo MNPs de ferrita de manganês imobilizadas em gesso) distantes em 5 mm da superfície do sensor. Para o B19C, as imagens quantitativas foram reconstruídas em tempo real com resolução espacial moderada (0.33 voxels/cm) e sensibilidade de 0.71 mg de MNPs em objetos simuladores (MNP *Perimag*® *plain*) distantes em 3 mm da superfície do sensor. A modelagem e simulação computacional do sistema BAC resultou em ganhos significativos na qualidade das imagens obtidas, além de permitir a reconstrução quantitativa da distribuição espacial de MNPs pela primeira vez na literatura. Os resultados desse trabalho são de grande valia e permitirão novas aplicações e aprimoramento dos trabalhos do grupo que estão em andamento. Sendo assim, os resultados aqui obtidos podem e serão aplicados em diversos outros trabalhos envolvendo experimentação biológica *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Nanopartículas Magnéticas, Biosusceptometria AC, Imagiamento quantitativo, Nanomedicina.

ABSTRACT

Biomedical applications of magnetic nanoparticles (MNPs) have become increasingly common. The most well-known applications are in tumor diagnostics, their treatment by hyperthermia, and drug delivery in a controlled manner. Thus, techniques capable of detecting, locating, and quantifying MNPs in biological media are essential. AC Biosusceptometry (BAC) is a biomagnetic technique with a history of pharmacological and physiological studies using macroscopic magnetic markers and, more recently, in the assessment liver retention, renal and cerebral perfusion and the biodistribution of MNPs. To the best of our knowledge, there is no history of reconstructing quantitative images or direct quantification of magnetic materials via the BAC system. For another biomagnetic technical, the MNPs' quantitative spatial distribution reconstruction has already been carried out successfully by solving the inverse problem.

The purpose of this work was to create and implement mathematical and computational models to solve the inverse problem of the BAC Mono Channel (B1C) and BAC Multi Channels 19 (B19C) systems for reconstructing quantitative 2D images, and finally reconstructing spatial distributions of MNPs quantitatively. For B1C, it was possible to reconstruct quantitative images with a good spatial resolution (1 *voxel/cm*), scanning time of 6 minutes, and sensitivity of 1.8 *mg* of MNPs (cubic phantoms containing MNPs of manganese ferrite immobilized in gypsum) 5 *mm* from the sensor surface. For the B19C, the quantitative images were reconstructed in real-time with a moderate spatial resolution (0.33 *voxels/cm*), and a sensitivity of 0.71 *mg* of MNPs in simulator objects (MNPs Perimag[®] plain) 3 *mm* away from the sensor surface. The BAC system's computational modeling resulted in significant gains in the quality of the reconstructed MNPs' spatial distribution. This work results are of great value and will allow for countless new applications and improvement of the group's works that are in progress. Thus, the results obtained here can, and will, be applied in other works involving biological experimentation *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: Magnetic Nanoparticles, AC Biosusceptometry, Quantitative Imaging, Nanomedicine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Imagens dos sistemas BAC reais utilizados nesse trabalho. Em (A) temos o Sistema BAC Mono Canal, composto por 1 par de bobinas de excitação e 1 par de bobinas de detecção e em (B) temos o Sistema BAC Multi Canal 19, composto por 1 par de bobinas de excitação e 19 pares de bobinas de detecção 22

Figura 3.2 – Representação das componentes e sinais induzidos no B1C na ausência (A) e presença (B) de materiais magnéticos. A tensão AC gerada pelo amplificador *lock-in* é amplificada pelo amplificador de audio e a corrente AC resultante desse processo alimenta as bobinas de excitação que geram campo magnético AC. Esse campo magnetiza o material magnético e a bobina de detecção do sistema de medidas é sensibilizada pela magnetização do material. O *lock-in* estima e converte a diferença de tensão induzida, entre o sistema de medida e referência, em valores RMS. Essa tensão resultante é enviada a uma placa de conversão de sinal analógico-digital que irá armazenar esses dados em um computador. As setas azuis e laranjas indicam a orientação das bobinas, arranjadas gradiométricamente..... 23

Figura 3.3 – Representação das componentes e sinais induzidos no B19C na ausência (A) e presença (B) de materiais magnéticos. A densidade de fluxo magnético da magnetização dos materiais altera a tensão RMS induzida apenas nas bobinas detectoras próximas e, com isso, podemos estimar a localização do material. As setas azuis e laranjas indicam a orientação das bobinas, arranjadas gradiométricamente..... 24

Figura 3.4 – Representações espaciais das matrizes de coordenadas dos sensores virtuais do B1C e B19C. Em (A) e (B) temos a perspectiva geral e frontal do sensor do B1C, enquanto (C) e (D) são as perspectivas geral e frontal do sensor do B19C. Por padrão, para ambos sensores virtuais o plano xy em $z = 0$ coincide com a superfície dos chassis na extremidade do sistema de medidas dos sensores reais. Desse modo, as simulações foram feitas utilizando material no espaço $z > 0$ 25

Figura 3.5 – Perfis de campo dos sensores e curvas de magnetização das MNP utilizadas no trabalho. Em (A) temos o decaimento da intensidade de campo dos sensores dos sistemas B1C e B19C em função da distância, calculados com os valores reais de corrente utilizadas nesse trabalho. Em (B) temos estimativas das curvas de magnetização das MNP construídas da função de Langevin. Em (C) temos um enfoque da curva de magnetização no intervalo de amplitude de campo de -2 a 2 kA/m .

Como a amplitude de campo para ambos sistemas não ultrapassa 1 kA/m , ambas MNP estão sujeitas ao regime linear de magnetização..... 27

Figura 3.6 – Método de escaneamento para a construção das matrizes L_{1R} e L_{1V} do B1C. Em (A) temos o modelo empregado para o sistema real. O cubo D1 posicionado no k -ésimo *voxel* é magnetizado pela densidade de fluxo magnético $B_{1,k,m}$, com o sensor na m -ésimas posição, então a densidade de fluxo da magnetização $M_{k,m}$ é detectado pela bobina de detecção e a tensão RMS induzida é estimada pelo amplificador *lock-in*. Em (B) temos o modelo empregado para o sistema virtual. As densidades de fluxo magnético $B_{1^0,k,m}$ e recíproco $B_{r^0,k,m}$, com o sensor transladado para a m -ésima posição do *grid* de escaneamento, são calculados no ponto k_c do *grid* de *voxels*, então as tensões RMS induzidas na bobina de detecção são estimadas através da Equação 48..... 38

Figura 3.7 – Construção das matrizes L_{19R} e L_{19V} do B19C. Em (A) temos o modelo empregado para o sistema real. O cubo de MNP posicionado no k -ésimo *voxel* é magnetizado pela densidade de fluxo magnético $B_{1,k}$, então a n -ésima bobina de detecção capta a densidade de fluxo da magnetização $M_{k,n}$ das MNPs e as tensões induzidas $V_{RMS,n}$ são estimadas pelo amplificador *lock-in*. Em (B) temos o modelo empregado para o sistema virtual. As densidades de fluxo magnético $B_{1^0,k}$ e $B_{r^0,k,n}$, para a n -ésima bobina detectora, são calculados no ponto k_c do *grid* de *voxels*, então as tensões induzidas $V_{RMS,n}$ são estimadas através da Equação 53 40

Figura 3.8 – Representação da posição das distribuições de simulação do coração, cubos inferiores, e fígado, cubos superiores, de ratos. Em (A) temos uma maior área cardíaca, porém com menor massa de MNPs. Em (B) a área cardíaca é menor e com maior massa de MNPs 42

Figura 4.1 – Representações espaciais das matrizes de sensibilidade dos sistemas B1C real e virtual. Na primeira coluna temos as sensibilidades no FOV do sensor real (A) e virtual (C) em cada posição do *grid* de escaneamento. A segunda coluna estão os mapas de sensibilidade do sensor real (B) e virtual (D), obtidos com a soma das projeções de cada posição dos sensores. Os valores apresentados foram normalizados pela massa de MNP utilizada na construção das matrizes L_{1R} e L_{1V} 44

Figura 4.2 – Procedimento para determinar a margem de truncamento e os valores singulares das matrizes L_{1R} e L_{1V} . (A) Perfis de R e X_{diff} normalizados, obtidos da reconstrução da distribuição da letra B em função de diferentes margens de truncamento aplicadas na L_{1R} . (B) Perfis de R e X_{diff} normalizados, obtidos da reconstrução da distribuição da letra B em função de diferentes margens de truncamento aplicadas na L_{1V} . Linhas tracejadas verticais mostram os pontos de margem de

truncamento ótima. (C) Valores singulares normalizados de ambas matrizes com suas respectivas linhas de truncamento 45

Figura 4.3 – Distribuições reconstruídas com os sinais adquiridos com os cubos A1, B1, C1, D1 e E1 centralizados no FOV para estimar a sensibilidade dos sistemas B1C real e virtual para a metodologia proposta. A primeira linha corresponde as distribuições nominais, a segunda as reconstruções com a L_{1R} e a terceira as reconstruções com a L_{1V} 46

Figura 4.4 – Perfis de R e X_{diff} em função da massa de MNPs para as matrizes L_{1R} e L_{1V} . Em (A) temos os perfis de R em função da massa para ambas matrizes. A linha tracejada corresponde ao valor de $R = 0.7$, limite de correlação para a sensibilidade dos sistemas. Em (B) temos os perfis de X_{diff} em função da massa de MNPs para ambos sistemas. A linha tracejada corresponde ao valor de $X_{diff} = 20\%$, limite de imprecisão na quantificação para a sensibilidade dos sistemas 47

Figura 4.5 – Distribuições reconstruídas com os sinais adquiridos na aproximação dos cubos do par E na linha central do FOV para estimar a resolução espacial dos sistemas B1C real e virtual. A primeira linha corresponde as distribuições nominais, a segunda as reconstruções com a L_{1R} e a terceira as reconstruções com a L_{1V} . Para cada coluna os cubos foram posicionados com diferentes distâncias entre si 48

Figura 4.6 – Distribuições reconstruídas com os sinais adquiridos nos escaneamentos das distribuições não triviais propostas para os sistemas B1C. A primeira linha corresponde as distribuições nominais, a segunda as distribuições reconstruídas com a L_{1R} e a terceira as reconstruídas com a L_{1V} . Cada coluna representa uma distribuição diferente 49

Figura 4.7 – Distribuições reconstruídas pelo problema inverso e pelo método de distribuição magnética com os sinais adquiridos nos escaneamentos das distribuições não triviais propostas para os sistemas B1C. A primeira linha corresponde as distribuições nominais das MNPs, a segunda as reconstruções pela resolução do problema inverso (L_{1V}) e a terceira as projeções de distribuição magnética ($pixels\ 0.5 \times 0.5\ cm^2$) 51

Figura 4.8 – Representações espaciais das matrizes de sensibilidade dos sistemas B19C real e virtual. Na primeira coluna temos as sensibilidades das bobinas de detecção dos sensores real (A) e virtual (C) no FOV. A segunda coluna estão os mapas de sensibilidade do sensor real (B) e virtual (D), obtidos com a soma das sensibilidades de todas as detectoras. Os valores apresentados foram normalizados pela massa de MNPs utilizadas na construção das matrizes L_{19R} e L_{19V} 52

Figura 4.9 – Procedimento para determinar a margem de truncamento e os valores singulares das matrizes L_{19R} e L_{19V} . Em (A) e (B) temos os perfis de R e X_{diff} normalizados do sinal do escaneamento da distribuição da letra B em função de diferentes margens de truncamento aplicadas nas matrizes real e virtual, respectivamente. As linhas tracejadas verticais mostram os pontos de margem de truncamento ótima. Em (C) temos os valores singulares normalizados de ambas matrizes com suas respectivas linhas de truncamento..... 53

Figura 4.10 – Distribuições reconstruídas com os sinais adquiridos com um cubo centralizado na bobina detectora. Cada uma das Figuras A, B, C e D apresentam 3 diferentes cubos com diferentes massas de MNPs (Cubos M1 ao M12, conforme mostra a Tabela 3.2). Em cada Figura a primeira linha corresponde as distribuições nominais, a segunda as reconstruções com a L_{19R} e a terceira as reconstruções com a L_{19V} 54

Figura 4.11 – Perfis de R e X_{diff} em função da massa de MNPs para as matrizes L_{19R} e L_{19V} . Em (A) temos os perfis de R em função da massa de MNPs. A linha tracejada corresponde ao valor de $R = 0.7$, limiar para a sensibilidade dos sistemas. Em (B) temos os perfis de X_{diff} em função da massa de MNPs. A linha tracejada corresponde ao valor de $X_{diff} = 20\%$, limiar para a sensibilidade do sistema..... 56

Figura 4.12 – Distribuições reconstruídas com os sinais adquiridos na aproximação dos cubos M11 e M12 na coluna central do FOV para estimar a resolução espacial dos sistemas B19C real e virtual. A primeira linha corresponde as distribuições nominais, a segunda as imagens reconstruídas com a L_{19R} e a terceira as reconstruídas com a L_{19V} . Para cada coluna os cubos estavam diferentemente distantes entre si 56

Figura 4.13 – Distribuições reconstruídas com os sinais adquiridos das distribuições não triviais propostas para o B19C. A primeira linha corresponde ao modelo de rato A, a segunda ao modelo de rato B. Na primeira coluna estão as distribuições nominais, a segunda as distribuições reconstruídas com a L_{19R} e a terceira as reconstruídas com a L_{19V} 58

Figura 4.14 – Distribuições reconstruídas pelo problema inverso e pelo método de distribuição magnética com os sinais adquiridos nos escaneamentos das distribuições não triviais propostas para os sistemas B19C. A primeira linha corresponde ao modelo A de simulação de rato e a segunda linha o modelo B. A primeira coluna mostra as distribuições nominais, a segunda as reconstruções pela resolução do problema inverso (L_{19R}) e a terceira as reconstruções de distribuição magnética ($pixels\ 1.0 \times 1.0\ cm^2$) 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Parâmetros geométricos e tipo de condutores utilizados nos sensores do B1C e B19C	21
Tabela 3.2 – Massa de MNPs de ferrita de manganês presentes nos cubos utilizados para as experimentações com o B1C.....	25
Tabela 3.3 – Massa de MNPs <i>Perimag® plain</i> presente nos cubos utilizados para experimentações com o B19C	25
Tabela 3.4 – Classificações dos graus de correlação e as qualidades geométricas das imagens reconstruídas para determinados intervalos de valores do coeficiente de Pearson R	40
Tabela 4.1 – Parâmetros de reconstrução com a L_{1R} e a L_{1V} obtidos no teste de sensibilidade do B1C	45
Tabela 4.2 – Parâmetros de reconstrução com a L_{1R} e a L_{1V} obtidos no teste de resolução espacial do B1C	47
Tabela 4.3 – Parâmetros de reconstrução com a L_{1R} e a L_{1V} obtidos com as distribuições não triviais do B1C	49
Tabela 4.4 – Parâmetros de reconstrução com a L_{19R} e a L_{19V} obtidos no teste de sensibilidade do B19C.	54
Tabela 4.5 – Parâmetros de reconstrução com a L_{19R} e a L_{19V} obtidos no teste de resolução do B19C	56
Tabela 4.6 – Parâmetros de reconstrução com a L_{19R} e a L_{19V} obtidos com as distribuições não triviais do B19C	57

LISTA DE ABREVIATURAS

B19C	Sistema BAC Multi Canal 19
B1C	Sistema BAC Mono Canal
BAC	Biosusceptometria AC
BMC	Sistema BAC Multi Canal
DVST	Decomposição em Valores Singulares Truncados
FEM	Força Eletromotriz
FOV	<i>Field of View</i>
MNPs	<i>Magnetic Nanoparticles</i>
MPI	<i>Magnetic Particle Imaging</i>
MRI	<i>Magnetic Ressonance Imaging</i>
MRXI	<i>Magnetorelaxometry Imaging</i>
MSI	<i>Magnetic Susceptibility Imaging</i>
RMS	<i>Root Mean Square</i>
SQUID	<i>Superconducting Quantum Interference Device</i>

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS	13
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1.Técnica BAC: Instrumentações e Princípios Gerais	21
3.2.Construção de Objetos Simuladores	25
3.3.Modelagem do Problema Direto e Problema Inverso	27
3.4.Matrizes de Sensibilidade dos Sistema BAC	36
3.4.1. Método de Aquisição e Construção da Matriz de Sensibilidade do B1C.....	36
3.4.2. Método de Aquisição e Construção da Matriz de Sensibilidade do B19C.....	38
3.5.Experimentações para Aplicação do Modelo Inverso	40
3.5.1. Testes de Sensibilidade e Resolução Espacial com o B1C	41
3.5.2. Testes de Sensibilidade e Resolução Espacial com o B19C	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1.Resultados do Sistema B1C.....	43
4.1.1. Matriz de Sensibilidade (B1C)	43
4.1.2. Testes de Sensibilidade (B1C).....	45
4.1.3. Testes de Resolução Espacial (B1C)	48
4.1.4. Distribuições Não Triviais (B1C).....	49
4.2.Resultados do Sistema B19C.....	51
4.2.1. Matriz de Sensibilidade (B19C)	51
4.2.2. Testes de Sensibilidade (B19C).....	53
4.2.3. Testes de Resolução Espacial (B19C).....	56
4.2.4. Distribuições Não Triviais (B19C).....	57
4.3.Perspectivas Gerais dos Modelos Aplicados	59
5. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, estudos demonstraram que nanopartículas magnéticas (MNPs - do inglês *Magnetic Nanoparticles*) podem ser utilizadas para diferentes aplicações biomédicas devido as suas propriedades físico-químicas, como sua composição, propriedades magnéticas, tamanho, revestimento e reatividade (1-3). As características farmacológicas, biológicas e aplicabilidade clínica das MNPs são dependentes dessas propriedades físico-químicas, visto que são determinantes para a resposta magnética e biodistribuição do material dentro do meio biológico (4-6). Assim, as MNPs podem ser empregadas para diagnósticos, tratamentos ou diagnosticar e tratar doenças e disfunções com a mesma partícula, caracterizando assim seus efeitos teranósticos (7). Exemplos de aplicações promissoras das MNPs são o diagnóstico de tumores, tratamento por hipertermia magnética e distribuição de fármacos de maneira controlada. No diagnóstico de tumores, as MNPs podem ser desenvolvidas para se acumularem e atuarem como agentes de contraste em tecidos tumorais (8-11). Após a retenção das MNPs em tecido tumoral é possível induzir a morte dessas células pela hipertermia magnética, com algumas restrições como a baixa biodisponibilidade das MNPs no tecido alvo. Nesse tratamento a morte das células tumorais é induzida através do calor gerado pelas MNPs ao serem expostas a campos magnéticos alternados (12). Estudos mostram que os campos utilizados em tratamentos por hipertermia possuem frequência próxima de 100 a 500 kHz e amplitudes na escala de kA/m (13). Segundo o critério de Atkinson (14), o produto da amplitude do campo e a frequência não devem ser superiores a $4.85 \times 10^8 \frac{A}{m.s}$ para evitar lesões nos tecidos saudáveis causadas correntes parasitas. Já Dutz e Hergt (15) sugerem que para bobinas menores, com diâmetros próximos a 10 cm, esse limiar pode ser ampliado para $5 \times 10^9 \frac{A}{m.s}$. As MNPs também podem ser projetadas para serem acopladas a fármacos e realizarem distribuições de maneira controlada em regiões específicas (16). Através da aplicação de campos magnéticos externos é possível orientar o local de acúmulo das MNPs e técnicas capazes de detectar, localizar, gerar imagens e quantificar as nanopartículas distribuídas nos meios biológicos. As técnicas como a Imagem por Magnetorelaxometria (MRXI – do inglês *Magnetorelaxometry Imaging*) (17-19), Imagem por Partículas Magnéticas (MPI – do inglês *Magnetic Particle Imaging*) (20, 21), Imagem de Susceptibilidade Magnética (MSI – do inglês *Magnetic Susceptibility Imaging*) (22, 23) e Imagem por Ressonância Magnética (MRI – do inglês *Magnetic Resonance Imaging*) (24, 25) têm mostrado eficácia na detecção e no imageamento das MNPs.

Na técnica MRXI, as MNPs são expostas a um campo magnético externo DC e o momento magnético de cada MNP é orientada no sentido do campo e a amostra fica magnetizada. Após a remoção do campo externo os momentos magnéticos das MNPs perdem a orientação e a magnetização da amostra se torna nula. O perfil de decaimento da magnetização após a remoção do campo externo é adquirido e são extraídas informações das propriedades físicas, quantidade e localização das MNPs (17, 26). A detecção do processo de relaxação é comumente realizada por dispositivos supercondutores de interferência quântica (SQUID, do inglês *Superconducting quantum interference devices*) com sensibilidade da ordem de $fT/Hz^{1/2}$ (19, 27), ou mais recentemente utilizando-se magnetômetros de bombeamento ótico (28). Na técnica de MSI, as MNPs são magnetizadas por aplicação de campo magnético externo AC e é estimada a intensidade dessa magnetização. O campo externo é gerado por bobinas de excitação e a magnetização do material é detectada por magnetômetros *fluxgate* ou por bobina de detecção (22). A intensidade do sinal adquirido depende da localização, concentração e susceptibilidade magnética das MNPs, e também da amplitude e frequência do campo externo (22, 29). Na MRI, a presença de MNPs num tecido alvo a ser imagiado gera inomogeneidades no campo local, que por sua vez gera um gradiente de campo e, conseqüentemente, alteração no tempo de relaxação dos spins dos prótons adjacentes às MNPs, podendo então ser usadas como meio de contraste. Dessa maneira, nessa técnica o imageamento e quantificação de MNPs é realizado de modo indireto através das alterações que a presença dessas causam na orientação dos spins dos prótons dos tecidos (24, 25). A MPI trabalha com a saturação magnética das MNPs através de campos magnéticos DC, gerados por dois magnetos permanentes, em regiões específicas, e campos magnéticos AC, gerados por bobinas de excitação. Os dois magnetos permanentes são posicionados em configuração norte-norte, e a repulsão magnética de seus campos formam um ponto no espaço livre de campo magnético (FFP – do inglês *Free Field Point*). Ao aplicar campo magnético AC externo de alta amplitude, os momentos magnéticos das MNPs dentro do FFP são orientados de acordo com o campo AC (até a região de magnetização não linear) e os demais fora do FFP permanecem orientados com o campo DC (suficientemente intenso para saturar magneticamente as MNPs). A tensão induzida nas bobinas de detecção depende da variação da magnetização das MNPs no tempo e, portanto, apenas as MNPs dentro do FFP expostas ao campo AC contribuirão no sinal adquirido. Pôr o sistema operar em regime de saturação das MNPs, são gerados e adquiridos os harmônicos ímpares e o sinal é dado pela intensidade do momento magnético espectral, dependente da quantia de MNPs presentes no FFP. As amostras são avaliadas ponto a ponto através da translação do FFP por

aplicações de campos externos homogêneos por eletroímãs (20, 21, 30). Dadas as características intrínsecas de cada técnica, a MRX, RMI e a MPI necessitam de ambiente magnética- ou eletromagneticamente blindado para serem executadas (19, 21, 31). A demanda por blindagem e os custos operacionais e instrumentais elevados tornam essas técnicas menos portáteis e acessíveis a ambientes pré-clínicos e clínicos. Desse modo, os desenvolvimentos de métodos magnéticos para o imageamento de MNPs, com baixos custos, portáteis e versáteis, como o MSI, podem contribuir significativamente para estudos envolvendo as MNPs e suas aplicações.

De maneira similar ao MSI, a biosusceptometria AC (BAC) é uma técnica biomagnética que magnetiza os materiais magnéticos e detecta a tensão induzida pela magnetização dos materiais através de bobinas de indução (32, 33). O sensor em sua forma básica apresenta quatro bobinas de indução, sendo duas para excitação e duas para detecção. Os pares de bobinas de referência e medida (cada um formado por uma bobina de excitação e uma de detecção) formam um arranjo coaxial, onde as bobinas de detecção estão em disposição gradiométrica de primeira ordem. Ambos os pares de bobinas atuam como transformadores de fluxo magnético, e o par afastado da região com presença de materiais magnéticos, atua como referência.

Em estudos farmacológicos, o sistema BAC foi aplicado na avaliação de parâmetros farmacotécnicos e farmacocinéticos de comprimidos, pellets e cápsulas magneticamente marcadas. Estudos aplicando a BAC em humanos mostraram os processos de desintegração e trânsito gastrointestinal de comprimidos revestidos com o polímero pH-dependente Eudragit® E-100 (*Röhm-Pharma, Germany*) na região gástrica (34, 35), comprimidos revestidos com Eudragit® S-100 (*Röhm-Pharma, Germany*) (36) e cápsulas de hidroxipropilmetilcelulose preenchidas com pó de ferrita ou pellets na região entérica (32, 37, 38), além da influência da força de compressão de comprimidos em sua desintegração (39). Nas aplicações fisiológicas, a BAC foi eficaz na análise da motilidade e contratilidade gastrointestinal em animais saudáveis (40-45), em prenhez (46) e pós-cirúrgico de gastrectomia proximal (47). Em estudos recentes, a BAC apresentou resultados promissores para monitorar as MNPs na circulação sanguínea (48), sua biodistribuição (49, 50), retenção hepática (49), a perfusão renal (51) e cerebral (52), além de estudar lesões renais em ratos com uso de MNPs (53). Sendo assim, a literatura mostra que a BAC é aplicável para ensaios *in vivo*, *in vitro*, *ex vivo* por aquisições espectroscópicas, escaneamentos ou em tempo real. Nesses estudos, os parâmetros farmacológicos e fisiológicos foram estimados através da análise da morfologia dos sinais, de imagens da distribuição de voltagens detectadas pelo sistema em determinadas posições e análises qualitativas. As imagens apresentadas nesses trabalhos citados são projeções

bidimensionais da intensidade da tensão induzida nas bobinas de detecção na região de medida. Dessa maneira, as imagens apresentam intensidade de *pixels* correspondentes à valores de tensão, e não possibilitam quantificações de MNPs no estado da arte. Não há histórico recente do desenvolvimento de modelos matemáticos, físicos ou computacionais para o processamento de dados do sistema BAC que permitam o aprimoramento da técnica para a reconstrução quantitativa da distribuição espacial das MNPs.

Em técnicas como a MRXI e a MPI, a resolução do problema inverso mostrou eficácia para gerar imagens quantitativas e determinar com precisão a massa de MNPs detectada (18, 30, 54, 55). Vale ressaltar que problemas inversos relacionados ao imageamento de MNPs geralmente são mal postos, o que leva a uma dificuldade na determinação quantitativa da distribuição espacial das MNPs, e consequente baixa resolução espacial e precisão de quantificação (19, 56). Quando aplicados novos métodos para melhorar o condicionamento do problema inverso, como a inclusão de múltiplas bobinas de excitação gerando campos magnéticos de excitação não homogêneos (aumentando a quantidade de informação no problema), houve aumento na performance da reconstrução da distribuição e quantificação de MNPs em determinado FOV via MRXI (18, 19). Além disso, também foi possível o desenvolvimento da capacidade de identificar espacialmente e quantificar diferentes tipos MNPs em uma amostra composta (26). Para o MPI os avanços possibilitaram aquisições tridimensionais em tempo real *in vivo*, e também de identificar diferentes tipos de MNPs em uma amostra composta (57). Na MSI o aumento do número de bobinas e frequências de excitação resultaram em reconstruções com maior número de *voxels* e precisão (23).

Originalmente o sistema BAC foi desenvolvido para operar com duas bobinas de excitação e duas bobinas de detecção, chamado Sistema BAC Mono Canal (B1C) (34, 58, 59). Nesse modelo as informações espaciais para gerar imagens são obtidas através de escaneamentos com o sensor posicionado em diferentes pontos do espaço (36). O sensor é transladado manualmente, ou por sistemas mecânicos, e os escaneamentos completos podem levar de alguns segundos a minutos dependendo do número de pontos de varredura. De modo alternativo para adquirir sinais com informações espaciais em tempo real foi desenvolvido o Sistema BAC Multi Canal (BMC) (34). Nesse modelo, são utilizadas duas bobinas de excitação e dois ou mais pares de bobinas de detecção distribuídas nas áreas internas das bobinas de excitação. A distribuição espacial das bobinas de detecção permite que sinais de diferentes pontos espaciais sejam adquiridos simultaneamente sem necessidade de transladar o sensor (35, 50). Apesar do menor tempo de aquisição (em tempo real), o BMC é limitado a adquirir um número de sinais em cada

ponto do espaço referente ao número de bobinas detectoras, como por exemplo o BMC com 19 pares de bobinas detectoras (B19C), que adquire sinais simultaneamente da magnetização do material em 19 pontos do espaço. O condicionamento do problema inverso proposto para esses sistemas depende dos métodos de aquisição e das características dos sensores e, quanto maior for o condicionamento do problema, maior será a resolução espacial das imagens obtidas e precisão na quantificação. A estabilidade do problema está relacionada ao número de informações que o alimentam (para a BAC é a quantidade dos sinais adquiridos – número de sensores) e o número de variáveis que serão determinadas (para reconstrução de imagens, o número de *voxels* utilizados). Dessa maneira, apesar do B19C ter maior resolução temporal, a limitação do método de aquisição de 19 sinais reduz a estabilidade do problema e reduz sua performance em reconstruções e quantificações. O B1C pode ser aplicado para adquirir um maior número de sinais e, como consequência, o problema pode se tornar mais estável e apresentar maior performance para reconstruções e quantificações (com maior custo temporal de medida). Neste trabalho será apresentada a resolução do problema inverso para a reconstrução quantitativa de distribuições espaciais de MNPs, o que traz novas perspectivas aos estudos em andamentos e possibilita novas pesquisas envolvendo a utilização dos sistemas B1C e B19C.

5. CONCLUSÃO

Esse trabalho teve como proposta apresentar uma nova e aprofundada perspectiva teórica da técnica BAC, implementar modelos para a resolução do problema inverso e obter reconstruções quantitativas da distribuição espacial de MNPs em 2D. O modelo de inversão baseado na DVST para obter a matriz pseudoinversa de Moore-Penrose mostrou eficácia para reconstruir diferentes distribuições de MNP com os sistemas B1C e B19C. Dentre esses sistemas, o método proposto para o B1C mostrou maior precisão na quantificação e nas reconstruções com resolução espacial consideravelmente maior. O modelo proposto para ambos sistemas resultou em sensibilidade e resolução temporal compatíveis com ensaios *in vivo* de aplicação de MNPs.

Os resultados desse trabalho representam um grande passo para a técnica BAC e a aproxima de outras técnicas quantitativas já estabelecidas para o estudo de MNP. Além disso, os modelos matemáticos e de processamento de sinais desenvolvidos possibilitam diversas novas abordagens e aplicações da técnica BAC. Há grandes perspectivas para aplicações do modelo de resolução do problema inverso para ensaios *in vivo*, desenvolvimento de métodos de reconstruções tomográficas, identificação de diferentes partículas em uma mesma amostra e identificar partículas imobilizadas (ligadas à alvos específicos – *binding assays*) em um meio biológico. Dessa maneira, os resultados desse trabalho podem aprimorar consideravelmente as pesquisas em andamento e possibilitam o início de novos estudos das propriedades e aplicações de MNP através da técnica BAC.

REFERÊNCIAS

1. Pankhurst QA, Connolly J, Jones SK, Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2003;36(13):R167.
2. Tran N, Webster TJ. Magnetic nanoparticles: biomedical applications and challenges. *Journal of Materials Chemistry*. 2010;20(40):8760-7.
3. Cardoso VF, Francesko A, Ribeiro C, Bañobre-López M, Martins P, Lanceros-Mendez S. Advances in magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Advanced Healthcare Materials* 2018;7(5):1700845.
4. Bárcena C, Sra AK, Gao J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Nanoscale magnetic materials and applications*: Springer; 2009. p. 591-626.
5. Shokrollahi H. A review of the magnetic properties, synthesis methods and applications of maghemite. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials and Magnetic Materials*. 2017;426:74-81.
6. Lisjak D, Mertelj A. Anisotropic magnetic nanoparticles: A review of their properties, syntheses and potential applications. *Progress in Materials Science*. 2018;95:286-328.
7. Yoo D, Lee J-H, Shin T-H, Cheon J. Theranostic magnetic nanoparticles. *Accounts of Chemical Research*. 2011;44(10):863-74.
8. Zhu L, Zhou Z, Mao H, Yang L. Magnetic nanoparticles for precision oncology: theranostic magnetic iron oxide nanoparticles for image-guided and targeted cancer therapy. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*. 2017;12(1):73-87.
9. Kang T, Li F, Baik S, Shao W, Ling D, Hyeon T. Surface design of magnetic nanoparticles for stimuli-responsive cancer imaging and therapy. *Biomaterials*. 2017;136:98-114.
10. Li J, Wang J, Wang Y, Trau M. Simple and rapid colorimetric detection of melanoma circulating tumor cells using bifunctional magnetic nanoparticles. *Analyst*. 2017;142(24):4788-93.
11. Wu M, Huang S. Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery and treatment. *Molecular Clinical Oncology* 2017;7(5):738-46.
12. Jose J, Kumar R, Harilal S, Mathew GE, Prabhu A, Uddin MS, et al. Magnetic nanoparticles for hyperthermia in cancer treatment: an emerging tool. *Environmental Science Pollution Research* 2020;27(16):19214-25.
13. Rodrigues HF, Capistrano G, Bakuzis AF. In vivo magnetic nanoparticle hyperthermia: a review on preclinical studies, low-field nano-heaters, noninvasive thermometry and computer simulations for treatment planning. *International Journal of Hyperthermia*. 2020;37(3):76-99.
14. Atkinson WJ, Brezovich IA, Chakraborty DP. Usable frequencies in hyperthermia with thermal seeds. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1984(1):70-5.
15. Dutz S, Hergt R. Magnetic nanoparticle heating and heat transfer on a microscale: Basic principles, realities and physical limitations of hyperthermia for tumour therapy. *International Journal of Hyperthermia*. 2013;29(8):790-800.
16. Mirza S, Ahmad MS, Shah MIA, Ateeq M. Magnetic nanoparticles: drug delivery and bioimaging applications. *Metal Nanoparticles for Drug Delivery and Diagnostic Applications*: Elsevier; 2020. p. 189-213.
17. Wiekhorst F, Steinhoff U, Eberbeck D, Trahms L. Magnetorelaxometry assisting biomedical applications of magnetic nanoparticles. *Pharmaceutical Research*. 2012;29(5):1189-202.
18. Liebl M, Steinhoff U, Wiekhorst F, Coene A, Hauelsen J, Trahms L. Quantitative reconstruction of a magnetic nanoparticle distribution using a non-negativity constraint. *Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik*. 2013.

19. Liebl M, Steinhoff U, Wiekhorst F, Hauelsen J, Trahms L. Quantitative imaging of magnetic nanoparticles by magnetorelaxometry with multiple excitation coils. *Physics in Medicine & Biology*. 2014;59(21):6607.
20. Gleich B, Weizenecker J. Tomographic imaging using the nonlinear response of magnetic particles. *Nature*. 2005;435(7046):1214-7.
21. Weizenecker J, Gleich B, Rahmer J, Dahnke H, Borgert J. Three-dimensional real-time in vivo magnetic particle imaging. *Physics in Medicine & Biology*. 2009;54(5):L1.
22. Ficko BW, Nadar PM, Hoopes PJ, Diamond SG. Development of a magnetic nanoparticle susceptibility magnitude imaging array. *Physics in Medicine & Biology*. 2014;59(4):1047.
23. Ficko BW, Giacometti P, Diamond SG. Extended arrays for nonlinear susceptibility magnitude imaging. *Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik*. 2015;60(5):457-63.
24. Na HB, Song IC, Hyeon T. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. *Advanced Materials*. 2009;21(21):2133-48.
25. Qiao R, Yang C, Gao M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. *Journal of Materials Chemistry*. 2009;19(35):6274-93.
26. Coene A, Leliaert J, Liebl M, Loewa N, Steinhoff U, Crevecoeur G, et al. Multi-color magnetic nanoparticle imaging using magnetorelaxometry. *Physics in Medicine & Biology*. 2017;62(8):3139.
27. Adolphi NL, Huber DL, Bryant HC, Monson TC, Fegan DL, Lim J, et al. Characterization of single-core magnetite nanoparticles for magnetic imaging by SQUID relaxometry. *Physics in Medicine & Biology*. 2010;55(19):5985.
28. Baffa O, Matsuda R, Aarsalani S, Prospero A, Miranda J, Wakai R. Development of an optical pumped gradiometric system to detect magnetic relaxation of magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2019;475:533-8.
29. Ficko BW, Nadar PM, Diamond SG. Spectroscopic AC susceptibility imaging (sASI) of magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2015;375:164-76.
30. Weizenecker J, Borgert J, Gleich B. A simulation study on the resolution and sensitivity of magnetic particle imaging. *Physics in Medicine & Biology*. 2007;52(21):6363.
31. Maniam S, Szklaruk J. Magnetic resonance imaging: Review of imaging techniques and overview of liver imaging. *World Journal of Radiology*. 2010;2(8):309.
32. Miranda JRA, Corá LA, Américo MF, Romeiro FG. AC biosusceptometry technique to evaluate the gastrointestinal transit of pellets under influence of prandial state. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;99(1):317-24.
33. Corá LA, Américo MF, Romeiro FG, Oliveira RB, Miranda JRA. Pharmaceutical applications of AC Biosusceptometry. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals*. 2010;74(1):67-77.
34. Corá LA, Américo MF, Oliveira RB, Baffa O, Moraes R, Romeiro FG, et al. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current Biosusceptometry. *European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals*. 2003;56(3):413-20.
35. Cora LA, Andreis U, Romeiro FG, Americo MF, Oliveira RB, Baffa O, et al. Magnetic images of the disintegration process of tablets in the human stomach by ac biosusceptometry. *Physics in Medicine & Biology*. 2005;50(23):5523-34.
36. Cora LA, Romeiro FG, Americo MF, Oliveira RB, Baffa O, Stelzer M, et al. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006;27(1):1-8.
37. Corá LA, Romeiro FG, Paixao FC, Américo MF, Oliveira RB, Baffa O, et al. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC biosusceptometry. *Pharmaceutical Research*. 2006;23(8):1809-16.
38. Corá LA, Fonseca PR, Stelzer M, Paixão FC, Romeiro FG, Américo MF, et al. Magnetic multiparticulate colonic delivery systems evaluated by AC Biosusceptometry. *International Congress Series*. 2007;1300:303-6.

39. Cora LA, Fonseca PR, Americo MF, Oliveira RB, Baffa O, Miranda JR. Influence of compression forces on tablets disintegration by AC Biosusceptometry. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008;69(1):372-9.
40. Moraes R, Corá L, Américo M, Oliveira R, Baffa O, Miranda J. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC biosusceptometry. *Physiological Measurement*. 2003;24(2):337.
41. Americo M, Oliveira R, Romeiro FG, Baffa O, Corá L, Miranda J. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. *Neurogastroenterology & Motility*. 2007;19(10):804-11.
42. Andreis U, Americo MF, Cora LA, Oliveira RB, Baffa O, Miranda JRA. Gastric motility evaluated by electrogastrography and alternating current biosusceptometry in dogs. *Physiological Measurement*. 2008;29(9):1023.
43. Américo MF, Oliveira RB, Corá LA, Marques RG, Romeiro FG, Andreis U, et al. The ACB technique: a biomagnetic tool for monitoring gastrointestinal contraction directly from smooth muscle in dogs. *Physiological Measurement*. 2009;31(2):159.
44. Americo MF, Marques RG, Zandoná E, Andreis Ud, Stelzer M, Corá LA, et al. Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction. *Neurogastroenterology & Motility*. 2010;22(12):1340-e374.
45. Quini CC, Américo MF, Corá LA, Calabresi MF, Alvarez M, Oliveira RB, et al. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. *Journal of Biological Engineering*. 2012;6(1):6.
46. Matos JF, Americo MF, Sinzato YK, Volpato GT, Corá LA, Calabresi MFF, et al. Role of sex hormones in gastrointestinal motility in pregnant and non-pregnant rats. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(25):5761.
47. Calabresi M, Quini C, Matos J, Moretto G, Americo M, Graça J, et al. Alternate current biosusceptometry for the assessment of gastric motility after proximal gastrectomy in rats: a feasibility study. *Neurogastroenterology & Motility*. 2015;27(11):1613-20.
48. Próspero AG, Quini CC, Bakuzis AF, Fidelis-de-Oliveira P, Moretto GM, Mello FP, et al. Real-time in vivo monitoring of magnetic nanoparticles in the bloodstream by AC biosusceptometry. *Journal of Nanobiotechnology*. 2017;15(1):22.
49. Quini CC, Próspero AG, Calabresi MF, Moretto GM, Zufelato N, Krishnan S, et al. Real-time liver uptake and biodistribution of magnetic nanoparticles determined by AC biosusceptometry. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2017;13(4):1519-29.
50. Soares G, Próspero A, Calabresi M, Rodrigues D, Simoes L, Quini C, et al. Multichannel AC Biosusceptometry system to map biodistribution and assess the pharmacokinetic profile of magnetic nanoparticles by imaging. *IEEE Transactions on NanoBioscience*. 2019.
51. Quini CC, Matos JF, Próspero AG, Calabresi MFF, Zufelato N, Bakuzis AF, et al. Renal perfusion evaluation by alternating current biosusceptometry of magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2015;380:2-6.
52. Próspero A, Soares G, Moretto G, Quini C, Bakuzis A, Miranda J. Dynamic cerebral perfusion parameters and magnetic nanoparticle accumulation assessed by AC biosusceptometry. *Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik*. 2020;65(3):343-51.
53. Próspero AG, Fidelis-de-Oliveira P, Soares GA, Miranda MF, Pinto LA, dos Santos DC, et al. AC biosusceptometry and magnetic nanoparticles to assess doxorubicin-induced kidney injury in rats. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*. 2020;15(05):511-25.
54. Kluth T. Mathematical models for magnetic particle imaging. *Inverse Problems*. 2018;34(8):083001.
55. Föcke J, Baumgarten D, Burger MJIP. The inverse problem of magnetorelaxometry imaging. 2018;34(11):115008.
56. Wiekhorst F, Baumgarten D, Haberkorn W, Steinhoff U, Haueisen J, Bär M, et al., editors. A physical phantom modeling extended magnetic nanoparticle distributions in biological systems.

World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, September 7-12, 2009, Munich, Germany; 2009: Springer.

57. Rahmer J, Halkola A, Gleich B, Schmale I, Borgert J. First experimental evidence of the feasibility of multi-color magnetic particle imaging. *Physics in Medicine & Biology*. 2015;60(5):1775.
58. Miranda JR, Baffa O, de Oliveira RB, Matsuda NM. An AC biosusceptometer to study gastric emptying. *Medical Physics*. 1992;19(2):445-8.
59. Miranda JRA, Oliveira RB, Sousa PL, Braga FJH, Baffa O. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. *Physics in Medicine & Biology*. 1997;42(9):1791-9.
60. Ota S, Yamada T, Takemura Y. Magnetization reversal and specific loss power of magnetic nanoparticles in cellular environment evaluated by AC hysteresis measurement. *Journal of Nanomaterials*. 2015;2015.
61. Chen D-X, Sanchez A, Taboada E, Roig A, Sun N, Gu H-C. Size determination of superparamagnetic nanoparticles from magnetization curve. *Journal of Applied Physics*. 2009;105(8):083924.
62. Bastuscheck C, Williamson S. Technique for measuring the ac susceptibility of portions of the human body or other large objects. *Journal of Applied Physics*. 1985;58(10):3896-906.
63. Hanson JD, Hirshman SP. Compact expressions for the Biot–Savart fields of a filamentary segment. *Physics of Plasmas*. 2002;9(10):4410-2.
64. Tu L, Klein T, Wang W, Feng Y, Wang Y, Wang J-P. Measurement of Brownian and Néel relaxation of magnetic nanoparticles by a mixing-frequency method. *IEEE Transactions on Magnetics*. 2012;49(1):227-30.
65. Deissler RJ, Martens MA, Wu Y, Brown R, editors. Brownian and Néel relaxation times in magnetic particle dynamics. 2013 International Workshop on Magnetic Particle Imaging (IWMPPI); 2013: IEEE.
66. Dieckhoff J, Eberbeck D, Schilling M, Ludwig F. Magnetic-field dependence of Brownian and Néel relaxation times. *Journal of Applied Physics*. 2016;119(4):043903.
67. Liebl M, Wiekhorst F, Eberbeck D, Radon P, Gutkelch D, Baumgarten D, et al. Magnetorelaxometry procedures for quantitative imaging and characterization of magnetic nanoparticles in biomedical applications. *Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik*. 2015;60(5):427-43.
68. Knopp T, Biederer S, Sattel T, Buzug TM, editors. Singular value analysis for magnetic particle imaging. 2008 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record; 2008: IEEE.
69. Mukaka MM. A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*. 2012;24(3):69-71.