



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
UNICAMP**

**Dissertação de Mestrado**

**APLICAÇÕES DA RADIOGRAFIA POR  
CONTRASTE DE FASE EM TECIDOS DE MAMA**

***IN VITRO***

*Este exemplar corresponde à versão final da dissertação de Mestrado defendida pelo aluno José Renato Linares Mardegan e aprovada pela comissão julgadora.*

*Campinas, 19 de Fevereiro de 2009.*

**Aluno:** José Renato Linares Mardegan *Carlos Giles*

**Orientador:** Carlos Manuel Giles Antúnez de Mayolo  
DFMC / IFGW / UNICAMP

**CAMPINAS, FEVEREIRO DE 2009**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO IFGW - UNICAMP**

M334a	<p>Mardegan, José Renato Linares</p> <p>Aplicações da radiografia por contraste de fase em tecidos de mama <i>in vitro</i> / José Renato Linares Mardegan. -- Campinas, SP : [s.n.], 2009.</p> <p>Orientador: Carlos Manuel Giles Antúnez de Mayolo. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física "Gleb Wataghin".</p> <p>1. Radiografia por contraste de fase. 2. Mamografia. 3. Mama - Câncer. 4. Raios X – Difração. 5. Radiação sincrotrônica. I. Antúnez de Mayolo, Carlos Manuel Giles. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Física "Gleb Wataghin". III. Título.</p> <p>(vsv/ifgw)</p>
-------	---

- **Título em inglês:** Applications of phase contrast imaging to breast tissues in vitro
- **Palavras-chave em inglês (Keywords):**
  1. Phase contrast radiography
  2. Mammography
  3. Breast – Cancer
  4. X Ray – Diffraction
  5. Synchrotron radiation
- **Área de Concentração:** Física da Matéria Condensada
- **Titulação:** Mestre em Física
- **Banca examinadora:**

Prof. Carlos Manuel Giles Antúnez de Mayolo  
Prof. Marcelo Baptista de Freitas  
Prof. Roberto José Maria Covolan
- **Data da Defesa:** 19/02/2009
- **Programa de Pós-Graduação em:** Física



MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE Mestrado DE **JOSÉ RENATO LINARES MARDEGAN – RA 024143** APRESENTADA E APROVADA AO INSTITUTO DE FÍSICA “GLEB WATAGHIN”, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, EM 19 / 02 / 2009.

**COMISSÃO JULGADORA:**

---

Prof. Dr. Carlos Manuel Giles Antúnez de Mayolo  
Presidente da Comissão Julgadora  
DFMC/IFGW/UNICAMP

---

Prof. Dr. Marcelo Baptista de Freitas – UNIFESP

---

Prof. Dr. Roberto José Maria Covolan - DRCC/IFGW/UNICAMP

## **Agradecimentos**

Sou grato ao Prof. Carlos Giles, meu orientador que me acompanha desde minha iniciação científica, pela sua atenção, incentivo e amizade. Também a sua grande paciência e em ensinar.

Ao Prof. Marcelo Freitas pela disposição e também as suas ideias em melhorar e incentivar a realização deste trabalho. À Prof. Gabriela Castellano pela ajuda com o tratamento das imagens.

Ao Prof. Irineu Mazzaro, ao Henrique Rocha, ao Guinther Kellerman e a Gabriela Pereira pelas colaborações e discussões nos experimentos realizados no LNLS.

Ao Dr. César Cabello do Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher (CAISM - UNICAMP) pelas discussões referentes ao câncer de mama e também pelo fornecimento dos tecidos de mama.

Agradeço ao Carlos Leite, à Ana Carolina e ao José Luiz, funcionários do Laboratório de Cristalografia, que me apoiaram e ajudaram nestes anos de minha pesquisa. Aos colegas de laboratório Júlio, Leticia e Guilherme pela toda a sua ajuda e disposição.

Aos meus amigos da minha cidade natal, Juninho, “Pido”, Fábio, Tarcízio, “Presunto”, “Tomatinho”, Vicente, Fiorelli, “Mike”, “Tampa”, Lígia e “Boo” pelos anos de amizade e pelas horas de diversão. A minha “terceira” avó Teresa pelos seus convites para a ceia de natal e ano novo.

Aos meus amigos que conheci na faculdade Valéria, Chris, João, Juliana, Wyllerson, Douglas, “Belém”, Gilberto e Juliano. Com certeza não vou esquecer-los, principalmente nas horas de provas e resoluções de listas. Aos amigos que nestes últimos anos estiveram sempre presentes em qualquer ocasião Sato, Luis, Larissa e Santarelli.

Ao meu amigo de muitos anos Guilherme que além de sua amizade na faculdade foi um companheiro em todas as horas.

Agradeço em especial à minha namorada Imara pela sua paciência, carinho e incentivo em tornar-me a pessoa que sou hoje que com certeza exigiu grande esforço e tempo de sua parte.

Aos meus pais Maria Antônia e Camilo, à minha irmã Camila, à minha tia Rosana e ao meu cunhado Daniel pelo esforço, compreensão e incentivo durante estes anos de minha pesquisa.

À FAPESP e ao CNPq pelo suporte financeiro e ao LNLS pelo suporte técnico.

## Resumo

Esta dissertação de mestrado teve por objetivo a realização de imagens pela técnica de imagens por contraste de fase utilizando o método de imagens realçadas por difração (IRD) para analisar amostras histológicas de mama *in vitro*. Os sistemas para produção das IRD foram desenvolvidos utilizando um gerador convencional no Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios X (LCARX - UNICAMP) e também com radiação síncrotron no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (XRD2 - LNLS). As amostras estudadas foram corpos de provas, um inseto e tecidos de mama com carcinoma lobular invasivo e carcinoma ductal invasivo fornecidas pelo Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher (CAISM - UNICAMP).

As imagens foram realizadas pelo método convencional e também pelo método de IRD. As imagens realçadas por difração de corpos de prova, do inseto e dos tecidos com câncer de mama mostraram resolução superior ao comparadas com imagens convencionais principalmente das interfaces entre tecidos em uma amostra, o que resulta em um diagnóstico mais preciso do paciente. As imagens obtidas pelo método IRD apresentam contraste, visibilidade e razão-sinal ruído muito superiores quando comparados com as imagens obtidas pela técnica convencional de absorção. A imagem obtida do tecido com carcinoma lobular invasivo apresentou maiores detalhes ao compará-la com a imagem convencional porém não foi possível visualizar precisamente as bordas do tumor.

As imagens realçadas por difração têm qualidade superior devido à utilização de um cristal analisador colocado após a amostra. Este cristal funciona como uma estreita fenda angular resultando em imagens com ganho de contraste em relação às imagens pelos métodos convencionais.

Utilizando o algoritmo de tratamento das IRD foram obtidas as imagens de Absorção Aparente e Refração ajustando o cristal analisador em diferentes posições da curva de difração e não apenas na posição de meia altura da curva de refletividade. A escolha de diferentes posições da curva mostrou que as imagens de absorção aparente, refração e as imagens obtidas nestes flancos ganham em resolução quando ajustadas para posições distantes do topo. Valores calculados para os parâmetros sinal ruído borda e visibilidade em imagens obtidas em posições distantes do topo chegaram a ser cerca de dez vezes maiores que nas imagens convencionais para as amostras de corpos de prova. Isto ocorre porque o cristal analisador está selecionando diferentes feixes refratados na amostra.

## **Abstract**

In this dissertation we have produced in vitro breast images by a phase contrast imaging technique using the diffraction enhanced imaging (DEI) method. The DEI setup was implemented both at the X-ray applied Crystallography Laboratory (LCARX) using a conventional generator and at the XRD2 beamline of the Brazilian National Synchrotron Light Laboratory (LNLS) in Campinas. Two types of breast cancer were investigated from breast tissues provided by the University Center for Women Health (CAISM-UNICAMP) through collaboration with a professional mastologist: invasive lobular carcinoma and invasive ductal carcinoma. Other images were performed on well characterized test objects and biological samples.

The images obtained were compared with images obtained by the conventional absorption contrast method. The diffraction enhanced images of test objects, insect and breast tissues with cancer showed higher resolution as compared with the conventional images mainly from the boundaries of the sample.

The tissue with invasive lobular carcinoma had details increased when compared with a conventional image, but it was not possible to clearly visualize the interfaces of the tumour in this case. The diffraction enhanced images had higher quality because this system uses an analyzer crystal placed after the sample. This crystal serves as a narrow angular slit which resulted in images with gain in contrast as compared to the conventional images methods.

The DEI algorithm to obtain two new images so called “Apparent Absorption” and “Refraction” images were used to the breast tissue and test objects images taken at symmetrical half intensity sides of the rocking curve. Furthermore, this algorithm was also used to images taken at symmetrical positions of the analyzer further away from the top resulting in images with higher resolution and signal to noise ratio.

## Abreviaturas

ALS	Advanced Light Source
APS	Advanced Photon Source
BI-RADS	Breast Image Reporting and Data System
BRCA	Breast Cancer
CAISM	Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher
CdA	Contraste de Área
CDI	Carcinoma Ductal Invasivo
CDIS	Carcinoma Ductal <i>In Situ</i>
CLI	Carcinoma Lobular Invasivo
CLIS	Carcinoma Lobular <i>In Situ</i>
DEI	Diffraction Enhanced Imaging
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ESRF	European Synchrotron Radiation Facility
EUA	Estados Unidos da América
FWHM	Full Width at Half Maximum
ICF	Imagem por Contraste de Fase
ID	Insertion Device
IFGW	Instituto de Física Gleb Wataghin
IRD	Imagem Realçada por Difração
LCARX	Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios X
LNLS	Laboratório Nacional de Luz Síncrotron
MDM2	Murine Double Minute
NSLS	National Synchrotron Light Source
RCF	Radiografia por Contraste de Fase
RCLS	Radiografia Convencional por Luz Síncrotron
RNA	Ribonucleic Acid
PHASY	Phase Analyzer System
SNR	Signal to Noise Ratio
SSRL	Stanford Synchrotron Radiation Lightsource
SYRMEP	SYnchrotron Radiation for MEDical Physics
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
V	Visibilidade
XRD	X Ray Diffraction

**ÍNDICE**

<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>iii</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1 CÂNCER .....</b>	<b>3</b>
1.1 Introdução .....	3
1.2 Origem da neoplasia .....	4
<b>2 CÂNCER DE MAMA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Introdução .....	7
2.2 Estimativas do câncer de mama .....	8
2.3 Fatores de risco.....	8
2.4 Carcinomas de mama .....	9
2.4.1 Carcinoma <i>In Situ</i> .....	10
2.4.2 Carcinoma Invasivo.....	10
<b>3 MAMOGRAFIA .....</b>	<b>12</b>
3.1 Introdução .....	12
3.2 A mamografia.....	12
3.2.1 Radiografia da Mama .....	13
3.3 BI-RADS.....	15
<b>4 RAIOS X.....</b>	<b>16</b>
4.1 Introdução .....	16
4.2 Coerência .....	16
4.2.1 Coerência Longitudinal .....	17
4.2.2 Coerência Transversal .....	17
4.3 Fontes de raios X.....	18

4.3.1	Tubos de raios X .....	18
4.3.1.1	Produção dos raios X .....	19
4.3.1.2	Espectros dos raios X .....	20
4.3.2	Fontes de microfoco .....	22
4.3.3	Fontes síncrotron .....	24
4.3.3.1	Histórico .....	24
4.3.3.2	Produção da radiação síncrotron .....	25
4.4	Interação dos raios X com a matéria .....	27
4.4.1	Espalhamento .....	29
4.4.1.1	Espalhamento por um elétron .....	29
4.4.1.2	Espalhamento por um átomo .....	30
4.4.1.3	Espalhamento por um cristal .....	31
4.4.2	Absorção .....	33
<b>5</b>	<b>FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....</b>	<b>35</b>
5.1	Princípios da técnica de Imagens por Contraste de Fase .....	35
5.2	Métodos que exploraram o Contraste de Fase .....	39
5.2.1	Método de propagação .....	39
5.2.2	Interferômetro de raios-X .....	41
5.2.3	Imagens Realçadas por Difração (IRD) .....	44
5.2.3.1	Formação do contraste pela variação de fase da frente de onda .....	45
5.2.3.2	Formação do contraste pelos feixes desviados .....	46
5.3	Princípios das Imagens Realçadas por Difração .....	49
5.3.1	Imagens de Absorção Aparente e Refração .....	51
<b>6</b>	<b>REALIZAÇÃO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>54</b>
6.1	Materiais e métodos .....	54
6.1.1	Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios-X .....	54
6.1.2	Laboratório Nacional de Luz Síncrotron .....	57
6.2	Amostras .....	61
<b>7</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>63</b>
7.1	Resultados obtidos no LCARX .....	63
7.2	Resultados obtidos no LNLS .....	66
7.2.1	Imagens de corpo de provas .....	67
7.2.2	Imagens de tecidos mamários .....	79
7.2.3	Imagens de um inseto .....	85
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>86</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>88</b>

## Introdução

Com os avanços tecnológicos dos últimos anos, as fontes de raios X que no início da sua descoberta eram incoerentes, em breve terão coerência espacial comparada com a de um laser <sup>[1]</sup>. Este tipo de feixe altamente coerente poderá gerar imagens que não dependem apenas da diferença de absorção do objeto pelo feixe, mas também das interferências que estes sofrem ao atravessarem materiais com densidades eletrônicas diferentes. As interferências das ondas geradas no objeto são decorrentes da variação de caminho óptico (ou mudança de fase) que o feixe sofre ao atravessar um objeto e também devido às variações do índice de refração presentes.

Este método de obtenção de imagens em que a fase da onda é explorada para criar o contraste tem sido largamente estudado principalmente em áreas em que os objetos visualizados apresentam pouco contraste pelas diferenças de absorção da amostra. Uma área que tem grande potencial para este método é a radiologia de mama (mamografia) pois os tecidos que compõem a mama apresentam pouca variação de densidade (ou pouca diferença entre os coeficientes de atenuação), o que torna o contraste na imagem muito pobre.

As imagens que utilizam o contraste devido à variação de fase da onda no objeto recebem o nome de Imagens por Contraste de Fase. A geração do contraste pela fase da onda pode ser explorada utilizando vários métodos. Nesta dissertação será descrito em detalhes o método de Imagens Realçadas por Difração. Outros métodos possíveis encontram-se brevemente descritos nesta dissertação.

Na primeira parte desta dissertação, discute-se a origem do câncer em geral assim como algumas de suas características morfológicas em relação ao tecido sadio.

Na segunda seção, discute-se o câncer de mama feminino, tratando as estimativas de câncer para a população mundial e brasileira para os próximos anos, os fatores de risco desta patologia e os principais tipos de carcinoma que afetam as mamas.

Na terceira seção, o assunto abordado é a mamografia, onde será descrito o exame de mama e também a periodicidade com que uma mulher deve realizar este exame. Também se comparam a mamografia com outros métodos de imagens médicas tais como o ultrassom e a ressonância magnética e a forma de diagnosticar as lesões no órgão mamário.

Na seção quatro, descrevem-se as fontes de raios X, discutindo suas principais propriedades para produzir imagens por contraste de fase e também a interação que o feixe sofre com a matéria.

Na quinta seção, discutem-se os fundamentos teóricos necessários para a formação do contraste de fase assim como os métodos que exploram a fase para gerar o contraste nas imagens e nos aprofundamos no método de imagens realçadas por difração.

Na sexta seção, discute-se a realização experimental como os materiais, amostras e equipamentos utilizados para a produção de imagens por contraste de fase.

Na sétima seção, mostram-se e discutem-se os resultados experimentais obtidos tanto no laboratório de Luz Síncrotron quanto no laboratório de Cristalografia. Vários parâmetros das imagens são investigados.

Na última seção resume-se o trabalho realizado nesta dissertação assim como algumas perspectivas de futuros trabalhos nesta área como a criação de novas fontes de raios X com alta coerência espacial e a utilização de fontes microfocos em ambientes hospitalares.

# 1 Câncer

## 1.1 Introdução

A palavra tumor é usada para denotar todos os tipos de neoplasias (do grego *neós*, novo + *plásis*, formação). Dentre essas patologias, os tumores podem ser divididos em benignos ou malignos. O tumor maligno é mais conhecido como câncer <sup>[2]</sup>.

Tanto tumores benignos quanto malignos utilizam o sufixo **-oma** e o radical das células de onde tiveram sua origem para denotar a doença <sup>[3]</sup>, como por exemplo o osteoma (tumor maligno que surge nos osteoblastos – células do tecido ósseo) e o condroma (tumor benigno que surge nas células do tecido cartilaginoso). Apesar desta semelhança em termos de nomenclatura, eles apresentam muitas diferenças entre si, principalmente, morfológica e histológica.

**Tumores benignos:** na maioria dos casos não são letais e não causam sérios danos ao paciente. Esses tumores apresentam uma taxa de proliferação baixa (baixo índice mitótico – baixa taxa de divisão celular), o que resulta em um crescimento lento. As células das neoplasias benignas são muitas vezes bem diferenciadas o que resulta em células tumorais quase indistinguíveis das células saudáveis. Outra importante característica é que os tumores benignos não possuem a capacidade de se infiltrar ou criar metástases<sup>I</sup> em outros tecidos. Muitas vezes o tecido tumoral benigno forma uma cápsula fibrosa (estroma adjacente – tecido de sustentação) em torno de si, o que torna a sua remoção cirúrgica mais fácil.

**Tumores malignos:** mais conhecidos como câncer. Estes tumores apresentam uma alta taxa de proliferação celular o que resulta em um crescimento muito mais rápido do que as lesões benignas. As células malignas podem ser tanto diferenciadas como também indiferenciadas<sup>II</sup>. Devido ao rápido crescimento celular, o tecido de sustentação (formado por tecido conjuntivo) e a vascularização não acompanham o crescimento da massa cancerígena e com isso regiões mais internas do tumor não recebem nutrientes suficientes, o que pode gerar muitas vezes em necroses, hemorragias e ulcerações.

Os tumores malignos podem ser classificados de várias maneiras, algumas delas são citadas a seguir:

---

<sup>I</sup> Propagação de células neoplásicas, provenientes de uma massa tumoral, da localização original para qualquer outra parte do corpo, formando focos secundários da doença.

<sup>II</sup> Células com aspecto primitivo, não se assemelhando as células saudáveis ao redor.

- Carcinomas: câncer que se forma a partir de qualquer uma das três camadas epiteliais, como na pele ou nas mucosas (tecido de revestimento);
- Sarcoma: câncer que tem origem no tecido conjuntivo (tecido de sustentação como osso e cartilagem);
- Linfoma: câncer que se origina nas células do tecido imunológico (os linfócitos);
- Leucemia: câncer que se origina nos glóbulos brancos (os leucócitos).

Dentre esses quatro tipos de tumores malignos, neste trabalho se enfatizou o estudo do carcinoma, pois este está presente no câncer de mama.

Muitas vezes as células tumorais podem ser bem diferentes das células saudáveis. Numa análise citológica<sup>III</sup>, há uma grande diversidade quanto à forma e o tamanho das células tumorais (pleomorfismo<sup>IV</sup>) em relação às normais. Outra característica importante é a proporção do tamanho núcleo: citoplasma. Numa célula normal essa relação é de 1:4 ou de 1:6, já nas células tumorais essa razão pode chegar a 1:1<sup>[4]</sup>.

Além da diferença morfológica, pode-se encontrar em células patogênicas a ausência de funções. Como por exemplo nas células que excretam algum tipo de hormônio; as células mutagênicas podem não excretar ou excretar em quantidades anormais o que pode causar outra anomalia.

A principal diferença entre as células malignas e as benignas é a capacidade do tecido cancerígeno de produzir metástases, o que em muitos casos leva o paciente à morte. Isto ocorre porque os novos focos da patologia podem se espalhar por diversos lugares através da corrente sanguínea e também pelo sistema linfático. Uma das causas da migração destas células é que elas perdem a comunicação umas com as outras e a adesão entre elas. Quando células normais *in vitro* são colocadas em meio de cultura, elas se dividem até formarem uma monocamada de células. Já quando há a presença de células tumorais neste meio, a capacidade de formar apenas uma única camada é perdida, neste caso se forma aglomerado de células normais e tumorais<sup>[2]</sup>.

## 1.2 Origem da neoplasia

Dentro de cada célula animal eucarionte que não está em processo de divisão celular está presente o núcleo, dentro do qual fica armazenada a cromatina. Essa por sua vez é formada por

---

<sup>III</sup> Estudo a nível celular, onde se utiliza um microscópio óptico.

<sup>IV</sup> Vários tamanhos e forma do núcleo celular e também da célula como um todo.

sequência de ácido desoxirribonucléico (DNA - sigla em inglês) e proteínas. A fita de DNA adquire uma forma em dupla hélice devido às ligações presentes entre as bases nitrogenadas Adenina (A) e Timina (T), Guanina (G) e Citosina (C). Uma trinca dessas bases nitrogenadas é denominada por códon, que tem a função de codificar um aminoácido cuja sequência resultará na formação de uma proteína.

As neoplasias podem surgir a partir de uma única célula que teve seu DNA celular lesionado pela ação de algum agente ambiental como agentes químicos, radiação e até mesmo por meio de um vírus <sup>[2,4]</sup>. Mas essas lesões também podem ser herdadas pela linhagem germinativa <sup>[3,4]</sup>. O DNA e as proteínas presentes no núcleo são os principais alvos de agentes químicos devido eles possuírem regiões ricas em elétrons <sup>[4]</sup>.

O dano causado pela radiação produz lesões celulares inativando enzimas e induzindo mutações celulares. A maior parte destas lesões acontece de forma indireta na fita de DNA (apenas 35% dos danos são diretos); essas lesões decorrem da produção de radicais livres, que causam danos a fita (65% dos danos são indiretos) <sup>[5]</sup>. O principal produto que gera radicais livres é a água.

Os vírus causam lesões pois podem inserir uma sequência viral na fita de DNA causando uma alteração na sequência de bases nitrogenadas, o que pode inativar genes diretamente ou influenciar sua expressão gênica, como a formação de alguma proteína <sup>[2]</sup>.

Todo tumor, independente de ser benigno ou maligno, tem sua origem através de alguma mutação gênica sofrida na célula. Mas nem todas as células mutantes dão origem às neoplasias, pois em seus núcleos existem proteínas capazes de avaliar e reparar os danos sofridos na fita de dupla hélice. Essas proteínas são produzidas a partir de genes localizados no DNA.

Se esse gene estiver danificado a proteína produzida poderá ter sua função de regulação comprometida ou alterada. Um exemplo disso é o gene p53, que codificada a proteína também de nome p53, que é conhecido como *gene supressor de tumor*. A proteína p53 se localiza no núcleo das células e o gene p53 está localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1). A função fisiológica dessa proteína é regular o crescimento celular impedindo que células mutantes entrem em divisão que podem assim formar um aglomerado celular (neoplasias). Análises em tumores humanos mostram que mais de 50% das células apresentam o p53 com alterações gênicas <sup>[3,4]</sup>.

A proteína p53 é responsável pela interrupção do ciclo celular e pela morte das células (apoptose) que sofreram dano e não puderam ser corrigidas. Quando uma lesão é identificada no

DNA, a proteína p53 é fosforilada<sup>V</sup> e conseqüentemente há um rápido aumento de seus níveis no núcleo. Este acúmulo faz com que haja ativação de outros genes que produzem proteínas envolvidas no reparo e na interrupção do ciclo celular. A pausa no ciclo celular ocorre no final da fase G1 (fase de síntese de RNA e proteínas) quase no começo da fase S (fase de síntese do DNA). Com essa interrupção as células têm tempo suficiente para se corrigir. Se o reparo do DNA ocorrer de forma correta o gene MDM2 produz uma proteína de mesmo nome que degrada a p53 <sup>[3,4,6]</sup> e a célula continua seu ciclo gerando novas células.

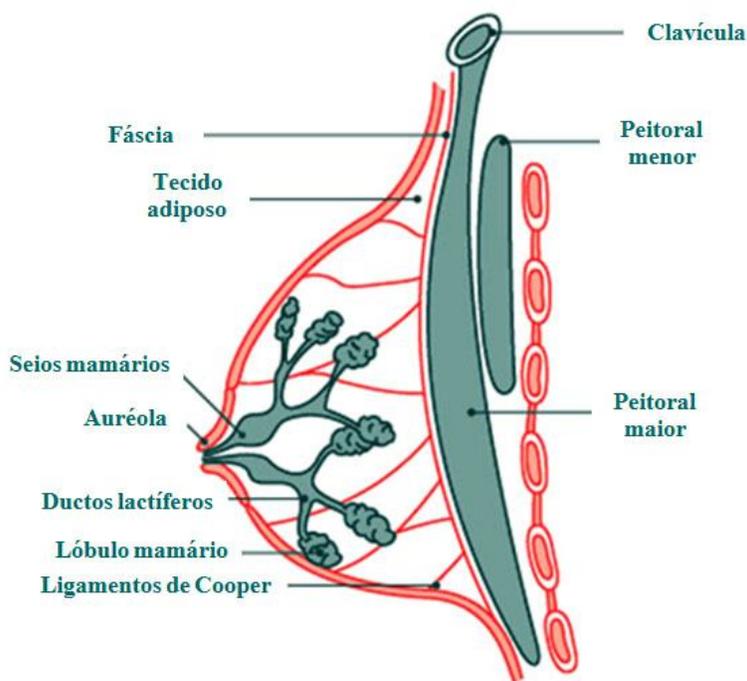
---

<sup>V</sup> *Adição de uma molécula de fosfato ( $PO_4$ ) em certas proteínas ativando sua função, devido à mudança morfológica ocorrida pela incorporação da molécula de fosfato a proteína.*

## 2 Câncer de mama

### 2.1 Introdução

O câncer de mama é uma das doenças nocivas mais comuns entre as mulheres no mundo todo <sup>[7]</sup>, ficando atrás apenas do câncer de pele em número de incidência em mulheres no Brasil, mas o primeiro em número de óbitos <sup>[8]</sup>. Essa é uma doença causada pelas células que tem uma disfunção celular na sua divisão ou por mudanças sofridas na sua morfologia. Muitos tipos de células tumorais formam uma massa ou nódulos chamados de tumor. O câncer de mama masculino é muito menos abordado devido a sua baixa incidência. Para cada mil homens apenas um desenvolverá a doença.



**Figura 1:** Anatomia da mama feminina.

O câncer de mama tem sua origem no tecido mamário que é formado por glândulas produtoras de leite, chamados de lóbulos mamários, os ductos que conectam os lóbulos ao mamilo, seios lactíferos (armazena o leite), ligamentos de Cooper (sustentação da mama), gordura, tecido conjuntivo (proteção e sustentação da mama) e linfático <sup>[9]</sup> (Figura 1).

## 2.2 Estimativas do câncer de mama

Por volta de 1983, países da Europa ocidental e os EUA registraram que cerca de uma em cada quatorze mulheres desenvolveria câncer de mama ao longo da vida. Nove anos mais tarde este índice se tornou uma em cada nove mulheres <sup>[10,11]</sup>

Estudos mais recentes indicam que uma em cada oito mulheres desenvolverá câncer de mama ao longo da vida <sup>[12]</sup>. Já para os países do hemisfério norte o número ainda é pior, onde uma em cada seis mulheres desenvolverá câncer de mama <sup>[11]</sup>. No ano 2000 foram registrados cerca de 6,2 milhões de mortes de câncer no mundo inteiro, o que correspondeu a 375 mil mortes somente pelo câncer de mama <sup>[7]</sup>.

No ano de 2005, o índice foi ainda mais alarmante. Neste período houve um aumento do número de mortes, sendo que o câncer foi responsável por 7,6 milhões de mortes no mundo todo o que contabilizou em 502 mil óbitos <sup>[8]</sup> devido ao câncer de mama. Estimativas indicam que para o ano 2020 o índice de mortes devido ao câncer pode atingir entre 15 a 16 milhões e os óbitos somente pelo câncer de mama apenas em mulheres ultrapassará os 6 milhões <sup>[8,13]</sup>.

No Brasil, o número de casos novos de câncer de mama estimados para o ano de 2008 é de 49.400, o que equivale a um risco esperado de 51 casos a cada 100 mil mulheres, já em 2003 eram esperados 46 casos <sup>[8]</sup>. Na região Sudeste, este é o tipo de câncer mais incidente entre as mulheres com um risco estimado de 68 casos novos para 100 mil mulheres <sup>[8,11]</sup>.

## 2.3 Fatores de risco

Fatores importantes que aumentam o risco da ocorrência de câncer de mama em mulheres incluem a idade da paciente, gravidez tardia (após os 30 anos de idade), menarca precoce (antes dos 11 anos de idade), menopausa tardia (após os 55 anos de idade), obesidade, alcoolismo, terapia com reposição hormonal (hormonoterapia), casos de tumores de mama na família e entre outros <sup>[3,4,7,8,10,14,15,16]</sup>.

A idade tem grande influência, pois em mulheres com idade inferior aos 25 anos raramente são encontradas neoplasias, apenas em casos onde já há incidência da doença na família. A grande preocupação se encontra nas mulheres acima dos 50 anos porque a chance delas desenvolverem essa doença pode chegar à cerca de 77%.

A gravidez tardia, a menarca precoce, a menopausa tardia e a reposição hormonal estão ligadas a ocorrência de câncer de mama devido ao aumento do nível de estrogênio no corpo feminino. Existem duas evidências do surgimento de câncer de mama devido à presença deste hormônio. Uma delas relaciona que as células tumorais têm receptores de estrógeno que com a

presença deste hormônio no meio, muitas células podem se multiplicar mais rapidamente e na sua ausência, as células podem se reproduzir vagarosamente e em alguns casos as massas cancerosas podem até reduzir de tamanho. Outra evidência é que alguns metabólitos do estrogênio podem causar mutações e também gerar radicais livres que podem danificar a fita de DNA. Obesidade pode ser incluída também com relação aos hormônios, pois mulheres acima do peso e em período de pós-menopausa podem ter a síntese de estrogênio nos depósitos gordurosos <sup>[4]</sup>.

A presença de tumores em familiares está vinculada com a existência de mutações em dois genes, BRCA1 (Breast Cancer 1) e BRCA2 (Breast Cancer 2) <sup>[3,4,10]</sup>. O gene BRCA1, que se localiza no cromossomo 17, produz uma proteína de mesmo nome. Já o gene BRCA2, que também codifica a proteína de mesmo nome, está localizado no cromossomo 13. Além dos tumores de mama, esses dois genes também estão envolvidos em tumores de ovário. Ambos estão ligados ao processo de recombinação homóloga do reparo do DNA, em que as duas partes da fita quebrada são religadas com a ajuda da cromátide irmã, mantendo assim muitas vezes a integridade da fita de DNA.

Mutações nestes genes correspondem a cerca de 80% dos casos de câncer de mama entre familiares, mas somente em 3% de todos os tumores de mama há evidências em anormalidade com os genes BRCA1 e 2 <sup>[3,4]</sup>.

Por outro lado existem indícios de fatores que podem diminuir o risco de desenvolver câncer de mama. Entre eles estão a menarca após os 14 anos, a primeira gestação antes dos 30 anos, a menopausa em mulheres antes dos 45 anos, atividades físicas regulares e uma alimentação saudável <sup>[14]</sup>.

## 2.4 Carcinomas de mama

Com a descoberta precoce do câncer de mama há maior probabilidade de cura e a realização de tratamentos que não seja necessária à mutilação da mama. Os tumores não invasivos, também são conhecidos como tumores in situ, apresentam um índice de cura de aproximadamente 100%. Já os tumores invasivos de até 2 cm de diâmetros, apresentam um índice de cura de até 95%.

O câncer de mama mais comum entre as mulheres é o tipo Carcinoma que pode ser dividido em Carcinoma in situ e Carcinoma invasivo. Carcinoma in situ tem a sua malignidade restrita aos ductos e lóbulos mamários e por isso podem ser classificados em ductal ou lobular. Os carcinomas invasivos podem ser divididos além de ductal ou lobular em outras classificações, mas com taxa de incidência muito baixa em relação a este dois tipos.

A principal diferença entre o tumor invasivo e o tumor *in situ* é que o primeiro pode invadir os vasos linfáticos e sanguíneos e também podem produzir metástases. O carcinoma invasivo pode se tornar uma massa palpável e quando ele atinge este estágio mais da metade dos pacientes irão ter metástases nos linfonodos axilares <sup>[3,4]</sup>.

#### **2.4.1 Carcinoma *In Situ***

O Carcinoma Ductal *In Situ* (CDIS) corresponde de 15 a 30% dos carcinomas e consiste de um aglomerado de células malignas que não tem capacidade de invadir os tecidos ao redor e portanto são incapazes de fazer metástases <sup>[4]</sup>. Contudo essas células podem migrar não para regiões distantes da mama, mas sim podem migrar pelos ductos e se espalhar somente no tecido mamário. Este frequentemente apresenta-se com microcalcificações e algumas vezes se apresenta como uma massa palpável <sup>[3,4]</sup>. Como qualquer câncer de mama o CDIS deve ser diagnosticado rapidamente, pois algumas vezes ele pode se tornar um carcinoma invasivo, e também se a doença for detectada precocemente as chances de cura são muito altas (98%).

O Carcinoma Lobular *In Situ* (CLIS) representa 10 a 30% dos carcinomas *in situ*, e quase sempre, apresenta-se como uma lesão não palpável em mulheres na pré-menopausa. Suas células possuem um tamanho muito maior que as células normais. O CLIS é muitas vezes encontrado em biopsias devido à grande diferença entre as células saudáveis e as patogênicas e raramente ele é associado à presença de microcalcificações. As células do CLIS e do carcinoma lobular invasivo são quase idênticas na aparência e ambas não expressam uma proteína responsável pela adesão celular (e-caderina) <sup>[4]</sup>. Se não for tratado precocemente o CLIS pode-se tornar-se invasivo <sup>[3]</sup>. Outra característica deste tipo de lesão é que entre 50 e 70% dos casos de CLIS ambas as mamas são afetadas e 80 a 90% deste carcinoma ocorre em mulheres antes da menopausa <sup>[3,4,10]</sup>.

#### **2.4.2 Carcinoma Invasivo**

O Carcinoma Ductal Invasivo de nenhum tipo especial (CDI) é o tipo de carcinoma mais frequente, ele ocorre em 70 a 80% dos casos e tem um comportamento muito agressivo, com uma sobrevida de cinco anos em 60% dos pacientes <sup>[3]</sup>. O CDI se mostra muitas vezes como uma massa firme e densa. Eles podem apresentar tamanhos de até 5 cm de diâmetro, sendo que o seu tamanho médio varia entre 1 e 2 cm de diâmetro <sup>[10]</sup>. Uma complicação deste tumor é que ele pode alcançar o músculo da parede torácica e também pode ultrapassar a pele da mama criando assim ulcerações.

O Carcinoma Lobular Invasivo (CLI) apresenta uma baixa incidência representando 10% dos carcinomas invasores e além disso tem bom prognóstico, com taxa de sobrevivência de dez anos em 80 a 90% dos pacientes <sup>[3]</sup>. O CLI apresenta tendência à bilateralidade <sup>VI [3,4,10]</sup>. Muitas vezes ele se mostra como uma massa palpável ou uma lesão mal definida que produz poucas alterações na textura da mama e, por isso, não é detectado pela mamografia <sup>[3]</sup>. Como são do tipo invasivo podem frequentemente criar metástases para o fluido cérebro-espinhal, ovário e útero, o que torna o exame de mama precoce essencial para que se evite sua difusão <sup>[4]</sup>.

---

<sup>VI</sup> *As duas mamas são afetadas pela patogenicidade.*

## 3 Mamografia

### 3.1 Introdução

A mamografia (radiografia da mama) teve início em larga escala populacional com finalidade de detectar o câncer, inicialmente, na Islândia e em vários distritos da Suécia em 1987 [17].

A radiografia de mama ainda hoje é um dos melhores métodos de visualização de calcificações que estão presentes em 45 a 65% dos tumores malignos e em 20% dos benignos [18,19]. Apesar de a mamografia ser um método altamente utilizado em exames mamários (devido ao baixo custo e a melhor resolução em comparação a outros métodos), ela não consegue detectar cerca de 15 a 25% dos tumores presentes na mama.

Para mulheres com mamas densas, idade inferior aos 50 anos ou em tratamento de reposição hormonal, a sensibilidade da mamografia para detectar as neoplasias é ainda pior, por que cerca de 51 a 83% não são detectáveis [20].

Há cerca de 30 anos atrás, 75% das mulheres diagnosticadas com câncer de mama sobreviviam no mínimo 5 anos. Hoje em dia esse número já é de 90%. A mamografia consegue reduzir a mortalidade em 30 a 50%, entretanto este fator depende principalmente da detecção prematura da patologia [21].

### 3.2 A mamografia

O exame da mama em uma primeira avaliação pode ser feito pela própria mulher (auto-exame ou exame de toque) a partir dos 20 anos de idade numa regularidade mensal se prorrogando até os 39 anos [22,23]. Realizando-se também neste período o exame clínico de três em três anos [22,23]. Neste último exame, se o clínico identificar lesões na mama em mulheres com idade inferior aos 35 anos, é solicitada uma ultrassonografia, já se a idade da paciente for igual ou superior aos 35 anos, recomenda-se à realização da mamografia.

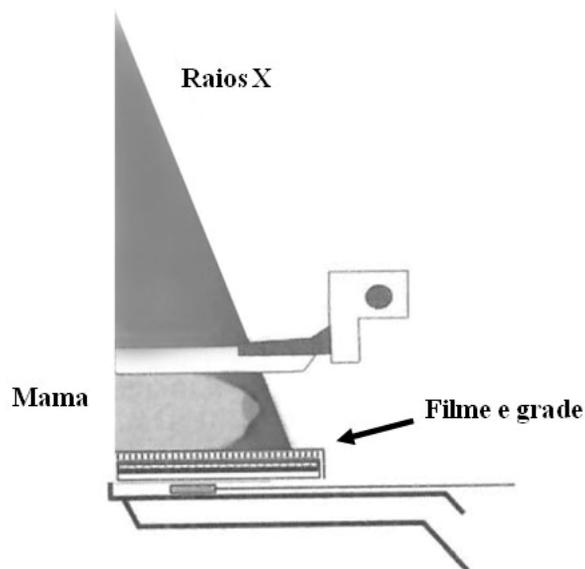
No Brasil a partir dos 40 anos se recomenda a realização de um exame mamográfico para as mulheres com periodicidade anual e a partir dos 35 anos caso já tenha ocorrido algum caso de câncer de mama na família [8, 22, 23,24].

### 3.2.1 Radiografia da Mama

A radiografia de mama convencional é realizada com o paciente em posição vertical de modo que a mama fique sobre um suporte que a comprime diretamente sobre uma mesa onde se têm grades (com a finalidade de diminuir o espalhamento) e em baixo o *cassete* contendo uma tela intensificadora com o filme de raios X <sup>[12]</sup>.

Essa compressão é feita de cima para baixo (*Figura 2*) e se faz necessária para que o órgão mamário tenha uma espessura quase que similar e também para que o feixe tenha que atravessar menores espessuras antes de chegar ao filme. Outros importantes fatores são que com a mama comprimida existirá menos raios X espalhados o que gera menos borramento na imagem além de uma redução da dose no tecido <sup>[12]</sup>.

A imagem radiográfica é uma projeção planar de todas as estruturas corporais tridimensionais, por este motivo muitas vezes lesões e regiões sadias sobrepõem-se espacialmente na imagem e não podem ser distinguidas facilmente. Técnicas tomográficas de raios X podem ser muito úteis nestes casos. Normalmente as regiões suspeitas de conter lesões são amplificadas e quando necessário realizam-se imagens em diferentes ângulos para se localizar espacialmente as anomalias. Em alguns casos é necessária a realização de exames de punção aspirativa por agulha fina (exame citológico) e a punção por agulha grossa ou “*core-biopsia*” (exame histopatológico) <sup>[17, 24]</sup>.



**Figura 2:** Esquema de uma mamografia com o órgão mamário comprimido. Modificado da referência <sup>[12]</sup>.

A mamografia é dividida em duas categorias, uma é a mamografia de rastreamento (ou de rotina) e a outra é mamografia diagnóstica [12,24]. A mamografia de rastreamento é uma modalidade de imagem para detectar tumores em estágios primários e em pequenos tamanhos que ainda não são apalpáveis e é uma modalidade para ter controle sobre as doenças de mama.

Na mamografia de rotina são feitas duas imagens da mama, uma médio-lateral oblíqua e uma crânio-caudal. Com a realização de duas imagens ao invés de uma há um aumento de 9% na probabilidade de se detectar o câncer de mama [25, 26].

A mamografia diagnóstica é um exame adicional que é requerido quando é encontrado algo suspeito numa mamografia de rotina. Este método é necessário para tentar diferenciar os tumores malignos dos benignos e para identificar a localização exata da área anormal dentro da mama. Esta técnica utiliza mais vistas do que uma mamografia de rotina e também faz uso de vistas magnificadas e muitas vezes justifica o uso de Ultrassonografias ou de imagens por Ressonância Magnética em casos mais complicados [12].

Imagens produzidas por Ultrassonografia e Ressonância Magnética, em particular devido a suas altas sensibilidades, têm mostrado boas imagens de tecidos de mama, além de não oferecerem riscos devido ao não uso de radiação ionizante [21]. Entretanto estas duas técnicas não conseguem detectar microcalcificações e pequenas formações de células tumorais nos ductos mamários, que é o tipo mais comum de câncer de mama, e com isso algumas anomalias não são detectadas num estágio prematuro [27]. Portanto estes dois métodos não podem ser usados independentemente para o diagnóstico e identificação de tumores, mas como uma complementação da técnica mamográfica.

O contraste numa imagem de mamografia é muito pequeno devido à baixa atenuação do tecido mamário ao feixe de raios X, resultando em imagens com pouco contraste e baixa resolução [28]. O problema de falsos diagnósticos (positivos ou negativos) é atual e necessita de progressos suplementares nas técnicas utilizadas.

Tecidos tumorais ou anomalias, principalmente em imagens de mama, não são perceptíveis quando se usa o método de obtenção das imagens através de tubos de raios X convencionais. Com o aprimoramento das técnicas de obtenção de imagens e dos equipamentos, está se desenvolvendo um método de aquisição de imagens que consegue detectar pequenas variações na densidade eletrônica dos tecidos usando o contraste de fase das ondas de raios X coerentes que atravessam diferentes tecidos. Este novo método é a Radiografia por Contraste de Fase (RCF), com o qual se podem obter imagens com boa resolução de contraste de tecidos que apresentam uma pequena variação na densidade eletrônica, isto é, pode-se distinguir com maior facilidade um tecido sadio de um patogênico o que não é tão fácil com os métodos convencionais de produção de imagens.

### 3.3 BI-RADS

BI-RADS (*Breast Image Reporting and Data System*) é um sistema padronizado criado nos Estados Unidos para uniformizar os relatos das imagens de mamografia, com o intuito de diminuir as falsas interpretações em uma imagem e tornar o tratamento mais objetivo <sup>[29,30,31]</sup>. Este sistema tem como objetivo separar as lesões consideradas benignas, malignas e suspeitas. O BI-RADS é dividido em sete categorias: 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

A categoria 0 é dada as imagens que requerem mais vistas, como outros exames de mama ou até mesmo um exame de ultrassom ou ressonância magnética.

A categoria 1 é para as imagens em que não existe qualquer suspeita. Pode-se dizer que as mamas estão livres de qualquer patogenia benigna ou maligna. A paciente deveria retornar para outro exame de rastreamento só no próximo ano se não identificado nada no exame de toque.

A categoria 2 é quando existe uma lesão benigna na mama. Este tipo de lesão benigna pode ser microcalcificações, cistos de gordura, calcificações arteriais etc. Como na categoria 1 a paciente retornaria só no próximo exame.

A categoria 3 é utilizada quando resultado das imagens é “provavelmente” benigna. Isto não diz que o exame é indeterminado, mas que a lesão tem uma pequena probabilidade de ser maligna (menor que 2%). Neste caso recomenda-se que a paciente faça outro exame novamente em um período de seis meses. Se persistir a categoria 3, a paciente durante um período de três anos repetiria o exame de seis em seis meses.

A categoria 4 inclui lesões de mama que necessitam de alguma avaliação histológica ou citológica adicional. A probabilidade que a lesão seja maligna é de 25 a 35%. Esta categoria tem ainda subdivisões em A, B e C devido ao grande número de lesões que podem ser incluídas, em que A é menos suspeita e C é altamente suspeita.

A categoria 5 é utilizada para as lesões que apresentam grande chance de ser um carcinoma de mama. Nesta categoria, 95% dos achados mamográficos <sup>VII</sup> representam câncer de mama.

Finalmente a categoria 6 é utilizada para os achados mamográficos que apresentam um exame de biopsia comprovando o caráter maligno do tumor. Esta categoria também é apropriada para o monitoramento das respostas a tratamentos como quimioterapia, radioterapia e hormonoterapia.

---

<sup>VII</sup> Achados mamográficos podem ser nódulos, microcalcificações agrupadas ou distorções focais na arquitetura da mama.

## 4 Raios X

### 4.1 Introdução

Os raios X têm sido uma importante ferramenta desde a sua descoberta por Wilhelm Conrad Roentgen (1845-1923) em Novembro de 1895 <sup>[32]</sup>. Esta radiação tem sido explorada em várias áreas da ciência, como por exemplo, nas ciências médicas na obtenção de imagens como radiografias, tomografias e fluoroscopia <sup>[12]</sup>, e nas ciências naturais como na realização de técnicas de difração de pó, espalhamento e espectroscopia de raios X <sup>[32]</sup>.

O físico alemão Roentgen descobriu uma radiação penetrante, proveniente de tubos de raios catódicos, que era invisível para o olho humano, e que foi posteriormente denominada de raios X devido a sua natureza desconhecida.

Em 1895 na tentativa de descobrir “os raios invisíveis de alta frequência” propostos por Hermann Ludwing Ferdinand von Helmholtz (1821-1894) pela teoria de Maxwell da radiação eletromagnética, Roentgen aumentou a voltagem no tubo catódico notando um estranho brilho numa placa fluorescente que após cobri-la com diversos materiais ainda brilhava <sup>[32]</sup>.

Em outra tentativa de barrar esta estranha luz ele utilizou um disco de chumbo e observou a sombra do disco e também dos ossos de sua mão. Dias depois expôs a mão de sua mulher por cerca de 15 minutos para gerar uma imagem por raios X <sup>[32]</sup>. Um ano depois desta descoberta já existiam clínicas que realizavam imagens de tumores internos em pacientes com o auxílio dos raios X. Em 1901, Roentgen foi premiado com o Nobel de Física pela descoberta desta radiação.

### 4.2 Coerência

Uma das principais características que é explorada em imagens por contraste de fase é a coerência do feixe de raios X que incide sobre o objeto de análise.

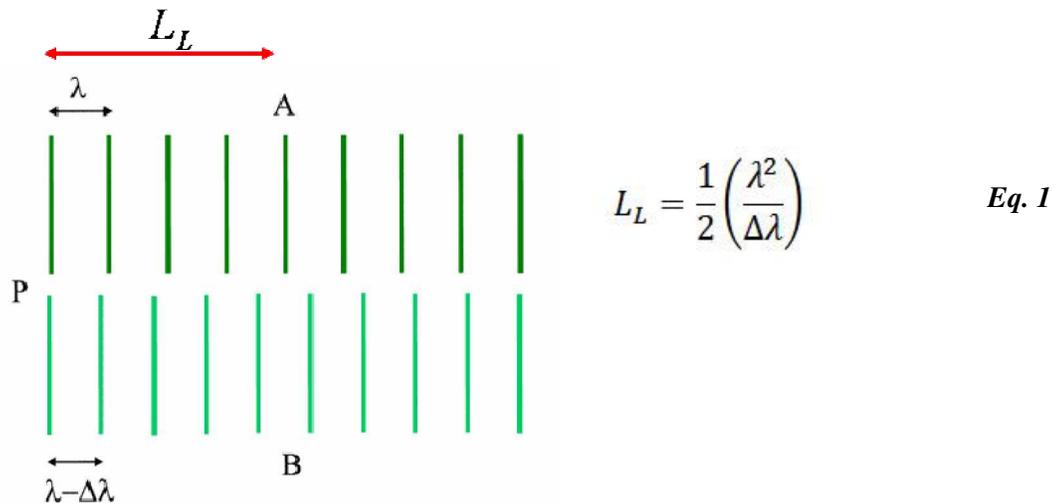
Alguns métodos que exploram o contraste de fase para a formação das imagens utilizam as interferências das ondas que atravessaram a amostra para criar as alterações de intensidades observadas na imagem. Com isto, em regiões como as bordas dos objetos, onde há um gradiente do índice de refração, será produzido uma alteração do caminho óptico (mudança de fase) fazendo com que as ondas possam interferir construtivamente ou destrutivamente.

Para que possam ocorrer as interferências e assim observar os padrões de interferências, os feixes que incidem sobre um objeto devem ter alguma coerência. Pode-se dividir a coerência em dois tipos: Coerência Longitudinal (ou Temporal) e Coerência Transversal (ou Espacial) <sup>[1]</sup>.

### 4.2.1 Coerência Longitudinal

Para relatar a coerência longitudinal ou temporal de um feixe defini-se um Comprimento de Coerência Longitudinal ( $L_L$ ). Este fornece a distância longitudinal necessária para que duas ondas se propagando na mesma direção e com uma pequena diferença de comprimento de onda ( $\Delta\lambda$ ) devem percorrer para que sua fase altere de  $\pi$ . A utilização de monocromadores faz com que a largura de banda ( $\Delta\lambda$ ) diminua tornando o feixe com boa coerência longitudinal. Pela *Figura 3* observam-se duas ondas se propagando da esquerda para direita ( $A$  e  $B$ ) com uma pequena diferença de comprimento de onda ( $\Delta\lambda$ ).

Ao percorrer o comprimento  $L_L$  as ondas estarão com uma diferença de fase de  $\pi$  (completamente fora de fase) e se percorrerem duas vezes  $L_L$  elas estarão novamente com a mesma fase. Uma maneira de aumentar a coerência temporal do feixe é a adição de um cristal monocromador com uma banda passante muito estreita<sup>[1]</sup>.

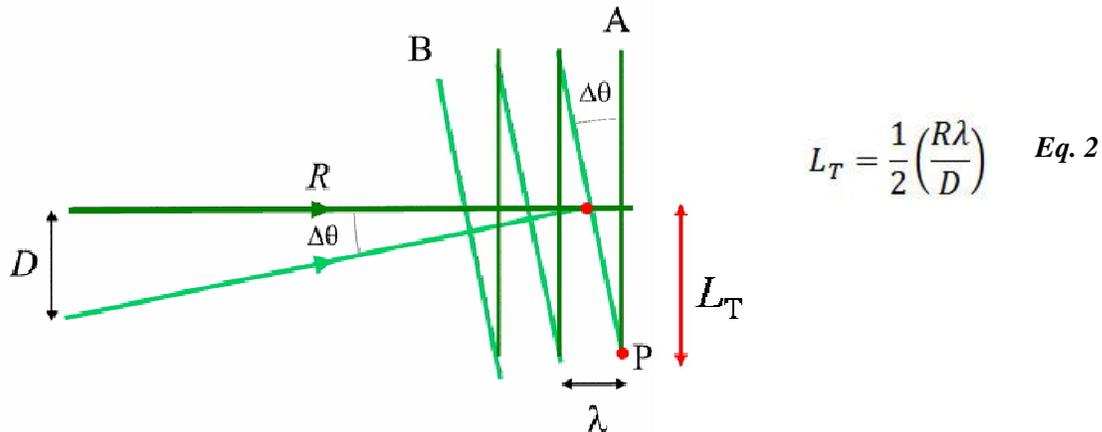


**Figura 3:** Esquema de duas ondas se propagando na direção longitudinal em que entre elas existe uma diferença de comprimento de onda de  $\Delta\lambda$ . Adaptado da referência<sup>[1]</sup>.

### 4.2.2 Coerência Transversal

Para relatar o quanto um feixe tem de coerência transversal ou espacial defini-se um Comprimento de Coerência Transversal ( $L_T$ ). Esta quantidade fornece a distância transversal necessária para que duas ondas de mesmo comprimento de onda se propagando com uma pequena diferença na direção de  $\Delta\theta$  tenham sua fase alterada de  $\pi$ . Pela *Figura 4* temos que as ondas  $A$  e  $B$  partindo de uma mesma fonte de tamanho  $D$  se propagam com uma diferença na direção de  $\Delta\theta$ . Se um observador mede as ondas em fase no ponto  $P$  (diferença de fase nula), elas estarão fora de fase

na direção transversal a uma distância de  $L_T$  do ponto  $P$ . A falta desta coerência espacial se encontra em equipamentos de raios X onde o tamanho da região que produz o feixe (fonte) é grande. Fontes que apresentam dimensões de micrômetros ou menores apresentam boa coerência espacial.



$$L_T = \frac{1}{2} \left( \frac{R\lambda}{D} \right) \quad \text{Eq. 2}$$

**Figura 4:** Esquema de duas ondas se propagando com uma diferença de direção de  $\Delta\theta$ . Adaptado da referência <sup>[1]</sup>.

### 4.3 Fontes de raios X

Com o avanço muito rápido da tecnologia houve também um avanço na produção de raios X. Estes agora não são mais produzidos somente por tubos como era no fim de 1895, mas também através de geradores de microfoco, fontes síncrotrons, fontes de lasers entre outros. Abaixo será discutido brevemente o modo de produzir radiação de diversos modos.

#### 4.3.1 Tubos de raios X

O tubo convencional de raios X é um dos instrumentos mais antigos responsável pela geração desta radiação e estes podem ser divididos em dois tipos: os tubos com ânodo fixo e os com ânodo rotatório.

Os tubos de alvo girante são mais avançados. Este tipo de tubo surgiu por volta de 1960 <sup>[1]</sup> e tem a principal característica de poder fornecer maior potência em comparação ao de alvo fixo. São muitas vezes usados em cristalografia de proteínas e algumas aplicações médicas. Já os aparelhos que apresentam o alvo fixo são mais utilizados em odontologia e alguns equipamentos portáteis de raios X.

No interior do tubo de raios X, que se encontra em alto vácuo, há um filamento helicoidal pelo qual se passa corrente elétrica (1 a 1000 mA). Devido ao efeito termiônico este filamento libera elétrons e é denominado de cátodo; em sua volta ele apresenta uma placa de metal com voltagem negativa aplicada denominada taça focalizadora <sup>[12]</sup>. Esta taça exerce uma força eletrostática repulsiva sobre os elétrons, os convergido para um alvo metálico (ânodo) em uma estreita área (cerca de mm<sup>2</sup>).

Os elétrons liberados pelo cátodo são focados em regiões milimétricas do alvo e conseqüentemente o tamanho da região que libera os fótons de raios X é desta mesma ordem de grandeza. Tubos de raios X convencionais apresentam o tamanho focal do feixe entre 0,4 e 1 mm. Dependendo da janela que se utiliza no tubo pode-se explorar uma geometria de foco linha (foco de 1 mm) ou também de foco pontual (foco de 0,4 mm). Esta alteração é devido à geometria que se encontra o filamento de tungstênio no interior do tubo de raios X.

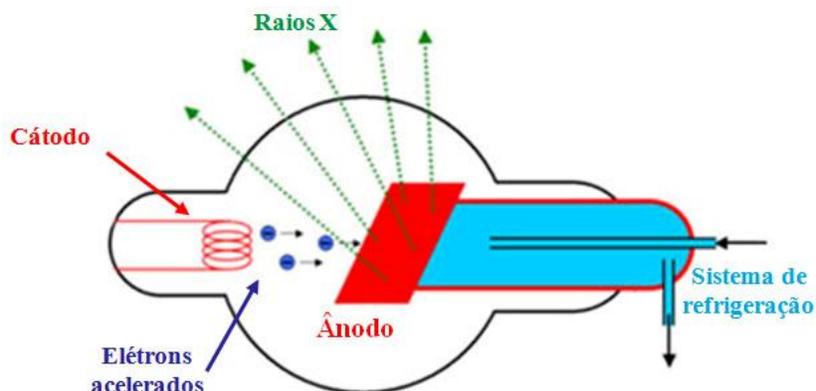
Como o menor tamanho focal é de 0,4 mm, este tipo de tubo apresenta baixo comprimento de coerência transversal. Para este tamanho focal de 0,4 mm com uso de radiação com comprimento de onda de 0,714 Å e distância entre a fonte-amostra em 2 mm, tem-se  $L_T \approx 0,1 \mu\text{m}$ . Isto significa que podemos distinguir os efeitos de fase dos objetos que apresentam tamanhos menores que 0,1  $\mu\text{m}$  (uma célula animal apresenta dimensões da ordem de 10  $\mu\text{m}$ ) sendo que se deve utilizar um detector com resolução suficiente para essa dimensão. Por isto é muito difícil observar efeitos de contraste de fase utilizando fontes que possuem tubos de raios X convencionais sem nenhuma instrumentação que aumente a coerência do feixe.

#### **4.3.1.1 Produção dos raios X**

Os elétrons liberados pelo filamento de tungstênio são acelerados em direção ao ânodo por uma diferença de potencial aplicada entre o cátodo e o ânodo que pode variar entre 20 e 150 kV dependendo de sua aplicação <sup>[12]</sup>. Na área da saúde utilizam-se as maiores tensões em exames de tórax e as menores tensões em análises de tecidos de mama.

O ânodo consiste de uma placa de metal (cobre, tungstênio, molibdênio, carbono, ferro, prata etc.) que pode estar aterrada. Os elétrons colidem no ânodo produzindo os fótons de raios X (*Figura 5*). Grande parte da energia depositada pelos elétrons no alvo é dissipada na forma de calor e apenas 1% dela é convertida em feixes de raios X <sup>[33]</sup>. Para evitar a sobrecarga de energia no alvo, muitas vezes ele é resfriado por uma simples corrente de água gelada em pressão controlada.

Os tubos de alvo fixo apresentam um fluxo de fótons (número de fótons por unidade de tempo) muito baixo e por isso foram desenvolvidos os tubos com alvo rotatório de modo a haver uma melhor dissipação de calor e assim um aumento da potência. Assim os elétrons incidem sobre diferentes áreas à medida que o ânodo gira, fazendo com que haja uma melhor dissipação de calor e consequentemente pode-se aumentar a eficiência de produção de raios X em até dez vezes <sup>[34]</sup>.



**Figura 5:** Esquema de um tubo de raios X com o ânodo fixo.

#### 4.3.1.2 Espectros dos raios X

Os fótons de raios X liberados do alvo propagam-se pelo do tubo até alcançarem as janelas muitas vezes produzidas por materiais com baixa absorção, como o berílio (baixo número atômico,  $Z = 4$ ).

Ao se analisar o espectro dos raios X emitido por um tubo, seja ele com alvo fixo ou não, pode-se perceber que à medida que a potência (voltagem aplicada entre o ânodo e o cátodo) é aumentada, o gráfico ganha uma forma um pouco diferente. Quando a tensão aplicada entre o ânodo e o cátodo não é suficiente para arrancar os elétrons de caroço do átomo do alvo<sup>VIII</sup> o gráfico exibe uma forma contínua (*Bremsstrahlung*). Ao aumentar a energia cinética dos elétrons (aumento da diferença de potencial entre o cátodo e o ânodo) estes podem arrancar os elétrons mais internos do ânodo fazendo com que apareçam alguns picos no espectro (*Radiação Característica*)<sup>[12,33]</sup>.

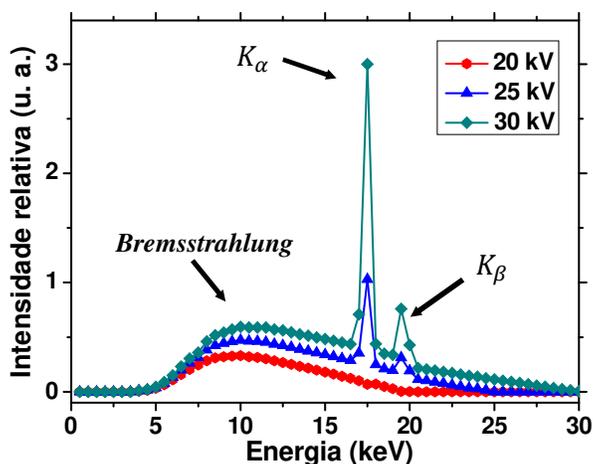
<sup>VIII</sup> A energia dada aos elétrons em forma de energia cinética não é suficiente para que eles arranquem os elétrons das camadas mais internas do átomo, a energia cinética é menor que a energia de ligação dos elétrons do alvo.

### *Radiação Bremsstrahlung*

Quando os elétrons penetram dentro do alvo eles sofrem desvios devido à presença dos átomos do material. Essas partículas carregadas são desaceleradas pelo núcleo e com isso há emissão de radiação. A forma do espectro é uma curva contínua (*Figura 6*) e esta radiação liberada pelos elétrons é conhecida como *Radiação Bremsstrahlung* (do alemão *Bremsen* frear e *Strahlung* radiação).

### *Radiação Característica*

Sobrepondo o espectro contínuo pode aparecer linhas bem definidas que ocorrem quando os elétrons liberados do cátodo têm energia suficiente para poder arrancar os elétrons de caroço do ânodo criando uma instabilidade no átomo. Isto faz com que elétrons das camadas mais externas do átomo preencham esses buracos fazendo com que o átomo retorne para um nível mais estável e assim emitindo radiação com energia igual à diferença entre as duas camadas. A radiação emitida que corresponde à diferença entre as energias das duas camadas é conhecida como *Radiação Característica*.



**Figura 6:** Gráfico de um gerador de raios X com tubo com alvo de molibdênio em três diferentes valores de tensão.

Na *Figura 6* observa-se que para a tensão de 20 kV ainda não há picos, apenas um espectro contínuo. Para tensões maiores como 25 kV pode-se observar pequenas alterações, observa-se a formação de dois picos,  $K_\alpha$  e  $K_\beta$ , com baixa intensidade. Ao aumentar a tensão fornecida entre o ânodo e o cátodo (30 kV), aumenta-se a quantidade de elétrons acelerados com energia suficiente

para arrancar os elétrons de caroço do átomo (ânodo) o que resulta em um pico  $K_{\alpha}$  de alta intensidade. Apesar da energia de ligação dos elétrons da camada  $K$  ser próxima de 17 keV (tubo com alvo de molibdênio), os elétrons acelerados dissipam energia até atingirem o alvo, o que faz com que eles necessitam ser acelerados com maior potencial elétrico que a energia de ligação.

Os picos que aparecem no espectro (*Figura 6*) muitas vezes correspondem às diferenças entre as energias das camadas  $K$ ,  $L$  e  $M$  dos átomos e para cada elemento químico essas camadas tem energias bem definidas. Quando elétrons da camada  $L$  preenchem as vagas na camada  $K$  a radiação emitida é conhecida como  $K_{\alpha}$ . Elétrons provenientes da camada  $M$  para a  $K$  emitem radiação de nome  $K_{\beta}$  que é mais energética que a radiação da camada  $L$ , mas com menor probabilidade de ocorrência.

Dentro dessa designação de  $K_{\alpha}$  existem outros subíndices como por exemplo  $K_{\alpha 1}$  e  $K_{\alpha 2}$  que são algumas vezes muito difíceis de diferenciá-las devido ao seu comprimento de onda ser muito próximo (para  $Mo$   $K_{\alpha 1} \approx 0,709 \text{ \AA}$  e  $K_{\alpha 2} \approx 0,714 \text{ \AA}$ ). Isto ocorre porque a camada  $K$  apresenta os elétrons em uma configuração de dois momentos angulares distintos ( $J = 1/2$  e  $J = -1/2$ ) e apenas alguns elétrons da camada  $L$  podem satisfazer a regra de seleção. Como para a transição ser permitida a diferença entre os momentos orbitais deve ser  $+1$  ou  $-1$  ( $\Delta l = \pm 1$ ) apenas os elétrons das subcamadas  $2p$  ( $2p_{3/2}$  e  $2p_{1/2}$ ) podem ocupar a camada  $1s$  e por isso temos a presença das duas raiais ( $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ ).

### 4.3.2 Fontes de microfoco

Com o avanço tecnológico surgiu a necessidade de construir fontes de raios X com maior potência e também com tamanhos focais reduzidos produzindo assim feixes com maior coerência espacial.

O grande problema em desenvolver estes tipos de fontes microfoco estava em como produzir feixes de elétrons com tamanho focal muito pequeno (ordem de micrômetros), garantindo um bom fluxo de fótons de raios X e o não comprometimento do alvo devido à grande sobrecarga de energia depositada pelos elétrons que colidiam sobre o alvo.

Estes tipos de fontes de tamanho micrométricos seguem o mesmo padrão dos tubos de raios X convencionais em que há um cátodo (fornecedor de elétrons), um aparato responsável pela focalização dos elétrons (lentes magnéticas), uma placa metálica onde os elétrons colidem (alvo), uma diferença de potencial aplicada entre o ânodo e o cátodo e ainda apresenta instrumentação a mais devido à necessidade de uma melhor focalização dos elétrons sobre o alvo (*Figura 7*)<sup>[35,36]</sup>.

As fontes ou também geradores de microfocos apresentam um feixe de elétrons fornecido por um canhão de elétrons que consiste de eletrodos de Wehnelt e um cátodo que pode ser muitas vezes um filamento de tungstênio ou rênio<sup>[35,36]</sup>.

Os elétrons expelidos pelo canhão são direcionados por uma diferença de potencial em direção a uma placa metálica aterrada (ânodo) com um orifício central por onde o feixe de elétrons pode passar. Após atravessar a placa o feixe de elétrons apresenta um foco muito pequeno. Uma parte desta focalização é perdida devido à repulsão eletrostática dos elétrons que se propagam em direção ao alvo. Essa divergência do feixe de elétrons diminui devido à presença de lentes eletromagnéticas fazendo com que este feixe tenha uma seção transversal pequena.

Ao se propagar na direção do alvo, os elétrons, após atravessarem as lentes eletromagnéticas, passam por uma região com a presença de lentes quadrupolares eletromagnéticas (algumas fontes utilizam multipolares) que focalizam os elétrons em uma área micrométrica sobre o alvo metálico produzindo assim os raios X<sup>[35,36]</sup>. Estes fótons produzidos saem através do tubo por janelas muitas vezes produzidas de materiais pouco absorvedores (baixo número atômico) como o berílio.

Existem duas configurações de saída do feixe de raios X. Em uma delas os elétrons colidem com o alvo e a radiação sai do tubo na mesma direção de propagação dos elétrons (*Figura 7*) e na outra os fótons de raios X saem perpendicularmente à direção de incidência do feixe de elétrons<sup>[35]</sup>.

Diferentemente dos tubos, a placa metálica onde os elétrons colidem recebe apenas o nome de alvo e não de ânodo como nos tubos de raios X convencionais<sup>[35]</sup>. No caso dos microfocos o ânodo também é uma placa metálica aterrada, mas que serve apenas para tornar o foco do feixe pequeno, não é o local onde os elétrons colidem para emitirem radiação como no caso dos tubos convencionais.

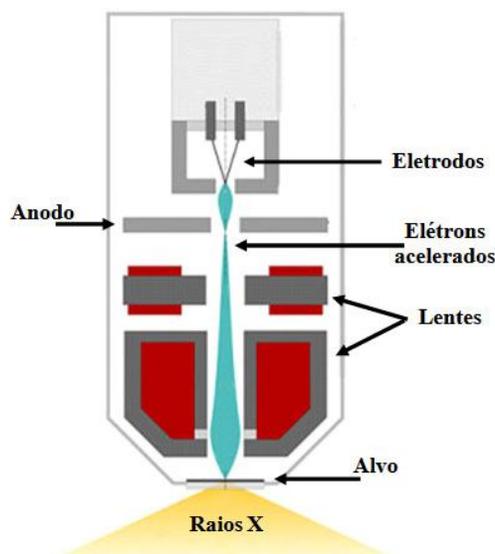
Como os elétrons são focalizados em regiões micrométricas e os geradores muitas vezes precisam funcionar por cerca de horas, o tubo deve ter uma boa e eficiente refrigeração evitando que o alvo seja danificado. Existem vários tipos de resfriamento do alvo, uns obtidos de modo convencional outros de modo mais sofisticados. Os métodos convencionais fazem a refrigeração através de jatos de água ou até mesmo de ar para que o alvo não seja danificado<sup>[35]</sup>. Outros mais sofisticados podem utilizar ânodos rotatórios ou por uso de lentes magnéticas que variam a posição de incidência do feixe de elétrons no alvo. Para melhorar a dissipação de calor pode-se também depositar materiais com alta condutividade térmica sobre o alvo (por exemplo o diamante)<sup>[35]</sup>.

Com uma eficiente focalização dos elétrons no alvo, alguns tubos de microfocos apresentam tamanhos de foco de raios X podendo variar entre 1 a 100  $\mu\text{m}$ . Algumas fontes de

microfoco podem alcançar tamanhos focais menores que  $1\ \mu\text{m}$ , essas fontes ao invés de utilizarem alvos metálicos utilizam um alvo cristalino <sup>[37]</sup>.

Como consequência da busca de focos micrométricos, os tubos de microfoco apresentam a corrente no filamento e tensão aplicada menor quando comparada a outros geradores. Alguns equipamentos da Hamamatsu, que podem obter focos de  $5\ \mu\text{m}$ , apresentam uma corrente máxima de operação em cerca de  $100\ \mu\text{A}$  e tensão de  $40\ \text{kV}$ . Mas se ajustar o foco do feixe para  $40\ \mu\text{m}$  pode-se operar o equipamento com uma corrente de  $300\ \mu\text{A}$  e uma tensão de até  $130\ \text{kV}$  <sup>[37]</sup>.

Fontes de microfoco são excelentes equipamentos que podem ser utilizados para produzir imagens por contraste de fase devido ao pequeno tamanho da fonte. O comprimento de coerência transversal de uma fonte com tamanho focal do feixe de  $5\ \mu\text{m}$ , com a amostra posicionada a uma distância de  $2\ \text{m}$  da fonte e utilizando uma radiação com comprimento de onda de  $1\ \text{\AA}$ , é de  $L_T \approx 20\ \mu\text{m}$ . Este instrumento pode facilmente produzir imagens por contraste de fase, mesmo operando com feixes de raios X policromáticos <sup>[38]</sup>, onde a coerência temporal é muito baixa.



**Figura 7:** Esquema de uma fonte microfoco com a sua instrumentação básica.

### 4.3.3 Fontes síncrotron

#### 4.3.3.1 Histórico

As primeiras observações da radiação síncrotron foram feitas por Floyd Haber em 1947 na General Electric (EUA) em aceleradores de partículas <sup>[32]</sup>. Nesta época os cientistas estavam tentando estudar colisões de partículas com altas energias, mas notaram que estas partículas quando defletidas por campos magnéticos emitiam radiação o que era prejudicial para os experimentos

porque elas dissipavam energia. Estes tipos de equipamentos ficaram conhecidos como os síncrotrons de 1º geração onde as máquinas não eram projetadas para fornecer radiação eletromagnética, mas apenas colisões de partículas.

Ao final dos anos 70 e começo dos 90, surgiram os síncrotrons de 2º geração que eram máquinas dedicadas a produzir ondas eletromagnéticas a partir da deflexão de partículas carregadas<sup>IX</sup> por campos magnéticos [1,34]. Os elétrons eram estocados em anéis circulares com energia fixa mantida por cavidades de radiofrequência. As partículas carregadas atravessavam regiões curvas na presença de dipolos magnéticos que forçavam os elétrons a desviar sua trajetória devido à força de Lorentz. Isso fazia com que os elétrons emitissem radiação que era utilizada nas estações experimentais.

Com o grande aprendizado desenvolvido na operação dos síncrotrons de 2º geração e também com o avanço tecnológico, no final dos anos 90 surgiram os síncrotrons de 3º geração que podiam operar com capacidade de produzir fótons de luz com intensidades de muitas ordens de grandeza maior que os de segunda geração [34]. Além da utilização de elétrons, muitas fontes síncrotrons começaram a utilizar pósitrons dentro dos anéis de estocagem ao invés de elétrons.

A radiação produzida em síncrotrons de segunda e terceira geração não só são produzidos por dipolos magnéticos mas também podem ser obtidas por instrumentos de inserção (*insertion devices*) que são instrumentos inseridos em seções retas dos anéis de estocagem (ou armazenamento) [1,34]. Estes instrumentos seguem o mesmo princípio de defletir os feixes de elétrons. A mudança ocorre no fato de que são colocados centenas de pequenos dipolos onde o feixe de elétrons sofre oscilações em seu trajeto emitindo radiação. Os instrumentos são classificados em *wigglers* e onduladores.

#### **4.3.3.2 Produção da radiação síncrotron**

A radiação ou luz síncrotron provem de partículas carregadas (elétrons ou pósitrons) que viajam dentro de anéis de estocagem em ultra alto vácuo ( $10^{-10}$  torr) em velocidades relativísticas ( $v \approx c$ ) que quando defletidas em trajetórias curvas (aceleração) por campos magnéticos emitem radiação eletromagnética. Esta radiação pode variar do infravermelho ( $\sim 10 \mu\text{m}$ ) até aos raios X duros ( $\sim 0,1 \text{ \AA}$ ).

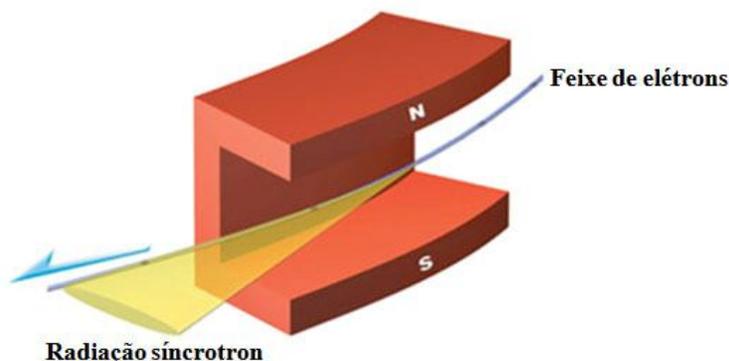
---

<sup>IX</sup> No começo as partículas carregadas aceleradas eram elétrons. Tempo depois passaram a também utilizar pósitrons.

Hoje existem mais de 40 fontes de luz síncrotron no mundo e uma delas está localizada na cidade de Campinas – SP (Laboratório Nacional de Luz Síncrotron - LNLS).

Como dito anteriormente as fontes de luz síncrotron emitem radiação a partir da deflexão de partículas carregadas por campos magnéticos. No caso do LNLS, que é um síncrotron de 2º geração, essas partículas são geradas por um filamento de tungstênio aquecido, aceleradas primeiro linearmente por microondas até uma energia de 120 MeV, depois injetadas em um anel para mais aceleração (booster, até 500 MeV) e só então são colocadas no anel de armazenamento, onde é gerada a luz. O anel é percorrido por um feixe de elétrons a 1,37 GeV, com uma corrente de até 250 mA, gerando luz síncrotron.

Os primeiros instrumentos que defletem as partículas são os dipolos magnéticos conhecidos também como *bending magnetic* (Figura 8) [1,34]. Os dipolos magnéticos são instalados em seções circulares do anel de estocagem. Este anel é formado por seções retas e nas suas curvas são acoplados os dipolos. Nos síncrotrons de 2º geração os dipolos magnéticos têm como objetivo gerar radiação eletromagnética e manter os elétrons em órbitas fechadas. Já nos síncrotrons de 3º geração, a maioria dos dipolos magnéticos apenas é utilizada para manter as partículas nas órbitas fechadas dos anéis e não para emitir radiação. Nestes síncrotrons são utilizados os dispositivos de inserção onde estes são alojados em seções retas do anel de estocagem. Outro equipamento que é inserido nas seções retas, tanto nos síncrotrons de 2º e 3º geração, são as cavidades de radiofrequência que repõem energia para os elétrons que circulam pelo anel, além dos quadrupolos e sextupolos que corrigem as trajetórias dos elétrons dentro do anel [1,34].

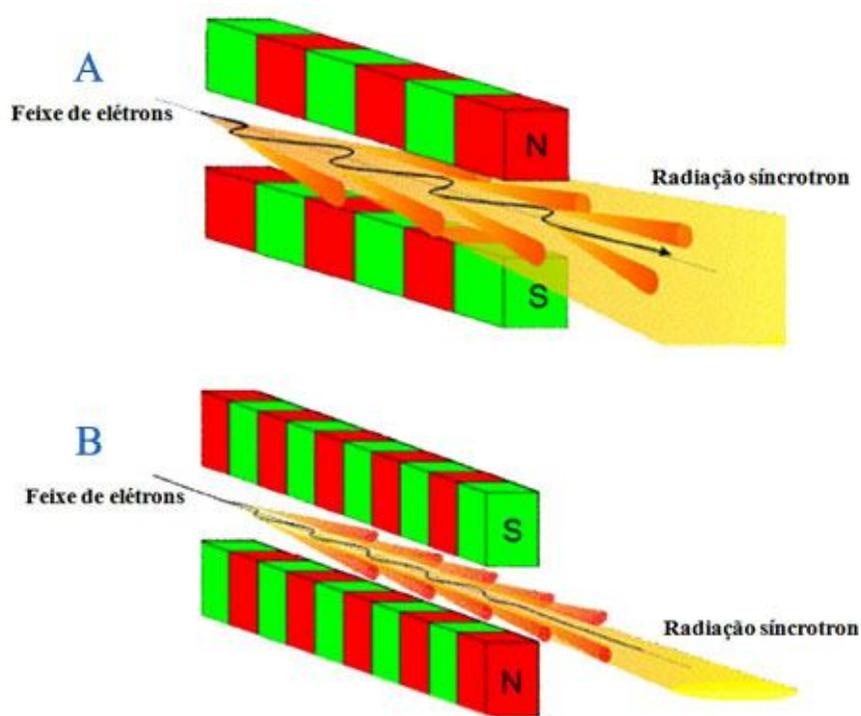


**Figura 8:** Desenho esquemático de um dipolo magnético defletindo o feixe de elétrons e gerando radiação síncrotron.

Além dos dipolos magnéticos os síncrotrons podem também possuir os *wigglers* e os *onduladores* (Figura 9A e B, respectivamente). No caso dos *wigglers*, as partículas carregadas são forçadas a oscilarem ao longo de um arranjo reto periódico de magnetos e a intensidade emitida em

cada oscilação é somada resultando em um intenso feixe. O fluxo de fótons gerado pelos *wigglers* ultrapassa os dipolos em algumas ordens de grandeza. O espectro de emissão de um *wiggler* é muito semelhante ao de um dipolo, a única diferença é o número de fótons gerados para cada energia.

Já nos onduladores, as partículas carregadas também atravessam uma trajetória reta periódica de magnetos, só que neste caso as oscilações ocorrem em fase de forma que a soma do campo emitido em cada oscilação é feita de forma coerente, resultando em uma intensidade que é superior à dos *wigglers*. Diferentemente dos dois anteriores, o ondulador não gera radiação num espectro e sim em energias bem definidas.



**Figura 9:** Desenho esquemático de um *wiggler* (A) e um ondulador (B) defletindo os elétrons e assim gerando luz síncrotron.

#### 4.4 Interação dos raios X com a matéria

Quando os raios X interagem com a matéria pode ocorrer espalhamento coerente, absorção fotoelétrica, espalhamento incoerente e produção de pares etc. <sup>[39,40]</sup>.

O espalhamento coerente, que também é conhecido como espalhamento Thomson, é um processo no qual o fóton não troca energia com o átomo (a energia é conservada), mas ele tem seu

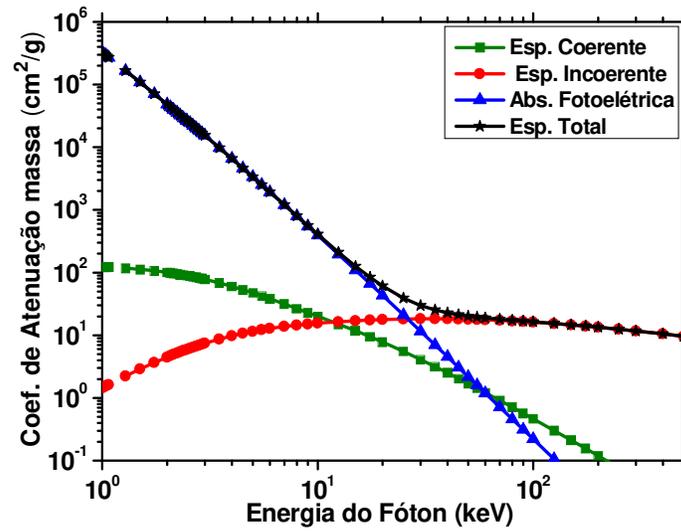
momento linear alterado. Neste espalhamento todos os elétrons contribuem para o espalhamento do fóton e é conhecido como coerente porque o fóton é espalhado em fase por todos os elétrons do átomo. Este tipo de espalhamento é significativo para fótons com energias baixas (energia da ordem de dezenas de keV) e materiais com alto número atômico.

A absorção fotoelétrica ocorre quando o fóton de raios X incidente tem energia igual ou superior à energia de ligação dos elétrons dos átomos no material. Este átomo agora excitado tem um buraco preenchido por outro elétron de uma camada mais externa ocorrendo a emissão de radiação com energia correspondente à diferença de energia das duas camadas.

O espalhamento incoerente, ou mais conhecido como espalhamento Compton ocorre quando o fóton incide no átomo e tem como resultado um elétron espalhado e um fóton espalhado com energia menor que o fóton incidente. Este processo considera que o elétron atômico é praticamente livre por causa da energia do fóton incidente ser muito maior que a energia de ligação do elétron. O espalhamento incoerente ou espalhamento inelástico recebe este nome porque o fóton espalhado tem momento e energia diferente do fóton incidente. Este tipo de espalhamento tem maior probabilidade de ocorrer para fótons incidentes com energia entre 0,1 a 10 MeV e materiais com baixo número atômico.

Produção de Pares é um processo que ocorre com um fóton de energia maior que 1,02 MeV (duas vezes a massa de repouso do elétron) na presença do campo Coulombiano do núcleo. Neste processo o fóton incidente desaparece e é produzido um par elétron-pósitron. Como o pósitron tem um tempo de vida muito curto, ele rapidamente é aniquilado por um elétron gerando dois fótons de 0,51 MeV de energia cada. A produção de pares tem maior probabilidade de ocorrência para fótons com energia superior a 1,02 MeV e para materiais com alto número atômico.

Como descrito acima os raios X podem interagir com a matéria de diversas formas, mas aqui iremos tratar exclusivamente dos processos de espalhamento e absorção. Ainda mais a frente será descrito também o efeito de refração.



**Figura 10:** O gráfico mostra a principal interação da radiação com a matéria para cada energia dos fótons incidente.

#### 4.4.1 Espalhamento

Para introduzir a noção de espalhamento descrevemos inicialmente o espalhamento de um elétron e em seguida tratamos do espalhamento por um átomo. Apesar de estudarmos a interação da radiação com a matéria para tecidos biológicos (materiais amorfos<sup>X</sup>) devemos saber como ocorre o espalhamento nos cristais que serão utilizados na realização das imagens. Portanto após o espalhamento de um átomo também será introduzido o espalhamento por meios cristalinos (possuem um ordenamento espacial).

##### 4.4.1.1 Espalhamento por um elétron

Quando uma onda eletromagnética (raios X) incide sobre um elétron, na descrição clássica, o elétron sofre uma força que faz com que ele oscile. Este elétron oscilante se comporta como uma fonte e irradia como um dipolo<sup>[1,33]</sup>.

Quando esse elétron oscila há geração de um campo elétrico (cargas aceleradas geram radiação) num determinado ponto. Encontrando este campo numa determinada posição do espaço

<sup>X</sup> Substância sem nenhuma ordem cristalina.

pode-se determinar a intensidade naquele ponto decorrido daquele elétron. Assim a intensidade fornecida por um único elétron num determinado ponto é dada por <sup>[1]</sup>:

$$I = |E^2| = \left(\frac{r_0}{r}\right)^2 \langle E_0^2 \rangle [1 + \cos^2 \psi], \quad \text{Eq. 3}$$

onde  $r_0$  é o raio clássico do elétron,  $r$  é o módulo da distância do elétron até um determinado ponto,  $E_0$  é o campo elétrico gerado pelo elétron estacionário e  $\psi$  é o ângulo de espalhamento.

#### 4.4.1.2 Espalhamento por um átomo

Na seção anterior foi encontrada a equação para o cálculo da intensidade irradiada por um elétron livre. Ao imaginar um átomo que apresenta cerca de  $Z$  elétrons ( $Z$  o número atômico) a princípio pode-se considerar que a intensidade irradiada pelo átomo é  $Z$  vezes a intensidade de um elétron, mas isso só acontece quando a radiação emitida é na mesma direção da incidente ( $\psi = 0$ ) <sup>[33]</sup>. Para outras direções, deve-se considerar a fase entre as ondas espalhadas por cada elétron <sup>[1,33]</sup>.

A intensidade irradiada pelo átomo não considera a radiação do núcleo, pois a intensidade é inversamente proporcional à massa e dessa forma o átomo não tem uma apreciável oscilação que possa gerar radiação <sup>[33]</sup>.

Pode-se considerar que os elétrons se distribuem no átomo como uma densidade de carga  $\rho(\mathbf{r})$ . Essa nuvem eletrônica afeta a intensidade emitida pelo átomo porque a radiação gerada por espalhamento por cada região desta nuvem pode estar ou não em fase.

A diferença de fase entre as ondas espalhadas de um elemento de volume pode ser definida como a diferença entre a direção do vetor de onda da radiação incidente ( $\mathbf{k}$ ) e da radiação espalhada ( $\mathbf{k}'$ ).

$$\Delta\phi(\mathbf{r}) = (\mathbf{k} - \mathbf{k}') \cdot \mathbf{r} = \mathbf{Q} \cdot \mathbf{r}, \quad \text{Eq. 4}$$

onde  $\mathbf{Q}$  é o vetor transferência de momento e  $\mathbf{r}$  é o vetor posição de um elemento de volume na origem até um determinado ponto.

Considerando o espalhamento elástico, pode-se escrever que  $|\mathbf{k}| = |\mathbf{k}'|$  e  $|\mathbf{Q}| = 2|\mathbf{k}| \sin \theta = (4\pi/\lambda) \sin \theta$ .

Assim um elemento de volume  $d\mathbf{r}$  em  $\mathbf{r}$  contribui com uma quantidade de  $-r_0\rho(\mathbf{r})d\mathbf{r}$  para o espalhamento com um fator de fase de  $e^{i\mathbf{Q}\cdot\mathbf{r}}$ .

A contribuição total do átomo é definida como o comprimento total de espalhamento que considera o espalhamento de todo o átomo e a fase existente entre cada elemento, e pode ser descrito como:

$$-r_0 f_0(\mathbf{Q}) = -r_0 \int \rho(\mathbf{r}) e^{i\mathbf{Q}\cdot\mathbf{r}} d\mathbf{r}, \quad \text{Eq. 5}$$

onde  $f_0(\mathbf{Q})$  é denominado por fator de forma atômico, que em alguns livros é definido como sendo a amplitude da onda espalhada por um átomo pela amplitude da onda espalhada por um elétron<sup>[33]</sup>.

Como os elétrons em um átomo apresentam diferentes energias de ligação para cada camada<sup>XI</sup>, os elétrons irão responder a radiação com diferentes intensidades dependendo da sua energia de ligação e, portanto deve-se corrigir o fator de espalhamento atômico por um fator definido por  $f'$ . Elétrons fracamente ligados ao átomo apresentaram um fator  $f'$  próximo de zero, mas este fator não pode ser desprezado se a energia de ligação do elétron é próxima da energia dos fótons da radiação incidente.

Fazendo analogia à solução do movimento para um oscilador harmônico forçado com o movimento do elétron na presença de um campo elétrico, pode-se incluir um segundo termo de correção ( $if''$ ) no fator de espalhamento atômico, que representa a dissipação de energia do sistema (em analogia a força de atrito para o oscilador harmônico forçado). Consequentemente pode-se escrever o fator de espalhamento atômico da seguinte maneira que :

$$f(\mathbf{Q}, \hbar\omega) = f_0(\mathbf{Q}) + f'(\hbar\omega) + if''(\hbar\omega), \quad \text{Eq. 6}$$

onde  $f'$  e  $f''$  são conhecidos como correção de dispersão anômala de  $f_0$ .

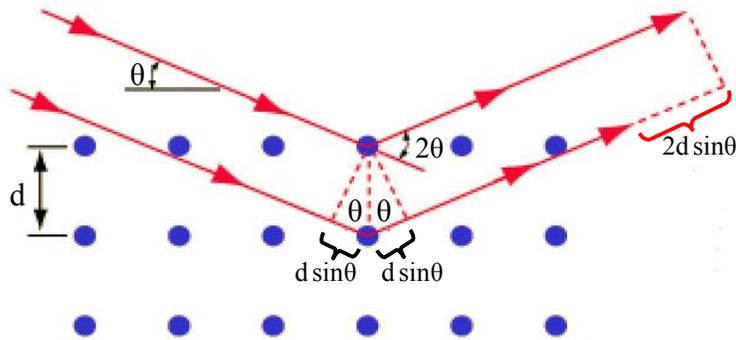
#### 4.4.1.3 Espalhamento por um cristal

Seguindo o mesmo princípio desenvolvido para o espalhamento de um elétron e de um átomo, para que ocorra espalhamento (interferência construtiva entre as ondas) por um cristal, os átomos devem estar posicionados de um modo que as ondas espalhadas estejam em fase. Esta interferência construtiva entre as ondas espalhadas pelos átomos deve seguir a Lei de Bragg<sup>[33]</sup>.

$$m\lambda = 2d \sin \theta. \quad \text{Eq. 7}$$

A lei de Bragg é a condição para que uma radiação com comprimento de onda  $\lambda$  ou um múltiplo inteiro  $m$  incidindo com um ângulo  $\theta$  sobre um cristal com distância planar  $d$  (distância entre os planos cristalinos) tenha interferência construtiva.

<sup>XI</sup> Elétrons das camadas  $L$ ,  $M$  etc. apresentam energia de ligação menor que elétrons na camada  $K$  para um mesmo átomo.



**Figura 11:** O desenho mostra dois feixes de luz de mesmo comprimento de onda incidindo sobre um arranjo periódico de átomos (cristal) e também sendo difratados mostrando que eles devem ter uma diferença de caminho múltiplo de um inteiro do comprimento de onda para produzir interferência construtiva.

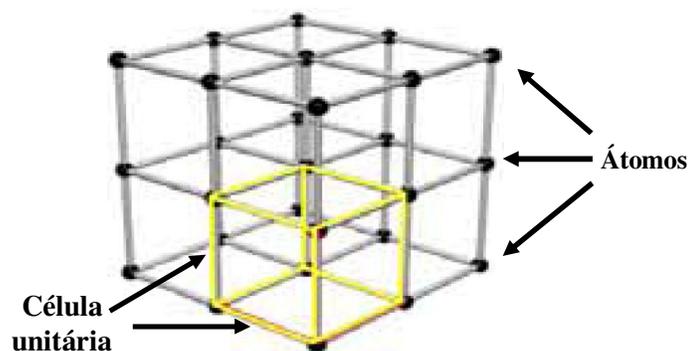
Duas ondas que incidam em fase num cristal em um dado ângulo serão fortemente difratadas quando a diferença de caminho óptico for um múltiplo inteiro do comprimento de onda ( $m\lambda$ ), o que significa que elas emergirão do cristal em fase criando assim uma interferência construtiva (Figura 11).

Para encontrar a amplitude do espalhamento do cristal primeiro define-se uma rede cristalina e depois uma célula unitária. A célula unitária é a menor unidade formada por átomos dentro do cristal que se repete periodicamente em todas as direções.

Como o cristal é formado por células unitárias e estas são formadas por átomos que espalham com certa fase entre si (Figura 12), pode-se escrever o Fator de Estrutura da seguinte maneira:

$$F_{\mathbf{Q}}(\mathbf{Q}) = \sum_j \{f_{0j}(\mathbf{Q}) + f_j'(\hbar\omega) + if_j''(\hbar\omega)\} e^{2\pi i \mathbf{Q} \cdot \mathbf{r}_j}, \quad \text{Eq. 8}$$

onde a soma é feita sobre todos os átomos da célula unitária,  $f_{0j}$  é o fator de forma atômico do átomo  $j$ , e  $f_j'$  e  $f_j''$  são as correções de dispersão anômala que dependem da energia do fóton incidente ( $\hbar\omega$ ).

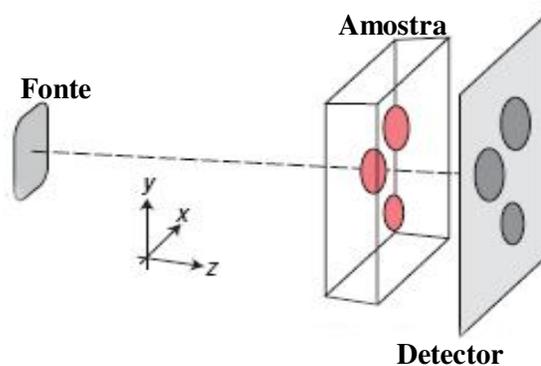


**Figura 12:** Desenho de uma rede cristalina cúbica simples e em amarelo uma célula unitária. Os pontos em preto indicam a posição dos átomos. Adaptado da referência <sup>[40]</sup>.

#### 4.4.2 Absorção

Outra importante interação da radiação com a matéria é o mecanismo de absorção. Numa imagem produzida pelo método convencional o contraste na imagem se baseia primordialmente na diferença de absorção para cada região da amostra. Neste tipo de imagem a amostra é posicionada entre a fonte de raios X e o detector, como indicado na *Figura 13*.

Para diminuir o ruído na imagem podem-se utilizar grades entre a amostra e o detector o que diminui o espalhamento provocado pelas ondas ao atravessarem a amostra <sup>[12]</sup>.



**Figura 13:** Esquema de uma montagem para realização de uma imagem pelo método convencional.

Os fótons de raios X ao incidirem no material podem sofrer diversos efeitos. A principal perda de intensidade de um feixe de raios X utilizados para produção de imagens é por efeito fotoelétrico <sup>xii</sup>. A quantidade de intensidade perdida na amostra pode ser medida através do coeficiente de absorção ou coeficiente de atenuação linear  $\mu(E)$  das amostras. Pode-se encontrar a intensidade que é transmitida através de uma amostra da seguinte maneira:

$$I(z) = I_0 e^{-\mu(E)z}, \quad \text{Eq. 9}$$

onde  $I_0$  é a intensidade que chega na superfície da amostra  $\mu(E)$  é o coeficiente de atenuação linear (dependente da energia) e  $z$  é a espessura de material que o feixe penetrou.

O valor do coeficiente linear de atenuação depende da energia do feixe e do material. Este coeficiente é definido como:

$$\mu = \rho_a \sigma_a = \left( \frac{\rho_m N_A}{A} \right) \sigma_a, \quad \text{Eq. 10}$$

onde  $\rho_a$  e  $\rho_m$  são as densidades eletrônica e de massa respectivamente,  $\sigma_a$  é a seção de choque de absorção,  $N_A$  é o número de Avogadro e  $A$  é a massa atômica.

Para um objeto em que há mistura de elementos, deve-se ponderar o coeficiente de cada elemento ( $w_1, w_2, \dots$ ) e assim o coeficiente de atenuação linear do objeto é dado por:

$$\mu = w_1 \mu_1 + w_2 \mu_2 + \dots, \quad \text{Eq. 11}$$

---

<sup>xii</sup> Além do efeito fotoelétrico pode também ocorrer perda por espalhamento Thomson e espalhamento Compton. Os canais de deexcitação da absorção fotoelétrica são a fluorescência e a emissão de elétrons Auger.

## 5 Fundamentos teóricos

### 5.1 Princípios da técnica de Imagens por Contraste de Fase

A técnica de Imagens por Contraste de Fase (ICF) explora o contraste proveniente das mudanças de fase que os raios sofrem ao atravessar um objeto. Este efeito da alteração da fase também ocorre nos métodos convencionais de produzir imagens, mas estes não conseguem detectar essa variação de fase. Assim numa imagem convencional o contraste se baseia na diferença de atenuação linear dos materiais presentes na amostra produzindo uma diferença de intensidade.

O método de contraste de fase tem grande importância quando os objetos analisados são “transparentes” ao feixe de raios X ou os valores dos coeficientes de atenuação presentes no objeto são muito próximos. Quando é realizada uma imagem pelo método convencional deste objeto, o contraste nas imagens é muito baixo o que torna difícil distinguir diferentes regiões na imagem. Já numa ICF o contraste é formado pela diferença de atenuação dos tecidos e também pela alteração de fase da onda ao atravessar a amostra. Esta mudança de fase resultará em mudança de intensidade, assim gerando o contraste.

Como o contraste numa ICF explora as alterações de fase da onda ao atravessar diferentes materiais de um objeto, o principal parâmetro que se relaciona com essa mudança de fase é o índice de refração.

O índice de refração de um material é definido por <sup>[41]</sup>:

$$n \equiv \sqrt{\frac{\varepsilon \mu}{\varepsilon_0 \mu_0}}. \quad \text{Eq. 12}$$

Para muito materiais, a permeabilidade magnética do meio é muito próxima do valor no espaço livre ( $\mu \cong \mu_0$ ) e a permissividade do material ( $\varepsilon$ ) pode ser escrita como função da susceptibilidade elétrica ( $\chi$ ).

$$n = \sqrt{\frac{\varepsilon}{\varepsilon_0}} = \sqrt{\frac{\varepsilon_0(1 + \chi)}{\varepsilon_0}} = \sqrt{1 + \chi}. \quad \text{Eq. 13}$$

O índice de refração do meio  $n$  pode ser escrito em função da susceptibilidade elétrica que é uma quantidade complexa <sup>[24,42,43,44,45]</sup>.

$$n = \sqrt{1 + \chi} \approx 1 + \frac{1}{2}\chi = 1 + \frac{1}{2}\chi_r + \frac{i}{2}\chi_i, \quad \text{Eq. 14}$$

desde que  $\chi \ll 1$ .  $\chi_r$  e  $\chi_i$  é a parte real e imaginária respectivamente de  $\chi$ .

Tanto a parte real quanto a parte imaginária da susceptibilidade elétrica podem ser escritas em função do fator de espalhamento atômico <sup>[24, 45]</sup>.

$$\chi_r = -\frac{\lambda^2 r_0}{\pi} \sum_j N_j (f_j^0 + f_j'), \quad \text{Eq. 15a}$$

$$\chi_i = -\frac{\lambda^2 r_0}{\pi} \sum_j N_j f_j'', \quad \text{Eq. 15b}$$

onde  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação,  $r_0$  é o raio clássico do elétron ( $2,818 \times 10^{-15}$  m),  $N_j$  é o número de átomos por volume,  $f_{0j}(0) = Z_j$  é o número atômico (fator de espalhamento atômico),  $f_j'$  e  $f_j''$  são correções do fator de espalhamento atômico responsáveis pela dispersão anômala.

Assim pode-se escrever o índice de refração com uma parte real e outra imaginária <sup>[34, 42, 45, 46]</sup>.

$$n = 1 - \delta + i\beta, \quad \text{Eq. 16}$$

com as componentes do índice de refração dadas por <sup>[42,45]</sup>:

$$\delta = -\frac{1}{2}\chi_r = \frac{\lambda^2 r_0}{2\pi} \sum_j N_j (Z_j + f_j') = \frac{(h\omega)^2 r_0}{2\pi E^2} \sum_j N_j (Z_j + f_j'), \quad \text{Eq. 17a}$$

$$\delta \propto E^{-2}$$

$$\beta = -\frac{1}{2}\chi_i = \frac{\lambda^2 r_0}{2\pi} \sum_j N_j f_j'' = \frac{hc}{4\pi E} \mu(E), \quad \text{Eq. 17b}$$

$$\beta \propto E^{-4}$$

onde  $h$  é a constante de Planck,  $c$  a velocidade da luz no vácuo e  $\mu(E)$  é o coeficiente de atenuação linear do objeto para uma dada energia  $E$ .

Utilizando que a energia do feixe esta distante de uma borda de absorção pode-se escrever  $\delta$  como <sup>[24,42]</sup>:

$$\delta = \frac{\lambda^2 r_0 \rho_a}{2\pi}, \quad \text{Eq. 18}$$

onde  $\rho_a \equiv \rho_a(x, y)$  é a projeção da densidade eletrônica do meio em um ponto  $(x, y)$ .

Após a obtenção dos termos do índice de refração pode-se mostrar o que cada termo corresponde numa onda eletromagnética. Tem-se que a onda eletromagnética ao propagar-se por uma amostra de espessura  $z_0$  pode ser escrita como (desprezando os efeitos magnéticos e utilizando que os raios X interagem pouco com a matéria) <sup>[34]</sup>:

$$\psi(x, y, z = z_0) \approx \psi(x, y, z = 0) \left[ \exp \left\{ -ik \int_{z=0}^{z=z_0} \delta dz \right\} \exp \left\{ -k \int_{z=0}^{z=z_0} \beta dz \right\} \right]. \quad \text{Eq. 19}$$

A primeira exponencial na Eq. 19 fornece a mudança de fase que a onda sofre ao se propagar pelo objeto ( $k = 2\pi/\lambda$ ).

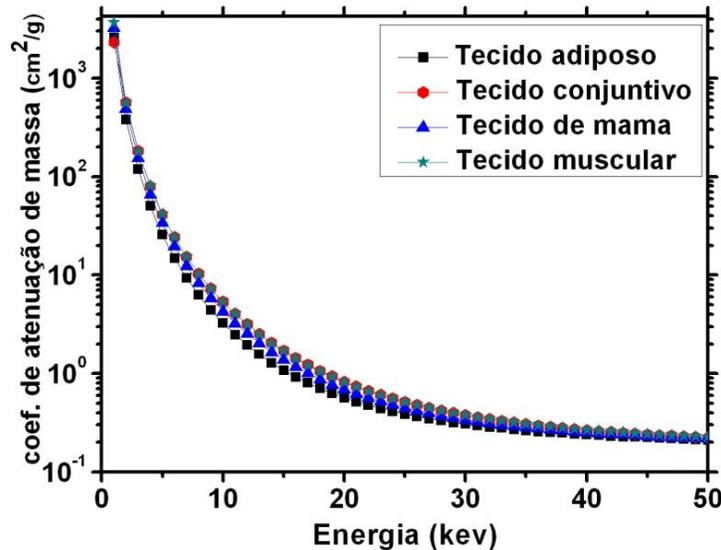
$$\Delta\phi(x, y) = -k \int \delta dz = -\frac{2\pi}{\lambda} \int \delta dz = -r_0 \lambda \rho_a(x, y). \quad \text{Eq. 20}$$

Como a intensidade é obtida do módulo ao quadrado da Eq. 19 tem-se que a segunda exponencial fornece a absorção da onda pelo meio:

$$I(x, y, z_0) = I(x, y, 0) \exp\left\{-2k \int \beta dz\right\} = I(x, y, 0) \exp[-\mu z_0]. \quad \text{Eq. 21}$$

Assim o termo  $\delta$  é responsável pela mudança de fase que a onda sofre no meio e o termo  $\beta$  é responsável pela atenuação da onda no meio.

Das Eq. 17a e b observa-se que a componente que produz o contraste de fase nas imagens é proporcional a  $E^{-2}$  e a componente responsável pelas imagens de absorção é proporcional a  $E^{-4}$ . Consequentemente à medida que se eleva a energia do feixe, as imagens realizadas pelos métodos convencionais apresentam uma perda muito maior de contraste, o que não ocorre nas imagens por contraste de fase.

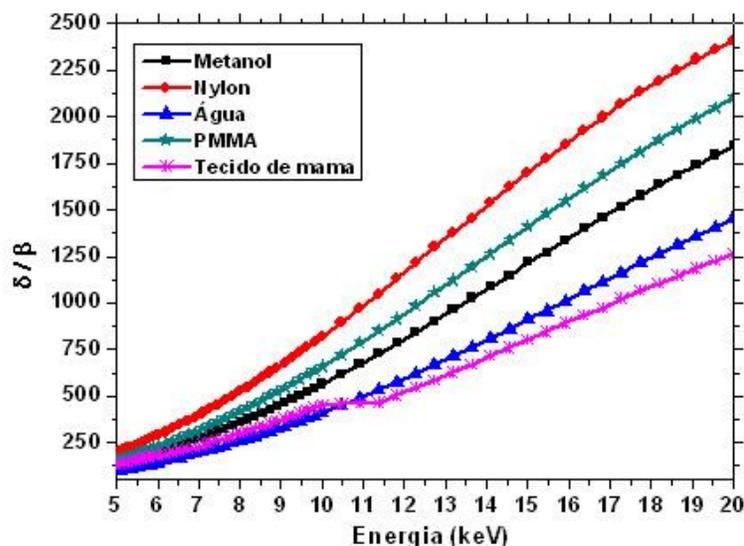


**Figura 14:** O gráfico mostra a variação do coeficiente de atenuação de massa para diversos tecidos em função da energia do feixe incidente sobre ele.

Outra importante característica observada quando se aumenta a energia dos fótons incidentes é a dose absorvida no meio. Como a dose depositada em uma amostra é proporcional ao coeficiente de atenuação de massa  $(\mu/\rho)^{[12,24]}$  e este fator diminui à medida que a energia é elevada, espera-se que a dose depositada no meio também diminua.

Portanto, com o aumento da energia do feixe, espera-se ganho em redução de dose entregue à amostra e também uma melhor resolução em comparação a uma imagem convencional [24,28].

Em tecidos biológicos podem-se utilizar feixes de raios X com energia entre 10 a 150 keV. A componente  $\delta$  pode ser de três a quatro ordens de magnitude maior que  $\beta$  [47,48] e valores típicos destas componentes valem aproximadamente  $10^{-4}$  e  $10^{-7}$  para  $\delta$  e  $\beta$  respectivamente. Conseqüentemente, a modalidade de contraste de fase pode produzir uma imagem com maior contraste que as radiografias convencionais.



**Figura 15:** Razão entre a componente de mudança de fase ( $\delta$ ) e a componente de absorção ( $\beta$ ) em função da energia do feixe.

Através dos softwares XMuDat e XCOM<sup>XIII</sup> pode-se obter a razão entre as componentes real e imaginária do índice de refração para alguns objetos em função da energia (Figura 15).

Ao atravessarem a amostra, os fótons são ligeiramente desviados de acordo com as variações da parte real do índice de refração. Os valores típicos de tais ângulos de refração para o tecido biológico estão na ordem de um a dez microradianos [49]. Estes desvios podem ser captados através de várias técnicas, proporcionando uma imagem mais nítida do que uma radiografia convencional. Como fontes de raios X convencionais não produzem um feixe coerente, é possível usar a coerência criada por arranjos ópticos de múltiplos cristais perfeitos [49,50,51], através da

<sup>XIII</sup> Disponível em: <http://physics.nist.gov/PhysRefData/Xcom/Text/XCOM.html>. Acessado em 20/07/2008.

coerência espacial criada por geradores de microfoco <sup>[38,50,52,53]</sup> e também por fontes de luz síncrotron <sup>[46,54,55]</sup>.

## 5.2 Métodos que exploraram o Contraste de Fase

Existem várias maneiras de explorar o contraste de fase. Dentre estas abaixo serão tratadas três técnicas que são capazes de explorar a componente real do índice de refração que está relacionada com a variação da fase da onda ao propagar-se pela amostra.

O primeiro método a ser discutido é o método de Propagação que explora o Laplaciano da fase da onda para criar o contraste ( $\nabla^2\varphi$ ), depois será discutido o método de Interferometria, que produz o contraste numa imagem pela mudança de fase ( $\varphi$ ) da onda no objeto e por último será discutido o método de Imagens Realçadas por Difração (IRD) em que é explorado o gradiente de fase da onda ( $\nabla\varphi$ ) <sup>[56]</sup>.

### 5.2.1 Método de propagação

O método de propagação, também conhecido como *in-line holography*, *phase propagation imaging* <sup>[34,53]</sup>, diferentemente dos métodos que serão tratados mais a frente, não requer qualquer instrumentação óptica para produzir os efeitos de contraste de fase nas imagens. Esta técnica explora a interferência, que resultará em mudança de intensidade, entre as ondas que sofreram mudança de fase (feixe refratado na amostra) ao se propagarem pela amostra com as ondas que não sofreram alterações (feixe não refratado na amostra).

A técnica de propagação explora o alto grau de coerência espacial proveniente diretamente da fonte de raios X para produzir o contraste de fase e não necessita de feixes temporalmente coerentes. Portanto podem ser utilizadas fontes policromáticas como geradores de microfoco para produzir o contraste de fase <sup>[38]</sup>.

As imagens provenientes da técnica de propagação são obtidas no regime de difração de Fresnel <sup>[24,54]</sup> devido ao uso de altas energias para produzir as imagens <sup>XIV</sup>.

Os equipamentos que podem produzir feixes coerentes transversalmente são geradores de raios X do tipo microfoco e fontes de luz síncrotron de terceira e quarta geração, pois estas fontes combinam pequeno tamanho e grandes distâncias fonte-amostra (centenas de metros).

---

<sup>XIV</sup> *Difração de Fraunhofer ou de grande distância não é válida para pequenos comprimentos de onda (altas energias).*

O contraste neste método é gerado pela interferência sofrida pelos feixes ao atravessarem a amostra. Ao se propagar pelo objeto, os raios sofrem desvios devido à mudança de índice de refração do meio (principalmente nas margens) e assim essas mudanças provocadas no caminho óptico do feixe alteram a fase da onda fazendo com que os raios X possam sofrer interferência construtiva ou destrutiva. Se os detalhes do objeto tiverem dimensões menores que o comprimento de coerência espacial podem-se observar os efeitos de fase no sistema de aquisição de imagens sendo que este também deve ter uma resolução suficiente para poder detectá-los <sup>[57]</sup>. Esta técnica depende primordialmente de uma fonte com boa coerência espacial <sup>[24, 53]</sup> (*Figura 16*).

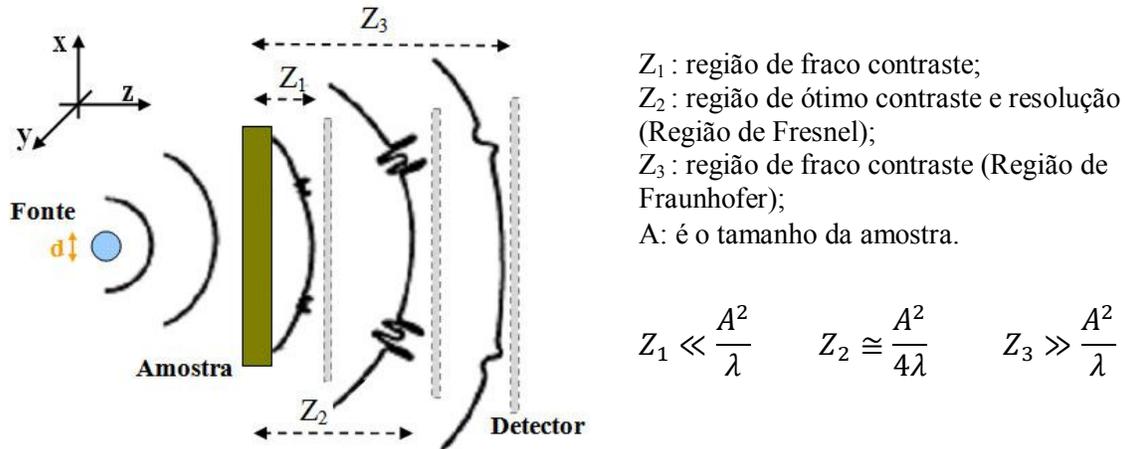
Geradores convencionais de raios-X não podem ser utilizados para obtenção de imagens por contraste de fase utilizando o método de propagação pois a coerência transversal do feixe é muito pequena tornando impossível a sua utilização sem qualquer instrumentação que torne o feixe coerente.

O gerador microfoco devido à utilização de lentes consegue fornecer feixes de alta coerência espacial o que torna viável seu uso no método de propagação <sup>[38]</sup>. Geradores de microfoco com tamanho de fonte de cerca de 5  $\mu\text{m}$ , com a amostra a uma distância da fonte de 2 m e com feixes de raios-X de 1 Å, o comprimento de coerência transversal alcança 20  $\mu\text{m}$ . Podem ser obtidos melhores valores ajustando a distância e a tensão do gerador <sup>[37]</sup>.

As fontes de luz síncrotron de segunda geração como o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron apresentam uma coerência espacial do feixe muito pequena, dificultando assim a utilização deste método. Para a linha XRD2 o comprimento de coerência espacial do feixe é aproximadamente 3  $\mu\text{m}$ , o que torna muito difícil a utilização deste método.

Já síncrotrons de terceira geração apresentam coerência espacial maior que os de segunda geração. Tanto a linha do Elettra quanto a do ESRF para aplicações médicas (SYRMEP – Elettra e ID19 – ESRF) apresentam uma coerência transversal do feixe com cerca de 20 e 100  $\mu\text{m}$  respectivamente. Neste caso, as imagens produzidas por contraste de fase podem ser obtidas colocando simplesmente o objeto a ser estudado na frente do feixe de raios X e otimizando a distância amostra-detector para que haja um realce do contraste na imagem.

Fontes síncrotrons de quarta geração apresentam uma coerência espacial que é comparada como a de um laser. Assim as imagens obtidas apresentam um grande contraste dependente da fase.



**Figura 16:** Diagrama onde ilustra a melhor distância para poder obter o maior contraste da amostra utilizando uma fonte microfoco. Adaptado da referência <sup>[52]</sup>.

Utilizando a região de difração de Fresnel e que o objeto é quase transparente ao feixe, pode-se escrever a intensidade que chega no detector como <sup>[34]</sup>:

$$I(x, y, z) \approx I(x, y, z = 0) \left\{ 1 - \frac{z\lambda}{2\pi} \nabla_{\perp}^2 \phi(x, y) \right\}, \quad \text{Eq. 22}$$

onde a variação da intensidade que chega no detector depende da distância da amostra detector ( $z$ ), do comprimento de onda ( $\lambda$ ) e do Laplaciano da fase da onda ( $\nabla_{\perp}^2 \phi$ ) no plano  $xy$ .

Da Eq. 22 fica claro que quando o sistema de aquisição se aproxima do objeto ( $z \rightarrow 0$ ) há uma diminuição do contraste de fase na imagem.

### 5.2.2 Interferômetro de raios-X

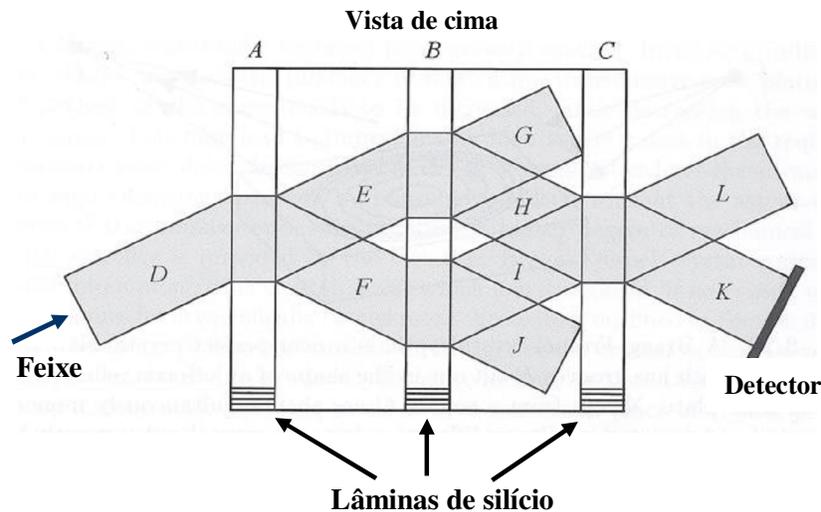
O interferômetro de raios X, conhecido também como interferômetro de Bonse–Hart, foi um dos primeiros aparatos capazes de produzir imagens por contraste de fase. Este instrumento utiliza três lâminas cristalinas paralelas, todas em condição de difração de Laue <sup>xv</sup> para produzir as ICF <sup>[58,59,60,61]</sup>

Este instrumento pode ser construído em um monobloco cristalino (na maioria de cristais perfeito de silício) cortado com alta precisão de modo a deixar três lâminas de cristais paralelas muito finas. O monobloco cristalino é cortado de uma maneira que as três lâminas estejam

<sup>xv</sup> A difração de Laue ocorre quando o feixe difratado emerge na face oposta à face de incidência (o feixe atravessa o cristal). Já para a difração de Bragg, o feixe incidente e o feixe difratado estão no mesmo lado do cristal (o feixe não atravessa o cristal).

orientadas com a mesma ordem cristalina e como são moldados em monoblocos pode-se assegurar uma boa estabilidade mecânica.

As lâminas do interferômetro são divididas de três modos: A primeira é conhecida como Separador do feixe (*beam splitter - S*), a segunda é um Espelho (*mirror - M*) e a terceira é um cristal Analisador (*Analyzer crystal - A*).



**Figura 17:** Esquema de um interferômetro difratando os feixes. Adaptado da referência <sup>[34]</sup>.

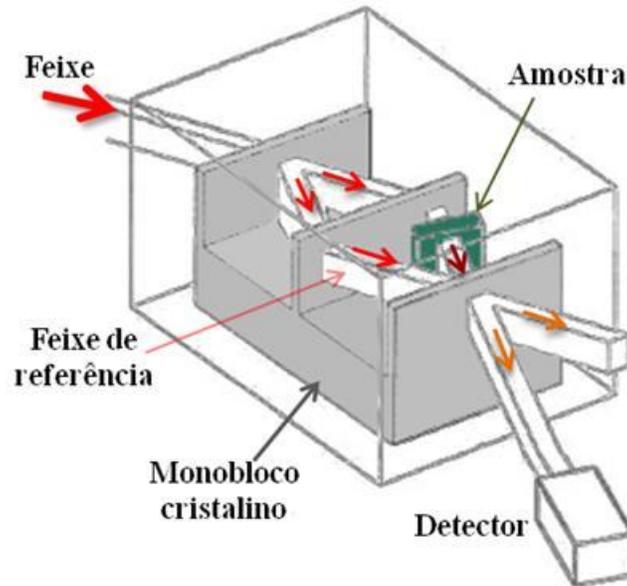
Primeiro um feixe monocromático (alta coerência temporal) (**D**) incide sobre a superfície do primeiro cristal, o separador (**A**), e é difratado em dois feixes (**E** e **F**). Um dos feixes tem a mesma direção do feixe incidente (**E**), já o outro é difratado no ângulo de Bragg (**F**). Se a espessura da lâmina é suficientemente fina os dois feixes emergem com igual intensidade <sup>[62,63]</sup>. Portanto quando atingido o ângulo de Bragg, os dois feixes difratados terão um máximo de intensidade <sup>[62]</sup>.

Agora os feixes **E** e **F** incidem sobre a segunda lâmina cristalina (**B**) e são novamente difratados. Os dois feixes incidentes em **B** são separados em mais quatro feixes (**G**, **H**, **I** e **J**) sendo que os feixes **G** e **J** serão descartados. Assim só restarão dois feixes, **H** e **I**.

Estes dois feixes incidirão sobre a última lâmina de cristal (**C**) onde haverá a sobreposição das ondas. Essa onda formada da união dos feixes **H** e **I** novamente serão difratadas nos feixes **L** e **K**, que atingem o detector. Como as distâncias entre as lâminas são quase as mesmas haverá a formação de um padrão de interferência das ondas no cristal analisador devido às ondas possuírem a mesma fase.

Com a presença de uma amostra em um dos caminhos do feixe (por exemplo em **H** – *Figura 17 e 18*), haverá variações no caminho óptico e na frente de onda que resultarão em mudanças de

fase ( $\phi(x, y)$ ) da onda eletromagnética que incidirá no analisador. Como um dos feixes que chega ao analisador não sofreu alteração (feixe que não atravessa a amostra) a este se somará o feixe que sofreu alterações (feixe que atravessou a amostra) e haverá uma modificação no padrão de interferência criada sobre o cristal analisador. Essa diferença de fase produzirá alterações de intensidade dos feixes difratados pelo cristal analisador que poderão ser observadas em um sistema de detecção.



**Figura 18:** Esquema de um interferômetro com a presença de uma amostra que cria perturbações na frente de onda. Adaptado da referência <sup>[34]</sup>.

Assim a intensidade que chega no detector pode ser escrita da seguinte maneira <sup>[34,60]</sup>:

$$I(x, y) = a(x, y) + b(x, y)\cos[k_x x + k_y y - \phi(x, y)], \quad \text{Eq. 23}$$

onde  $a(x, y)$  e  $b(x, y)$  são a intensidade média e a amplitude da franja, e o termo cosseno carrega as franjas (feixe de referência) e a mudança de fase que a onda sofreu na amostra.

À medida que a amostra cria perturbações na onda eletromagnética pela mudança de fase, a intensidade que chega ao detector também varia.

Como os padrões de interferência formados são da ordem do espaçamento dos planos cristalinos utiliza-se o cristal analisador essencialmente para transformar estes padrões de interferência a nível macroscópico, que pode assim ser observado em um detector. Este padrão macroscópico é simplesmente o padrão de Moiré resultante da sobreposição do padrão de escala atômica da onda com os planos atômicos do cristal analisador <sup>[64]</sup>.

Esta técnica tem aplicações reduzidas pelo pequeno tamanho disponível para se colocar a amostra [61]. O primeiro interferômetro construído por Bonse e Hart tinha dimensões pouco maiores que 21 mm [58]. Apesar disso, sua boa estabilidade mecânica e sua alta sensibilidade a variações de fase da amostra, o interferômetro consegue produzir imagens de amostra onde é possível visualizar detalhes menores que 50  $\mu\text{m}$ .

Houve implementação da técnica com excelentes imagens utilizando a tomografia [60]. Neste caso a amostra era posta a girar em torno de um eixo e assim eram obtidas varias imagens.

### 5.2.3 Imagens Realçadas por Difração (IRD)

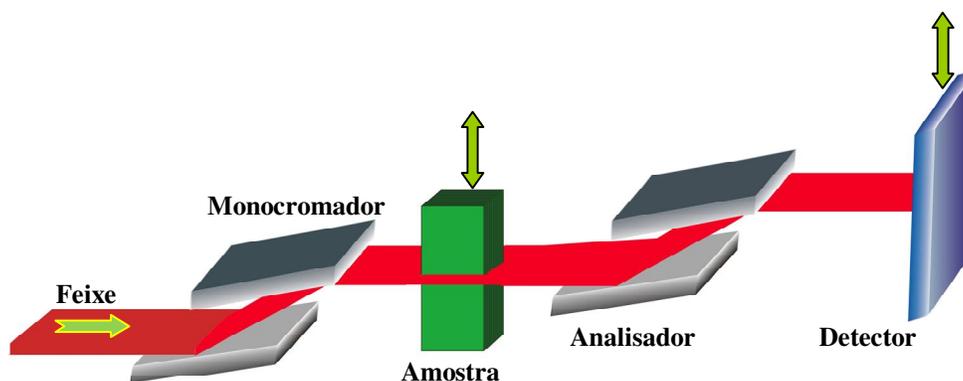
O arranjo de dois cristais em condição de difração dinâmica pode também ser explorado para a obtenção de imagens por contraste de fase tanto em fontes convencionais quanto em fontes de luz síncrotron [24,50,51,65,66,67,68,69]. Nestes dois casos a amostra é inserida entre dois cristais de alta qualidade cristalina numa geometria não-dispersiva (*Figura 19*). O cristal posicionado antes da amostra, denominado monocromador, serve para dar coerência difrativa e monocromatizar o feixe de raios X que incide na amostra.

O cristal posicionado após a amostra, denominado analisador, funciona como uma estreita fenda angular filtrando seletivamente os raios refratados pela amostra.

Os raios numa mesma frente de onda que estejam fora de fase com os feixes adjacentes devido aos efeitos de refração na amostra, mas que ainda incidam dentro da condição de Bragg do cristal analisador, vão interferir destrutivamente gerando uma alteração de intensidade [70]. Se estes raios forem refratados fora da condição de difração a sua refletividade torna-se próxima de zero o que faz com que eles não sejam difratados construtivamente o que também altera a intensidade.

Esta técnica é conhecida por Imagem Realçada por Difração, pois a formação do contraste ocorre devido aos efeitos de difração no cristal analisador. Pode-se também aperfeiçoar esta técnica com a utilização de dois cristais monolíticos sulcado (*channel-cut*) [67] (*Figura 19*).

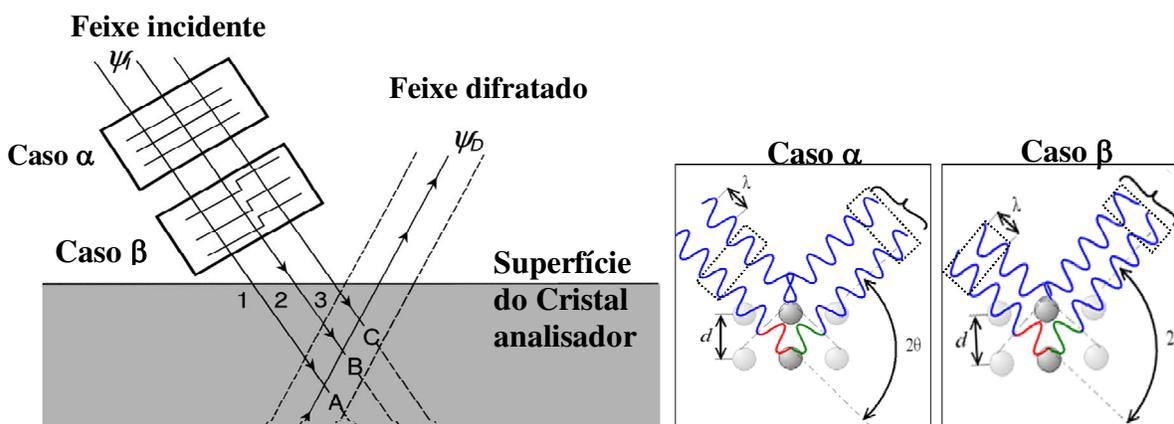
A amostra, colocada entre o monocromador e o analisador, cria perturbações na direção de propagação do feixe, devido aos efeitos de refração, o que resulta em desvios angulares ( $\Delta\theta$ ) e na mudança de fase da frente de onda. Este dois efeitos podem ser explorados para a formação do contraste nas imagens.



**Figura 19:** Esquema de uma montagem de dois cristais em geometria não-dispersiva.

### 5.2.3.1 Formação do contraste pela variação de fase da frente de onda

Quando não há amostra inserida entre os cristais, os raios provenientes do monocromador e incidentes sobre o analisador no ângulo de Bragg serão difratados como na *Figura 20* (caso  $\alpha$ ). Neste caso o feixe incidente ( $\psi_I$ ) é difratado e cada raio 1, 2 e 3 difrata construtivamente através dos respectivos planos cristalinos dados por **A**, **B** e **C**. Pelo fato de todos eles terem a mesma fase, os três raios serão difratados ( $\psi_D$ ) construtivamente pelo cristal analisador e isto resultará numa alta intensidade difratada.



**Figura 20:** Esquema de um cristal analisador usado para produzir o contraste de fase. No caso  $\alpha$ , o feixe incidente de ondas planas em fase produz um forte feixe difratado ao difratar no cristal. Para o caso  $\beta$  a presença de uma descontinuidade de fase conduz a uma interferência destrutiva entre os raios 3 e os outros dois, resultando assim em uma diminuição do feixe difratado e a formação do contraste de fase. Adaptado da referência<sup>[70]</sup>. Ao lado direito da figura é mostrado o caso  $\alpha$  e  $\beta$  ocorrendo a interferência construtiva e a destrutiva.

O mesmo não ocorre quando algo é posto entre os cristais, como uma amostra. Devido à diferença de materiais (diferença de densidades eletrônicas no material) e espessuras na amostra existirá uma descontinuidade de fase como mostrado na *Figura 20* entre os raios 2 e 3 na frente de onda (caso  $\beta$ ). Observando na *Figura 20* no caso  $\beta$ , os dois raios adjacentes 1 e 2 continuarão a ser difratados em fase pelo cristal analisador, mas como o raio 3 que difrata em **C** teve sua fase alterada em relação aos raios 1 e 2, a intensidade que é difratada pelo analisador será reduzida pelo fato do raio 3 estar agora interferindo destrutivamente com os outros raios <sup>[70]</sup>.

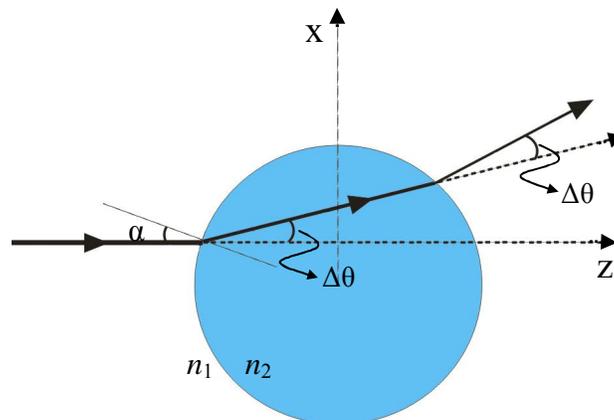
Pode também ocorrer que o raio 3 seja refratado de modo que o seu desvio seja tão grande (cerca de microradianos) que ele não caía mais na condição de difração do cristal analisador e assim não será difratado (os raios que não serão mais difratados pelo analisador foram desviados pelo objeto acima da largura da curva de difração do cristal analisador que vale cerca de microradianos <sup>[48, 65]</sup>).

Portanto essa interferência entre os raios cria regiões onde há uma diminuição da intensidade difratada pelo cristal analisador o que gera o contraste na imagem. Mais a frente será mostrado que os desvios dos feixes na amostra dependem do gradiente de fase.

### 5.2.3.2 Formação do contraste pelos feixes desviados

Outra maneira de observar a formação do contraste de fase é através dos feixes que foram desviados pela amostra acima da largura da curva de difração, pois estes formam um gradiente de fase na onda que incide no analisador <sup>[24,65]</sup>.

Os raios ao atravessarem a amostra, apesar da pouca interação dos raios X com a matéria, serão desviados de acordo com o índice de refração do material dado que estes desvios podem ser estimados pela lei de Snell.



**Figura 21:** Feixe de raios X propagando-se num meio  $n_1$  e incidindo sobre um objeto com índice de refração  $n_2$ .

Como  $\delta \gg \beta$ , pode-se aproximar o índice de refração apenas pela parte real ( $n \cong 1 - \delta$ ) e portanto tem-se:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2,$$

$$(1 - \delta_1) \sin \alpha = (1 - \delta_2) \sin(\alpha + \Delta\theta), \quad \text{Eq. 24}$$

onde  $\Delta\theta$  é o desvio sofrido pelo feixe devido à refração na amostra e  $\alpha$  é o ângulo entre a direção incidente do feixe e a normal da face do objeto (Figura 21). Como os desvios angulares  $\Delta\theta$  são pequenos, resolvendo a Eq. 24 obtém-se:

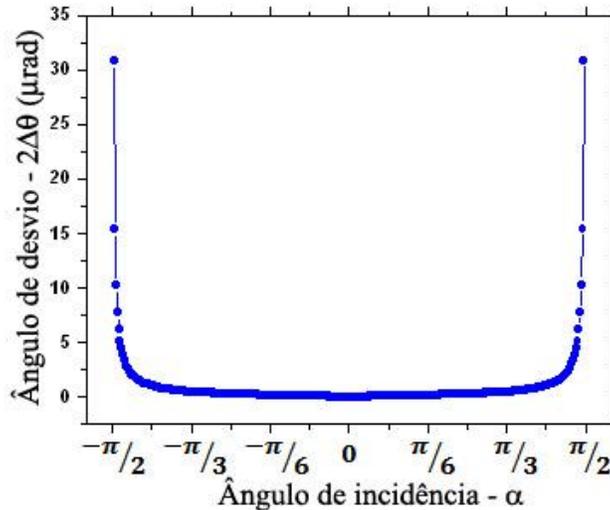
$$\Delta\theta = \Delta\delta \tan \alpha. \quad \text{Eq. 25}$$

Pode-se escrever  $\delta = 1,35 \cdot 10^8 \lambda^2 [m^2] \rho [gm^{-3}]$  <sup>[42,71]</sup> e utilizando a Eq. 25 pode-se encontrar  $\Delta\theta$ :

$$\Delta\theta = 1,35 \cdot 10^8 \lambda^2 (\rho_2 - \rho_1) \tan \alpha, \quad \text{Eq. 26}$$

onde  $\rho_1$  e  $\rho_2$  são as densidade dos objetos com índice de refração  $n_1$  e  $n_2$  respectivamente.

Utilizando o mesmo princípio matemático para o feixe incidente, tem-se que o feixe ao se propagar pela amostra e ao sair, ele sofrerá um desvio total de  $2\Delta\theta$ . Para um feixe monocromático de comprimento de onda  $\lambda = 1,199 \text{ \AA}$  (10,34 keV) o desvio total do feixe de radiação ao atravessar um pedaço de tecido de mama ( $\rho = 1,02 \times 10^6 \text{ gm}^{-3}$ ) com tecido adiposo ( $\rho = 0,95 \times 10^6 \text{ gm}^{-3}$ ) é  $2\Delta\theta \approx 2,7 \times 10^{-7} \tan \alpha$ .



**Figura 22:** O gráfico mostra que quando os raios atingem as bordas dos objetos ( $\alpha \rightarrow \pm\pi/2$ ) o ângulo de desvio aumenta rapidamente.

### Aceitação angular dos feixes desviados

Como mencionado anteriormente alguns raios que foram desviados na amostra podem ainda ser difratados pelo analisador devido a estes ainda estarem dentro da largura da curva de difração (ou curva de refletividade). A aceitação angular dos feixes desviados ao atravessarem a amostra dependerá da largura desta curva de refletividade.

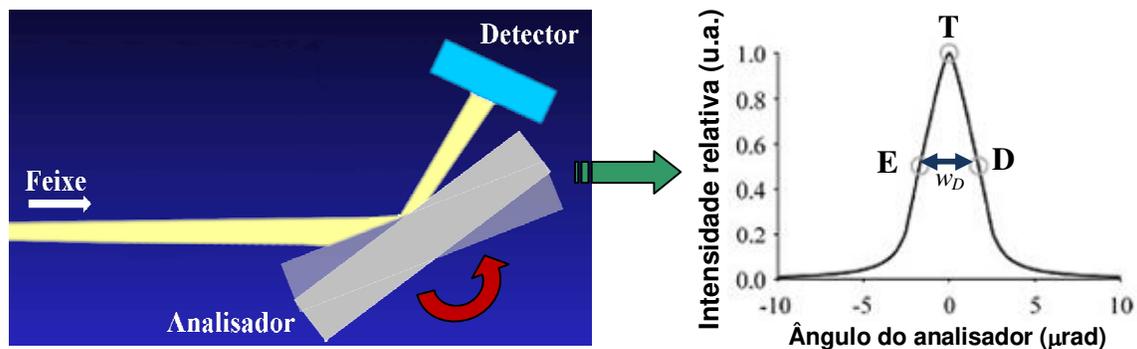
Esta curva de difração representa a refletividade do cristal em torno do ângulo de Bragg da reflexão ( $\theta_B$ ), onde a largura da curva a meia altura (*Full Width at Half Maximum - FWHM*) é dada pela largura angular de Darwin ( $w_D$ ) do cristal analisador <sup>[63,72]</sup>.

$$w_D = \frac{2\lambda^2 r_o K |F|}{\pi V_c \sin 2\theta_B}, \quad \text{Eq. 27}$$

onde  $\lambda$  é o comprimento de onda do feixe incidente,  $K$  é o fator de polarização (1 ou  $|\cos 2\theta_B|$ ),  $F$  é o fator de estrutura e  $V_c$  é o volume da célula unitária.

Para um cristal de silício o valor da  $w_D$  está por volta de 1 a 20  $\mu\text{rad}$  <sup>[24]</sup>. Para um cristal simétrico alinhado na reflexão (333) difratando um feixe de comprimento de onda  $\lambda = 1,199 \text{ \AA}$  ( $\theta_B = 35^\circ$ ), o valor da largura angular de Darwin vale  $w_D \approx 5 \mu\text{rad}$  <sup>[73]</sup>.

Esta curva de difração exibe um perfil próximo de uma gaussiana e é obtida ao rotacionar o cristal analisador em torno do ângulo de Bragg sem a presença da amostra na frente do feixe.



**Figura 23:** Ao rotacionar o cristal analisador em torno do ângulo de Bragg obtém-se a curva de difração, cuja largura a meia altura é dada pela largura de Darwin

Portanto quando os feixes forem desviados pela amostra acima da largura de Darwin eles não estarão mais em condição de difração e não serão difratados pelo cristal que filtrará esses raios não os deixando seguir até o sistema de imagem. Por isso o cristal analisador é conhecido como um filtro angular.

A formação do contraste de fase numa imagem produzida pelo método IRD se deve a observação do gradiente de fase da onda que pode ser obtidos por estes dois fenômenos: a variação

de fase da frente de onda gerada na amostra devido ao feixe atravessar diferentes materiais e também através da observação dos desvios provocados no caminho óptico dos feixes quando estes encontraram diferentes índices de refração.

### 5.3 Princípios das Imagens Realçadas por Difração

O princípio das imagens realçadas por difração se baseia em retirar as componentes do feixe que não formarão a imagem e sim acrescentarão ruído na imagem. Isto pode ser alcançado com a utilização de um sistema cristalino colocado após a amostra, no caso o cristal analisador.

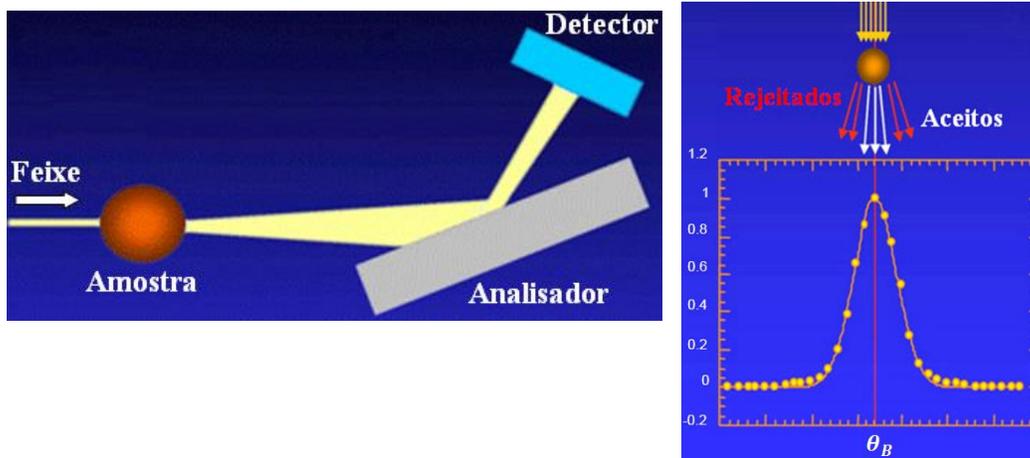
Quando o feixe de raios X atravessa uma amostra, ele pode sofrer diversos tipos de interações com a matéria. Parte do feixe pode sofrer desvios e outra parte pode seguir sem qualquer mudança angular. A fase da onda também é alterada devido à mudança de caminho óptico do feixe que atravessa a amostra.

A variação da fase produzida na amostra contribui para a variação da intensidade do feixe difratado pelo analisador. O método proposto de realização de imagens utiliza um cristal analisador para difratar as ondas coerentes e assim filtrar o espectro de Fourier criando o contraste de fase nas imagens <sup>[34]</sup>. Em termos da óptica geométrica pode-se dizer que o cristal analisador somente difrata os raios que estão numa estreita largura angular próxima ao ângulo de Bragg da reflexão.

Quando o cristal analisador é ajustado para o máximo de difração da curva ( $\theta_B$  - posição T *Figura 23*), os raios que não sofreram desvios na amostra serão difratados com o máximo de intensidade pelo cristal analisador. Se estes feixes forem desviados pela amostra com ângulos positivos (para a direita da curva de difração) ou ângulos negativos (para a esquerda da curva de difração) eles serão difratados pelo analisador com intensidade reduzida que será dada pela altura da curva de refletividade. Os feixes desviados com ângulos a meia altura da curva de difração terão suas intensidades reduzida pela metade, se forem desviados a ângulos mais distantes do topo, a refletividade do cristal diminui ainda mais e então a intensidade com que eles são difratados também diminui.

Já os feixes que sofreram desvios maiores que a largura da curva não satisfazem a condição de difração e com isso o cristal analisador pondera a intensidade destes raios para zero, o que ocorre principalmente em regiões de interface de tecidos onde há um gradiente do índice de refração (mudança de fase) <sup>[24,65]</sup>. Portanto estas regiões poderão ser visualizadas com maior nitidez devido ao alto contraste formado.

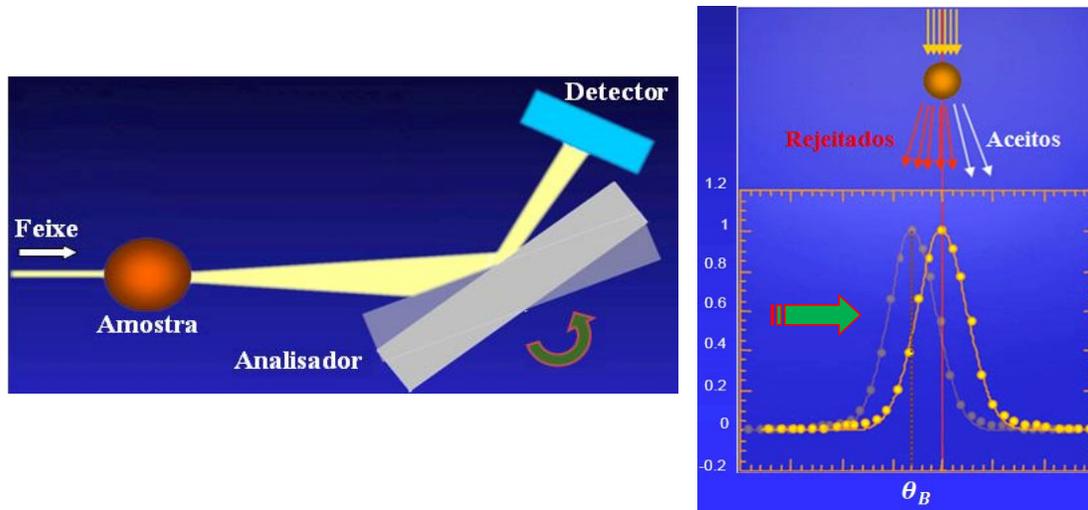
Observando a *Figura 24* os raios em branco estão dentro da largura da curva de difração onde serão ponderados por ela. Já os raios em vermelho foram desviados pela amostra devido a um gradiente de fase acima da largura da curva de difração e portanto não serão difratados pelo analisador criando assim o contraste de fase.



**Figura 24:** Quando a curva de difração está ajustada para o topo, os raios que desviaram acima da largura da curva na amostra (raios em vermelho) cairão fora de difração (refletividade 0). Os raios que ainda estão dentro da largura curva terão sua intensidade ponderada pelos ângulos que eles foram desviados na amostra (raios em branco).

Ao invés de ajustar o cristal para o topo da curva de difração, ajusta-se para um dos flancos. Os raios que antes não foram desviados na amostra e estavam sendo difratados com o máximo de refletividade, estarão sendo agora refletidos com refletividade mais baixa porque estarão fora do máximo de difração (*Figura 25*). Os feixes que estavam sendo refratados poderão agora ter sua intensidade aumentada ou diminuída dependendo da escolha da posição do cristal analisador em relação à posição na curva de difração. Por exemplo, quando se ajusta a curva para a largura a meia altura do lado direito como na *Figura 25* ( $\theta_B + w_D/2$ ) os feixes que estavam sendo refletidos com máximo de intensidade (1,0 – antigo topo) agora terão suas intensidades diminuídas para uma refletividade de 0,5. Já para os raios que estavam refratados a ângulos positivos (feixes com ângulos de refração de  $\theta_B + w_D/2$ ) e tinham sua intensidade dada por uma refletividade de 0,5 antes do deslocamento da curva, agora serão ajustados para o máximo de intensidade (refletividade 1,0).

Para os raios que foram refratados para a esquerda da curva, sua refletividade se tornará quase nula devido ao deslocamento do cristal. Outra característica é que feixes que antes não chegavam na imagem agora também serão difratados construtivamente como os raios bem distantes do topo a direita da curva. Isto faz com que regiões que apresentam maiores variações no índice de refração forneçam mais detalhes nas imagens.



**Figura 25:** Quando o analisador é deslocado do ângulo de Bragg para um flanco à direita, os raios que antes estavam sendo refletidos com máximo de intensidade (raios que não sofriram desvios na amostra) agora terão sua intensidade reduzida pela metade. Os raios que foram refratados em ângulos positivos (à direita da curva de difração) antes tinham sua intensidade reduzida pela metade agora serão refletidos com o máximo (estão na condição de Bragg). Para os ângulos que desviaram na amostra em ângulos negativos (à esquerda da curva de difração) terão sua intensidade reduzida para quase zero.

O mesmo ocorre quando a curva de refletividade é ajustada para um flanco esquerdo ( $\theta_B - w_D/2$ ). A inversão em relação ao flanco direito é que os feixes com máximo de intensidade serão aqueles que eram refratados com ângulos para a esquerda da curva de difração.

Quanto mais distante do topo uma imagem é produzida, maior será a intensidade dos feixes que foram desviados na amostra em ângulos maiores, criando uma imagem com detalhes da amostra que provocaram grandes desvios do feixe.

### 5.3.1 Imagens de Absorção Aparente e Refração.

As imagens de absorção aparente e refração podem revelar detalhes ainda maiores da amostra em que uma imagem de absorção aparente é formada por efeitos de absorção, extinção e espalhamento a baixo ângulo. Já uma imagem de refração revela o gradiente do índice de refração de um objeto e portanto mostra com detalhes regiões de margens de um objeto.

Quando o analisador é ajustado para um ângulo  $\theta$ , sem a amostra na frente do feixe, a intensidade difratada por este é dado por <sup>[65]</sup>:

$$I_{IRD} = I_{IN}\{R(\theta + \Delta\theta_Z)\}, \quad \text{Eq. 28}$$

onde  $I_{IN}$  é a intensidade do feixe que apenas sofreu atenuação no objeto,  $R(\theta)$  é a refletividade do analisador e  $\Delta\theta_Z$  é o desvio angular sofrido por refração do feixe ao atravessar a amostra na direção  $z$ . Este desvio relaciona-se com o gradiente de fase como  $\Delta\theta_Z \approx -\lambda/2\pi \nabla\varphi(x, y)$ .

Se o cristal analisador é ajustado para um dos flancos da curva de difração, a intensidade que é difratada por este pode ser escrita da seguinte maneira:

$$I_{IRD} = I_{IN} \{R(\theta_B \pm w_D/2 + \Delta\theta_Z)\}. \quad \text{Eq. 29}$$

Onde o sinal de  $\pm w_D/2$  decorre da escolha do flanco direito ( $+w_D/2$ ) ou esquerdo ( $-w_D/2$ ).

Para  $\Delta\theta_Z$  pequenos comparados com a largura da curva ( $w_D \approx 5 \mu\text{rad}$ ) e sabendo que a curva de difração na largura a meia altura é suficientemente constante (inclinação da curva ao redor de um ponto na largura a meia altura é próximo de uma reta) para pequenos valores de  $\Delta\theta_Z$ , pode-se expandir a refletividade em série de Taylor para os dois primeiros termos.

$$R(\theta_0 + \Delta\theta_Z) = R(\theta_0) + \frac{dR(\theta_0)}{d\theta} \Delta\theta_Z. \quad \text{Eq. 30}$$

Assim substituindo a Eq. 30 na Eq. 29 :

$$I_{IRD} = I_{IN} \left\{ R(\theta) + \frac{dR(\theta)}{d\theta} \Delta\theta_Z \right\}. \quad \text{Eq. 31}$$

Agora o cristal analisador é ajustado para um dos flancos da curva de difração e realiza-se uma imagem. O mesmo também é feito para o flanco oposto na mesma posição (posição simétrica). A intensidade dos flancos esquerdo ( $I_{IRD}^E$  - ajustado para posição  $\theta_E$ ) e direito ( $I_{IRD}^D$  - ajustado para posição  $\theta_D$ ) é dada como:

$$I_{IRD}^E = I_{IN} \left\{ R(\theta_E) + \frac{dR(\theta_E)}{d\theta} \Delta\theta_Z \right\}, \quad \text{Eq. 32a}$$

$$I_{IRD}^D = I_{IN} \left\{ R(\theta_D) + \frac{dR(\theta_D)}{d\theta} \Delta\theta_Z \right\}. \quad \text{Eq. 32b}$$

Resolvendo a Eq. 32 para  $I_{IN}$  e  $\Delta\theta_Z$  encontra-se uma equação para a intensidade para a Absorção Aparente ( $I_{IN}$ ) e outra para Refração ( $\Delta\theta_Z$ )<sup>[65]</sup>. Pode-se pensar que os dois efeitos mais importantes que o feixe sofre na amostra estão sendo isolados em duas imagens.

$$I_{IN} = \frac{I_{IRD}^E \frac{dR(\theta_D)}{d\theta} - I_{IRD}^D \frac{dR(\theta_E)}{d\theta}}{R(\theta_E) \frac{dR(\theta_D)}{d\theta} - R(\theta_D) \frac{dR(\theta_E)}{d\theta}} \quad \text{Eq. 33a}$$

$$\Delta\theta_Z = \frac{I_{IRD}^D R(\theta_E) - I_{IRD}^E R(\theta_D)}{I_{IRD}^E \frac{dR(\theta_D)}{d\theta} - I_{IRD}^D \frac{dR(\theta_E)}{d\theta}}. \quad \text{Eq. 33b}$$

As duas Eq. 33 a e b são aplicadas ponto a ponto (pixel a pixel) nas imagens de baixo ângulo ( $\theta_E$ ) e alto ângulo ( $\theta_D$ ).

Simplificando estas equações onde será usado que  $R(\theta_E) = R(\theta_D)$ , pois se escolhe uma posição simétrica da curva e que também  $dR(\theta_D)/d\theta = -dR(\theta_E)/d\theta$ . Assim as equações acima se tornam:

$$I_{IN} = \frac{I_{IRD}^E + I_{IRD}^D}{2 R(\theta_D)}, \quad \text{Eq. 34a}$$

$$\Delta\theta_Z = \frac{R(\theta_D) (I_{IRD}^D - I_{IRD}^E)}{\frac{dR(\theta_D)}{d\theta} [I_{IRD}^E + I_{IRD}^D]}. \quad \text{Eq. 34b}$$

Quando estes algoritmos matemáticos foram propostos, as imagens obtidas de absorção aparente e refração foram apenas de posições de meia altura da curva de difração. No entanto nesta dissertação foram também realizados os procedimentos matemáticos acima em imagens em outras posições da curva de difração mostrando que a técnica pode ser explorada com o cristal analisador ajustado para várias posições, não só na largura a meia altura.

Uma das maiores dificuldades da produção das imagens de Absorção Aparente e Refração é que as duas imagens necessárias para a produção das primeiras devem estar perfeitamente alinhadas (pixel a pixel das duas imagens) quando se aplica os algoritmos. A falta de alinhamento prejudica a visualização e gera artefatos. Para evitar estes problemas, as imagens obtidas nos flancos da curva eram primeiro alinhadas uma com a outra através do software *Adobe Photoshop CS*. Depois utilizando o software *MATLAB*<sup>®</sup>, aplicavam-se os algoritmos nas duas imagens dos flancos. Este deslocamento das imagens era gerado por causa do uso de um detector *imaging plates* que necessitava ser removido manualmente do suporte para que fosse obtida a imagem e também o formato da leitora das placas (forma cilíndrica). Assim poderia ocorrer da placa de imagem não retornar exatamente na mesma posição anterior para a obtenção de uma imagem e também que a placa fosse posta de forma desalinhada na leitora.

## 6 Realização experimental

### 6.1 Materiais e métodos

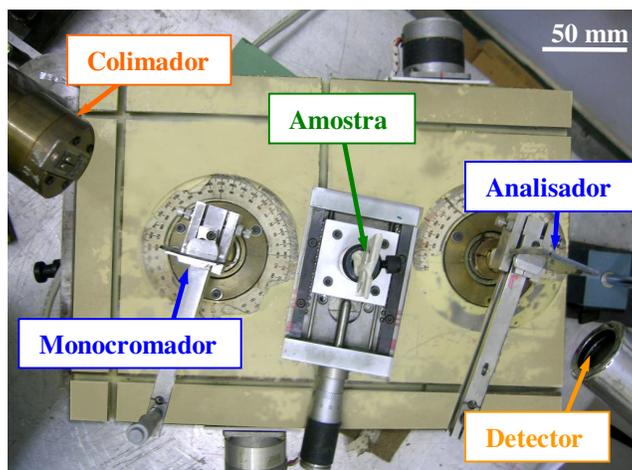
Para produzir as radiografias das amostras, através do método de Imagens por Realce da Difração (IRD) e também pelo método convencional, os experimentos foram realizados na linha de luz XRD2 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) e também no Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios X (LCARX – IFGW/UNICAMP). Tanto no LNLS quanto no LCARX a montagem consistia de um arranjo de dois cristais (monocromador e analisador) sobre uma mesa difratométrica (duplo eixo) de ferro fundido que proporcionava boa estabilidade mecânica e térmica. As imagens geradas no LCARX foram apenas do perfil de linha de um corpo de prova para comparar que a técnica de contraste de fase tem imagens superiores em detalhes em relação a uma imagem convencional. Já as imagens realizadas no LNLS foram produzidas pelo método IRD e também através do método convencional no qual se podem analisar vários tipos de amostras.

Além das imagens obtidas no LNLS também foram produzidas imagens das amostras de tecido de mama por um mamógrafo convencional da marca *Siemens* do Centro de Atenção Integrada à Saúde da Mulher (CAISM - UNICAMP) com tubo e filtro de Molibdênio. Este é o mesmo aparelho que realiza imagens de mama em pacientes. A tensão e corrente utilizada no mamógrafo foi de 26 kV e 2,8 mAs pois estes foram os parâmetros que proporcionaram as melhores imagens e que são próximos dos utilizados nos exames de mama. Estas foram obtidas em filmes de mamografia MIN-R da KODAK e depois digitalizadas.

#### 6.1.1 Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios-X

Na montagem para produção de IRD no LCARX foi utilizado um gerador de raios X da marca Rigaku Denki modelo D-10C e um tubo com alvo de Molibdênio ( $MoK_{\alpha 1} = 0,714 \text{ \AA}$ ) da marca *Siemens*. Os perfis de linha foram produzidos varrendo a amostra na frente do feixe e as contagens foram obtidas por um detector de cintilação (NaI).

Na montagem experimental foram utilizados cristais de silício cortados simétricos na reflexão (111). No entanto, foi utilizada a reflexão (333) e radiação  $K_{\alpha}$  do molibdênio assim o ângulo de Bragg era  $\theta_B = 19,9^{\circ}$ .

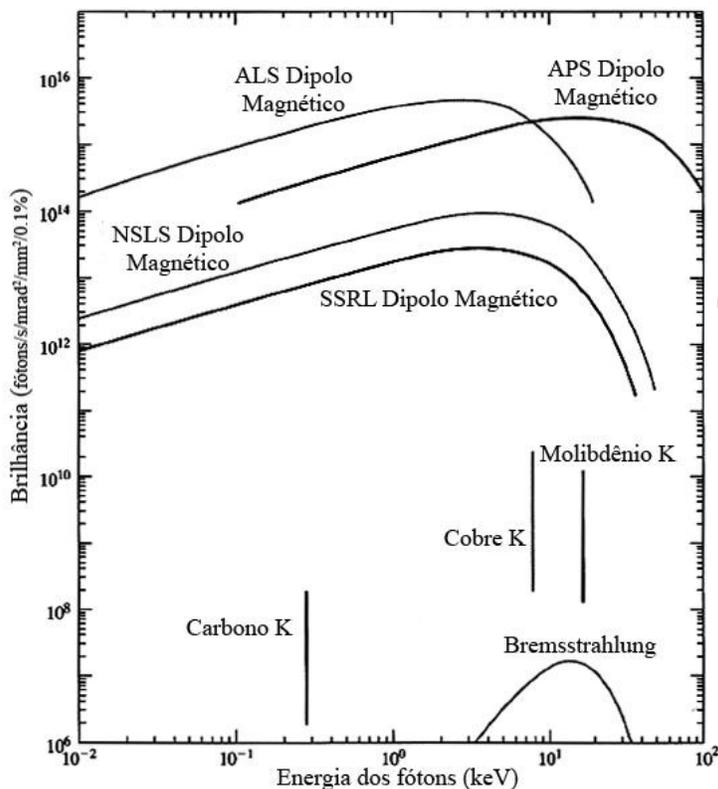


**Figura 26:** Duplo eixo difratométrico com suporte para os cristais de silício.

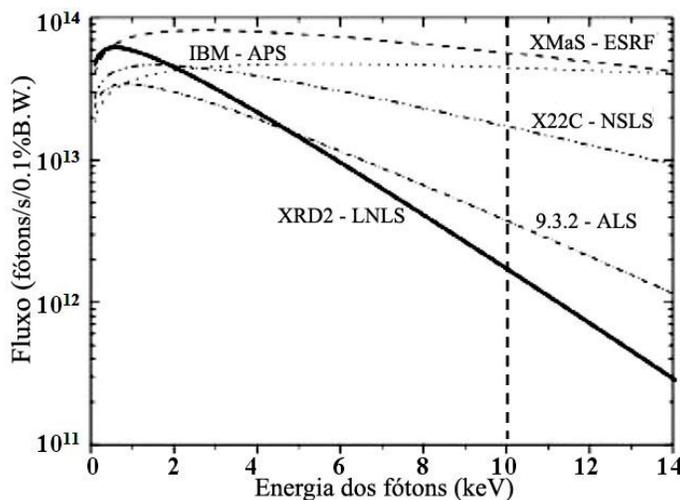
O sistema cristalino e o porta amostra foram colocados sobre um duplo eixo (*Figura 26*) onde os cristais eram montados em um arranjo não dispersivo. O cristal monocromador era posicionado a aproximadamente 100 mm da saída do colimador de raios X, que tem comprimento total de 1000 mm. A distância utilizada entre o cristal analisador e o monocromador era de 200 mm e entre eles era colocado um translador com a amostra. No caso do detector de cintilação, ele era posicionado muito próximo do cristal analisador. O cristal monocromador e o analisador tinham dimensões de  $55 \times 35 \text{ mm}^2$ .

Para a produção das imagens, primeiro ajustava-se o cristal monocromador para o ângulo de Bragg da reflexão ( $\theta_B = 19,9^\circ$ ) manualmente. Em seguida, através de um sistema de motores de rotação, o cristal monocromador era ajustado para o máximo da curva de difração onde a intensidade era medida por um detector de cintilação. O mesmo procedimento era realizado com o segundo cristal, o analisador. Como as curvas de difração são da ordem de poucos microradianos, o tempo necessário para alinhar os cristais podia levar cerca de horas.

Após o alinhamento dos cristais, a amostra era deslocada por uma mesa transladora entre os dois cristais e a variação de intensidade era medida por um detector de NaI colocado após o cristal analisador.



**Figura 27:** Intensidade de vários sincrotrons e alguns tubos de raios X em função da energia do fóton. ALS (Advanced Light Source), APS (Advanced Photon Source), NLSL (National Synchrotron Light Source), SSRL (Stanford Synchrotron Radiation Laboratory). Adaptado da referência <sup>[33]</sup>.



**Figura 28:** Fluxo de fótons para cada energia de várias linhas de luz de diferentes sincrotrons. Adaptado da referência <sup>[74]</sup>.

Para a realização de imagens utilizando geradores convencionais de raios X. O tempo necessário de exposição pode ser da ordem de horas devido ao baixo fluxo de fótons que esses geradores fornecem (*Figura 27*) em relação a fontes de luz síncrotron, o que torna difícil a realização das imagens. Devido ao tempo elevado de aquisição de uma imagem, podem ocorrer problemas com a estabilidade do sistema, como a variação do fluxo gerado pela fonte, instabilidade nos cristais e também do sistema de translação.

Como fontes de luz síncrotron apresentam uma brilhância <sup>XVI</sup> muito maior que tubos convencionais (*Figura 27*), o método de imagens realçadas por difração pôde ser implementado com sucesso em síncrotrons de segunda e terceira geração.

### 6.1.2 Laboratório Nacional de Luz Síncrotron

A montagem experimental para produção de Imagens Realçadas por Difração era realizada na linha de luz XRD2 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). A energia de trabalho selecionada pelo pré-monocromador da linha era de 10,34 keV o que corresponde a um comprimento de onda de 1,199 Å. Energias maiores para o feixe de radiação afetavam a fluência (*Figura 28*) e conseqüentemente maior deveria ser o tempo de exposição das amostras para a aquisição de uma imagem. O aumento da energia também influenciava a capacidade de absorção dos fótons pelas placas de imagens (sistema de aquisição - *Imaging Plate*) <sup>[40]</sup>. Quanto maior a energia dos fótons menor era a absorção das placas.

A montagem no LNLS consistiu de dois cristais, monocromador e analisador, de silício cortados simétrico na direção (111) tipo “*channel-cut*” com dimensões de 40 x 50 mm<sup>2</sup> e ajustados para a reflexão (333). Como no LCARX, os cristais também eram suportados por um difratômetro de duplo eixo de ferro fundido com boa estabilidade mecânica e térmica, mas diferentemente do LCARX o duplo eixo no LNLS era suportado na posição vertical e não na horizontal. Isto é devido à radiação no LNLS ter uma menor divergência do feixe no plano vertical.

O primeiro passo da montagem era o alinhamento dos cristais, monocromador e analisador, respectivamente. Utilizando a *Eq. 7* e conhecendo a energia do feixe e também que os cristais eram de silício na orientação (333), pode-se obter o ângulo de Bragg da reflexão. Assim, o cristal monocromador era ajustado para este ângulo de difração e com a ajuda de motores de rotação de alta precisão era realizada a curva de refletividade deste cristal em torno do ângulo de Bragg. Em seguida ajustava-se o cristal monocromador para o máximo desta curva. O mesmo procedimento era

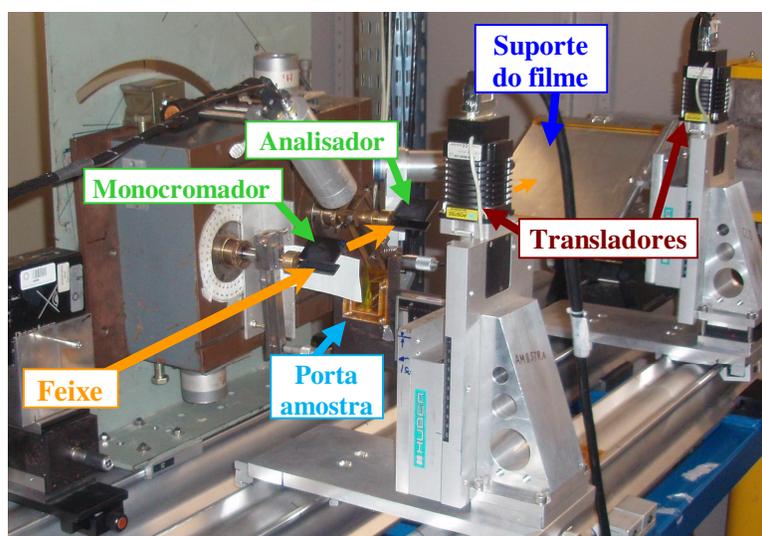
---

<sup>XVI</sup> Fluxo por unidade de área da fonte de radiação por unidade de ângulo sólido do cone de radiação por unidade de largura de banda espectral

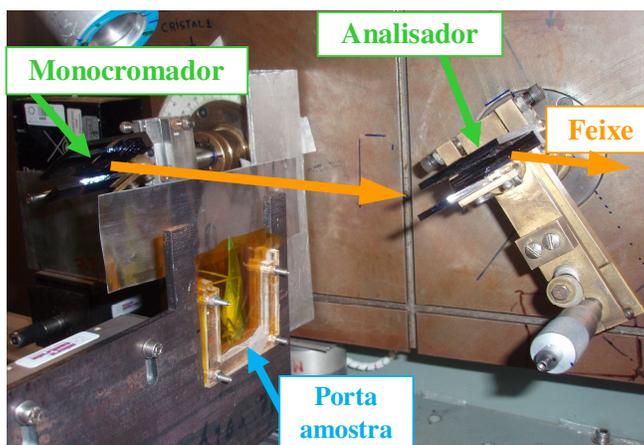
realizado com o analisador. Esta é uma das principais etapas da montagem para a realização das imagens porque o mau alinhamento dos cristais afeta a qualidade das imagens e também a quantidade de fótons que incide na amostra e no detector.

Como o duplo eixo utilizado no síncrotron era igual ao LCARX, a distância utilizada entre o monocromador e o analisador foi de aproximadamente 200 mm. A distância entre a fonte e o monocromador foi de aproximadamente 17 m e a distância entre o analisador e o sistema de aquisição de imagens foi de 510 mm (*Figura 29 e 30*).

Após o ajuste dos cristais, a amostra era posta sobre um translador entre os dois cristais e um segundo translador era utilizado após o cristal analisador para sustentar o sistema de aquisição de imagens (*Figura 29*).



**Figura 29:** Montagem experimental LNL para obtenção de imagens realçadas por difração.



**Figura 30:** Montagem na linha XRD2 para obtenção de imagens realçadas por difração. Vista lateral

O feixe de raios X difratado no monocromador tinha dimensões de  $1\text{ mm}$  na vertical por  $20\text{ mm}$  na horizontal. Devido ao tamanho reduzido do feixe na direção vertical, a amostra e o detector eram suportados por dois transladores lineares de alta precisão que deslocavam na vertical simultaneamente a amostra e o sistema de detecção (*Figura 29*). A velocidade de deslocamento do sistema era alterada conforme as características das amostras como espessura, tamanho e o ganho ajustado na leitora de imagens. O tempo de aquisição de uma imagem variava de 3 a 5 minutos.

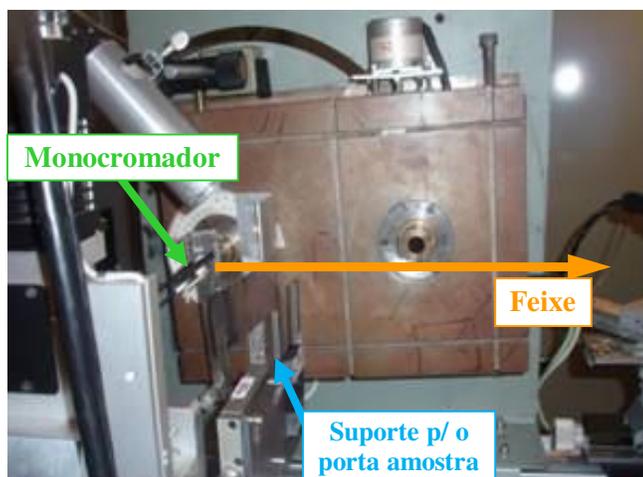
### *Sistema de aquisição de imagens*

Na montagem realizada no síncrotron, o sistema de detecção utilizado foi uma placa de imagens (*Imaging Plate*) modelo IPC2 da *General Electric* (GE) e uma leitora GE modelo CR 50P (*Figura 31*) conectada a um computador. Essas placas de imagens são produzidas por materiais que absorvem os fótons de raios X e depois podem ser lidas através de um fenômeno conhecido como fotoluminescência estimulada <sup>[12,40]</sup>. Os materiais usados nestas placas são muitas vezes BaFBr e BaFI <sup>[12]</sup>. Este material presente na placa de imagem absorve os fótons de raios X e assim elétrons são excitados da banda de valência para a banda de condução. Esta placa depois da exposição ao feixe de raios X é posta em uma leitora que emite um feixe de laser fazendo com que estes elétrons retornem a camada de valência emitindo luz com intensidade proporcional a quantidade de fótons de raios X absorvidos pela placa.

Após a exposição das placas de imagens, estas eram retiradas de um suporte (suporte do filme – *Figura 27*) e colocadas na leitora. As imagens obtidas pelas *imaging plates* apresentavam tamanho de pixel de  $50 \times 50\ \mu\text{m}^2$ . Depois da leitura da placa de imagens, esta era automaticamente “limpa” pela leitora e novamente a placa retornava ao suporte para a aquisição de uma nova imagem. Todas as imagens eram obtidas com a mesma placa de imagens para evitar qualquer problema com a qualidade nas imagens.



**Figura 31:** Foto da leitora das placas de imagens



**Figura 32:** Montagem para obtenção de imagens pelo método convencional no LNLS. Duplo eixo sem o cristal analisador.

#### *Imagens convencionais utilizando luz síncrotron*

As imagens produzidas pelo método convencional utilizando luz síncrotron foram obtidas em condições similares às imagens realçadas por difração. A diferença entre elas consistiu na retirada do cristal colocado após a amostra, o analisador (*Figura 32*). Isto fazia com que os feixes que sofreram desvios da ordem de microradianos na amostra ainda alcançavam o detector tornando a imagem com baixa resolução (regiões mal definidas) quando comparada com uma imagem quando o analisador era utilizado.

## 6.2 Amostras

A amostra utilizada para as medidas realizadas no LCARX foi um tubo de plástico (tubo interno de uma caneta esferográfica). Este corpo de prova permite verificar os efeitos do contraste de fase que ocorrem nas bordas do objeto. Este tubo era posto no porta amostra na posição vertical porque o efeito do realce da difração ocorre somente na direção horizontal (direção dos planos de difração).

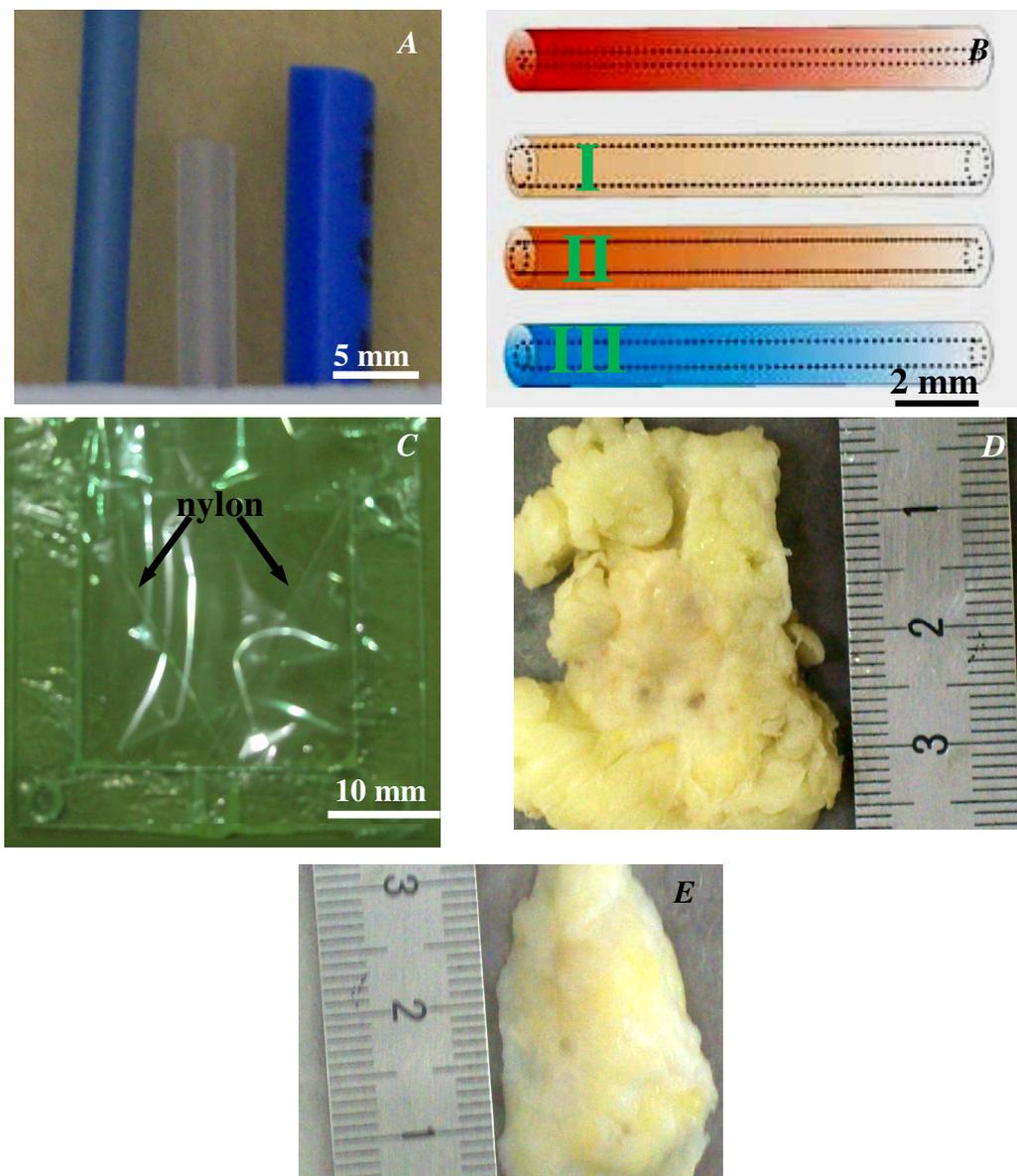
Já nos experimentos na linha XRD2 do LNLS foram utilizados corpo de provas de diversas dimensões (*Figura 33A e B*), fios de nylon (*Figura 33C*), tecidos histológicos de mama (*Figura 33D e E*) e um inseto. Os corpo de provas eram tubos de plásticos de diferentes diâmetros.

As amostras de tecido mamário patogênicas foram fornecidas pelo Dr. César Cabello do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM). As amostras de mama foram retiradas do órgão mamário após a realização da mastectomia<sup>xvii</sup> e assim se selecionava uma pequena fatia da região que aparentava ter tecido patogênico e sadio.

Os fios de nylon foram colocados em forma de X dentro de um porta amostra feito de acrílico e mylar (*Figura 33C*). Uma experiência foi realizada preenchendo o interior do porta amostra com solução de metanol com a presença dos fios. Como será mostrado estes dois materiais apresentam um coeficiente de atenuação muito próximo, o que torna muito difícil distingui-los em uma radiografia convencional.

---

<sup>xvii</sup> *Remoção cirúrgica da mama contendo uma patogenia, normalmente um câncer.*



**Figura 33:** Corpo de provas. Imagem **A** apresenta três tubos de plástico com diferentes diâmetros externos. Na figura **B** os tubos apresentam diferentes diâmetros internos e o mesmo diâmetro externo de 1,57 mm. Em **C** são mostrados dois fios de nylon de 200 µm de diâmetro. Nas figuras **D** e **E** são mostrados os tecidos de mama utilizados nos experimentos. Em **D** têm-se tecidos de mama com carcinomas ductal invasivo e na figura **E** um pedaço de tecido mamário com carcinoma lobular invasivo. Os números **I**, **II** e **III** na figura **B** serão utilizados mais a frente.

## 7 Resultados

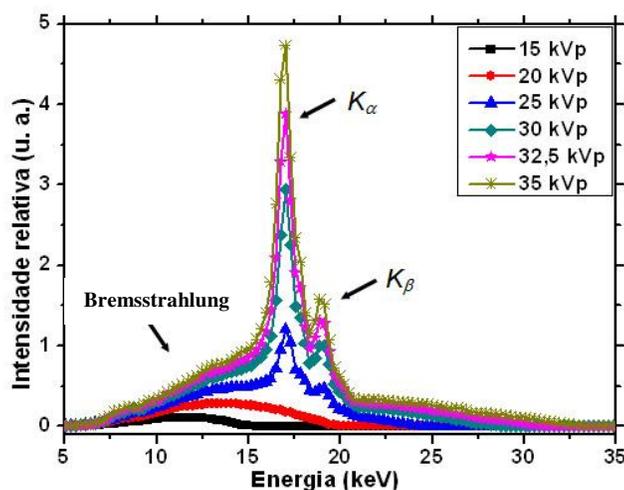
Neste trabalho foram realizadas imagens através do método de Imagens Realçadas por Difração e através do método convencional em pequenos objetos e também em peças histológicas de tecidos de mama. Como a técnica de IRD produz um elevado contraste das bordas, foram obtidos os perfis de linha de alguns objetos.

Além das imagens por contraste de fase, também foram realizadas imagens convencionais tanto por luz síncrotron quanto por um gerador convencional. Por fim foram realizadas imagens de Absorção Aparente e de Refração.

### 7.1 Resultados obtidos no LCARX

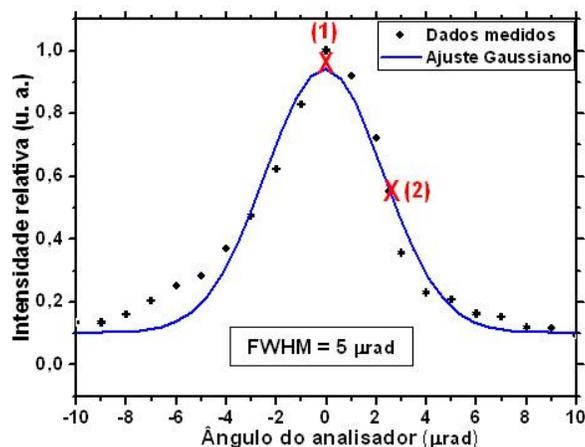
Devido à baixa quantidade de fótons que alcançava o filme de raios X, a falta de transladores precisos e de baixa velocidade para aumentar o tempo de exposição do objeto não foi possível obter nenhuma ICF utilizando um gerador convencional. Portanto limitou-se à medida de perfis de intensidade de um corpo de prova ao deslocá-lo na frente do feixe em diferentes posições do cristal analisador. Com o deslocamento da amostra perpendicular ao feixe mediu-se a intensidade através de um detector de cintilação. O mesmo foi realizado sem o cristal analisador (imagem convencional).

O gerador de raios X teve sua potência máxima utilizada em 630 W (35 kV e 18 mA), para evitar sobrecarregar o equipamento. Os espectros medidos para o tubo de molibdênio em diferentes valores da tensão e para uma mesma corrente de 18 mA são mostrados na *Figura 34*. Estes espectros foram obtidos através de um detector AMP-TEK modelo XR-100T-CdTe.



*Figura 34: Espectro de emissão tubo de raios-X para diferentes tensões aplicadas.*

Ao rotacionar o cristal analisador em torno do ângulo de Bragg ( $\theta_B = 19,9^\circ$ ) obtém-se a curva de refletividade cuja largura angular a meia altura vale aproximadamente  $5 \mu\text{rad}$  para a energia do  $\text{MoK}_{\alpha 1}$  (17,48 keV) e para a reflexão 333 do silício (*Figura 35*).



**Figura 35:** Curva de refletividade do cristal analisador na reflexão (333) no LCARX.

Para a observação da variação do contraste, o cristal analisador foi ajustado no topo (*Figura 35*- posição (1)) e no flanco direito (*Figura 35*- posição (2)) da curva de refletividade.

Pela *Figura 35* pode-se observar que quando o cristal analisador é ajustado no topo da curva somente os feixes que não tiveram desvios maiores que a largura da curva de refletividade estarão na condição de Bragg e serão difratados construtivamente pelo analisador. Quando o analisador é ajustado na posição (2) (*Figura 35*), os feixes que sofreram desvios naquele ângulo serão difratados com maior intensidade pelo analisador. Já os feixes que não foram desviados ou sofreram desvios na amostra em ângulos opostos (feixes desviados para o lado oposto da curva de difração) terão sua intensidade alterada pelo analisador.

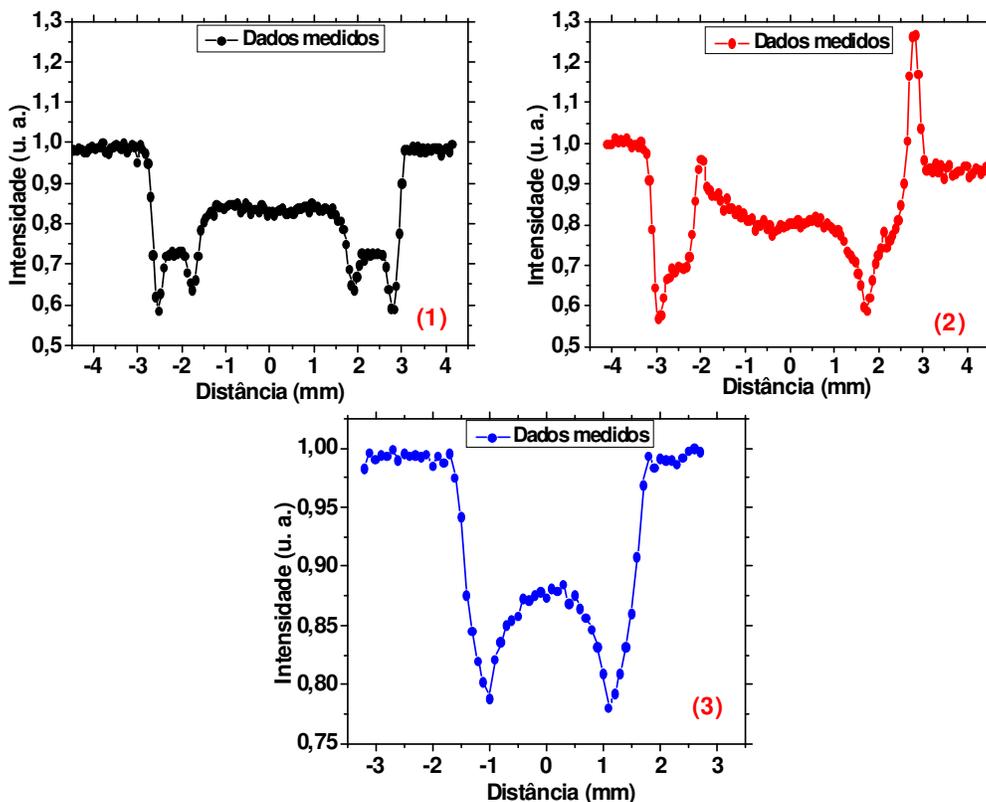
As quedas de intensidade visualizadas na *Figura 36*(1) são decorrentes dos feixes que incidiram sobre uma região com grande gradiente do índice de refração (regiões de borda interna ou externa na amostra) e com isto os raios sofreram desvios na amostra e não foram difratados construtivamente pelo analisador.

Quando o analisador é deslocado para longe do  $\theta_B$  (*Figura 36* (2)) os feixes que sofreram desvios nas bordas são difratados construtivamente pelo analisador gerando os picos de intensidade. Pela *Figura 36* observa-se a inversão do contraste das bordas.

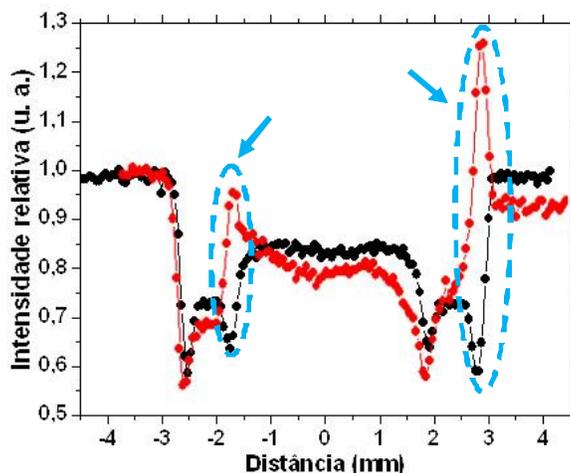
Quando não há o analisador, não se consegue distinguir bordas internas de externas do objeto (*Figura 36* (3)).

Uma melhor visualização da mudança de contraste quando o cristal é posicionado fora do pico de Bragg pode ser visto na *Figura 37*.

Para a observação da variação da intensidade medida pelo detector de cintilação, o gerador de raios X trabalhava com uma tensão de pico de 35 kV e uma corrente de 18 mA.



**Figura 36:** O Gráfico (1) é o perfil de linha gravado pelo detector quando o analisador é ajustado para posição 1 da Figura 35, já o (2) é para a posição 2 da Figura 35. O gráfico (3) é um perfil sem o cristal analisador.

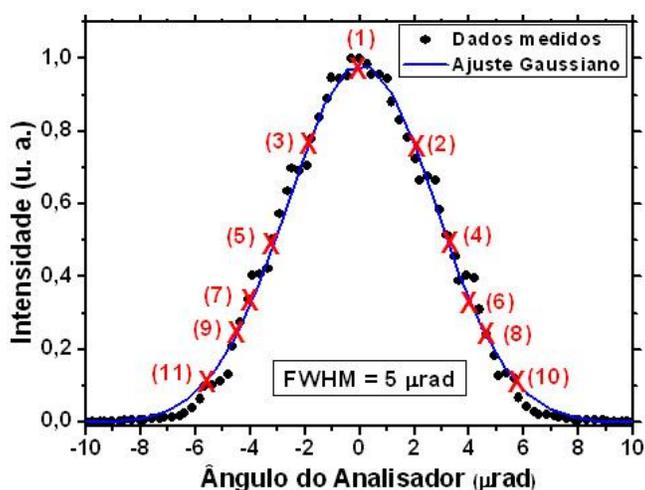


**Figura 37:** Gráfico com os perfis dos gráficos 1 e 2 da Figura 36. No detalhe em setas e nas elipses pontilhadas em azul, o aumento da intensidade de regiões que antes foram difratadas com pouca intensidade e com o deslocamento da curva passaram a refletir com maior intensidade.

## 7.2 Resultados obtidos no LNLS

As imagens obtidas no LNLS foram realizadas com o intuito de comprovar que a técnica de Imagens Realçadas por Difração permite melhor resolução das imagens em relação às imagens obtidas pelos métodos convencionais. Também foram obtidas imagens convencionais por radiação síncrotron para compará-las com as imagens obtidas pelo método de IRD.

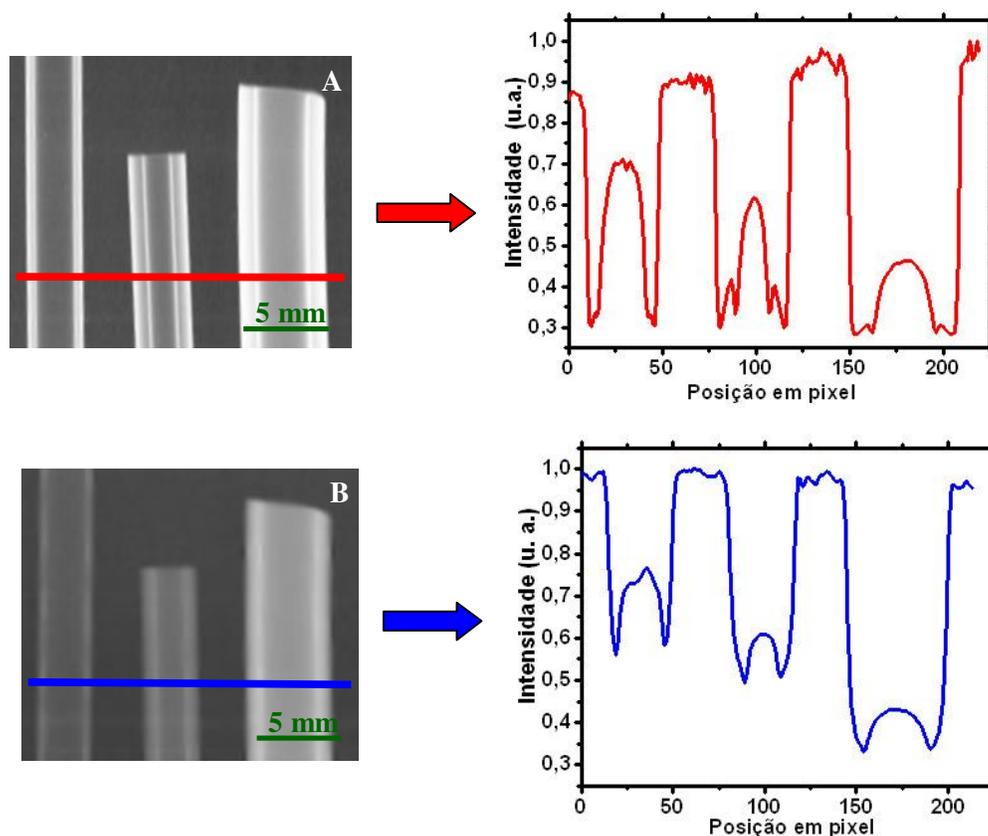
Utilizando o mesmo princípio do LCARX, ao rotacionar o cristal analisador em torno do ângulo de Bragg ( $\theta_B = 35^\circ$ ) obtém-se a curva de difração. Esta curva para a montagem no LNLS teve sua largura a meia altura com aproximadamente  $5 \mu\text{rad}$  (Figura 38).



**Figura 38:** Curva de refletividade do cristal analisador para o LNLS. Os pontos na curva indicam as regiões onde o cristal analisador foi ajustado para obtenção das imagens com diferentes contrastes.

A cada mudança de posição na curva, diferentes feixes desviados foram selecionados pelo analisador. Portanto puderam-se selecionar imagens quase livre de espalhamento (posição do topo - (1)- Figura 38) ou imagens formadas por feixes com grandes desvios (números distantes do topo). Quanto mais distante do topo, mais o analisador difratava construtivamente os feixes desviados pela amostra. Isto corresponde a aumentar a refletividade destes raios.

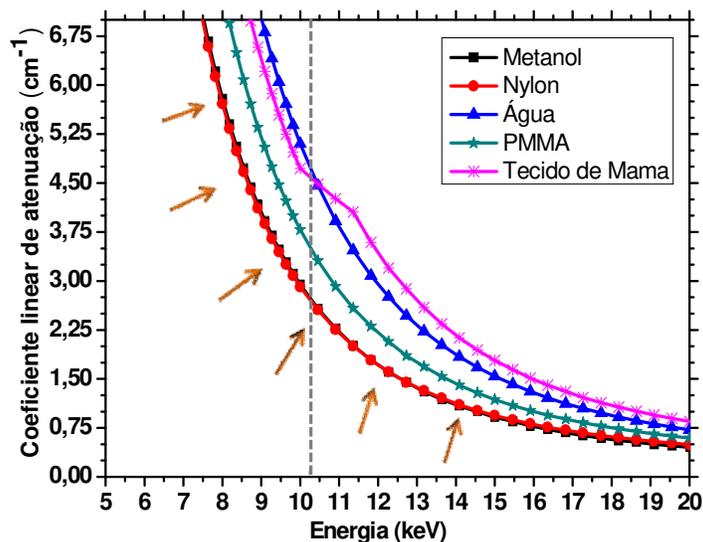
### 7.2.1 Imagens de corpo de provas



**Figura 39:** Tubos de plástico de diferentes tamanhos. A: imagem realçada por difração obtida na posição (1) da Figura 38. B: radiografia convencional com luz síncrotron. Ao lado das imagens é mostrado o perfil de linha da região indicada.

As imagens produzidas pelo método IRD tem resolução e contraste muito elevado em relação às imagens convencionais de raios X, o que ser observado nas *Figura 39A* e B. Tanto as bordas internas quanto as externas do tubo aparecem muito realçadas, o que não ocorre com uma imagem convencional (*Figura 39B*). Isto é decorrente do poder que o analisador tem de resolver regiões com gradiente de fase, o que não ocorre numa imagem convencional.

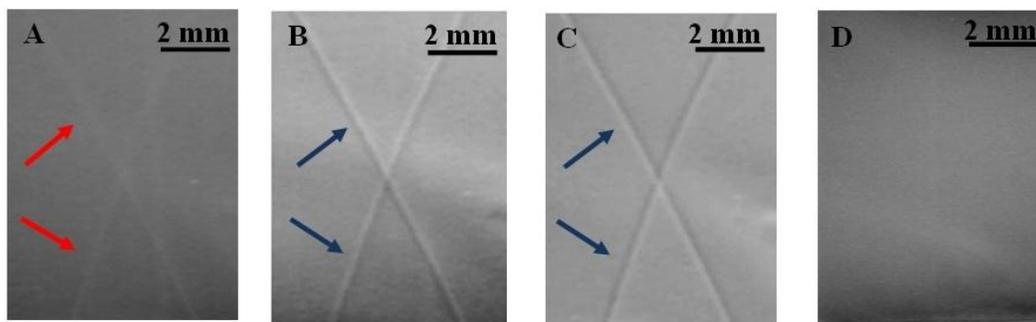
Na *Figura 39A* pode-se observar que, como as bordas do objeto apresentam um gradiente de fase (ou gradiente do índice de refração), elas fazem com que o feixe seja mais desviado saindo da condição de difração e assim menos fótons alcançam o detector. Já na *Figura 39B* não há uma clara distinção entre borda interna e externa da amostra por causa dos fótons que foram espalhados na amostra em microradianos. Estes raios ainda conseguem alcançar o filme tornando a imagem com baixa resolução.



**Figura 40:** Coeficiente de atenuação linear de alguns materiais em função da energia do feixe incidente. O tracejado em cinza mostra a energia de 10,34 keV.

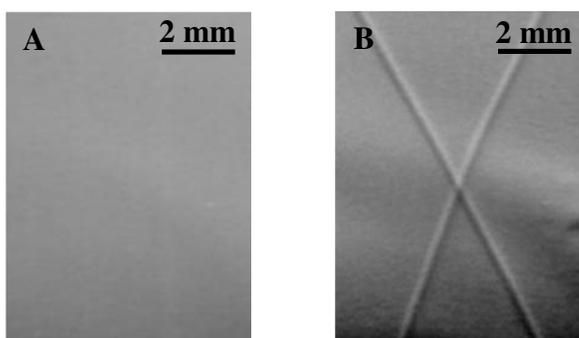
Para comprovar que o método convencional não consegue identificar materiais com o mesmo coeficiente de absorção e sim pelo método de IRD, foi produzido um corpo de prova com fios de nylon em solução de metanol pois estes dois materiais apresentam coeficiente linear de atenuação muito próximos (*Figura 40*). Outros materiais foram adicionados na *Figura 40* para título de comparação e pode-se observar que o coeficiente destes materiais são muito próximos. Este corpo de prova foi feito com dois fios de nylon iguais e postos dentro de uma solução de metanol no formato de “X”.

Foram realizadas imagens deste corpo de prova (fios de nylon em solução de metanol) pelo método convencional e pelo método de IRD (*Figura 41*).



**Figura 41:** Fios de nylon (200 $\mu$ m de espessura) em solução de metanol. **A**, **B** e **C** são imagens reproduzidas nas posições (1), (4) e (5) respectivamente da curva de difração da *Figura 38*. Já (**D**) é uma imagem obtida sem o cristal analisador (radiografia convencional com luz síncrotron).

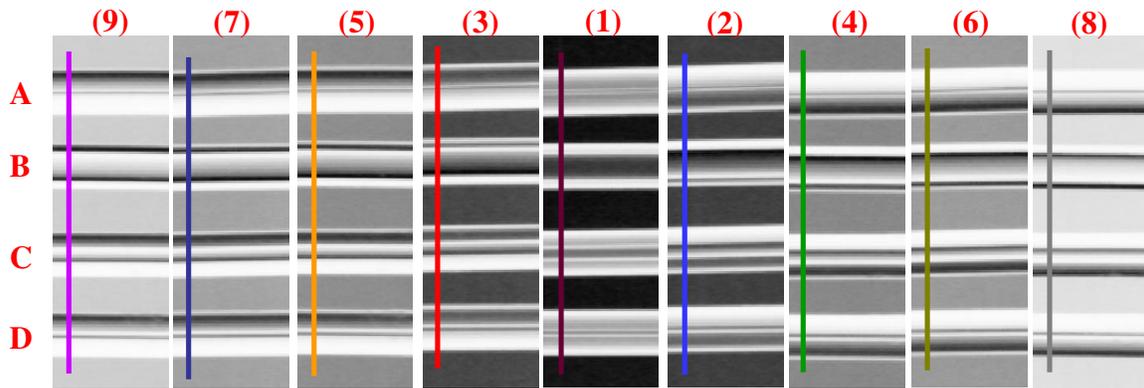
Pela *Figura 41A* pode-se observar a presença dos fios de nylon em forma de “X” devido à mudança de fase que a onda sofre na amostra devido à alteração do índice de refração dos materiais. Já as imagens obtidas quando o cristal analisador está deslocado da condição de difração (*Figura 41B e C*) observa-se também com maior clareza a presença dos fios de nylon e também a alteração de contraste entre as duas imagens. Esta mudança de contraste fica evidente quando comparada uma mesma região nas *Figuras 41B e C*. Regiões dos fios de nylon escuras numa imagem tornam-se claras na outra imagem obtida no flanco oposto. Na imagem obtida sem o analisador (*Figura 41D*) não se consegue identificar a presença dos fios na solução de metanol devido a semelhança entre os coeficientes de atenuação dos dois materiais.



**Figura 42:** *Imagens obtidas utilizando os algoritmos. A é uma imagem de Absorção Aparente e B é uma imagem de Refração.*

Das equações *Eq. 34a e b* pode-se obter a *Figura 42*, que são as imagens de Absorção Aparente (*Figura 42A*) e de Refração (*Figura 42B*). Nesta figura observa-se que na imagem por absorção aparente (*Figura 42A*) não se consegue observar os fios de nylon, porque neste tipo de imagem o contraste é principalmente baseado na diferença de absorção dos materiais e como eles apresentam quase o mesmo valor para o coeficiente de atenuação, o contraste na imagem é muito pobre, não sendo possível distinguir os materiais.

Na *Figura 42B* pode-se observar a presença dos fios no metanol, pois esta imagem de refração explora a variação da fase que a onda sofreu ao atravessar materiais com índice de refração diferente. Esta variação de fase da onda resultará em alteração de intensidade por isso as imagens mostram regiões mais claras e regiões mais escuras principalmente nas bordas onde o gradiente do índice de refração é maior. Esta imagem se assemelha a *Figura 41B* por causa da forma da *Eq. 34b*. Se nesta equação for invertida a diferença entre as imagens, fazer a diferença da intensidade na posição do flanco esquerdo menos a do flanco direito, a imagem resultante se assemelhará a *Figura 41C*.

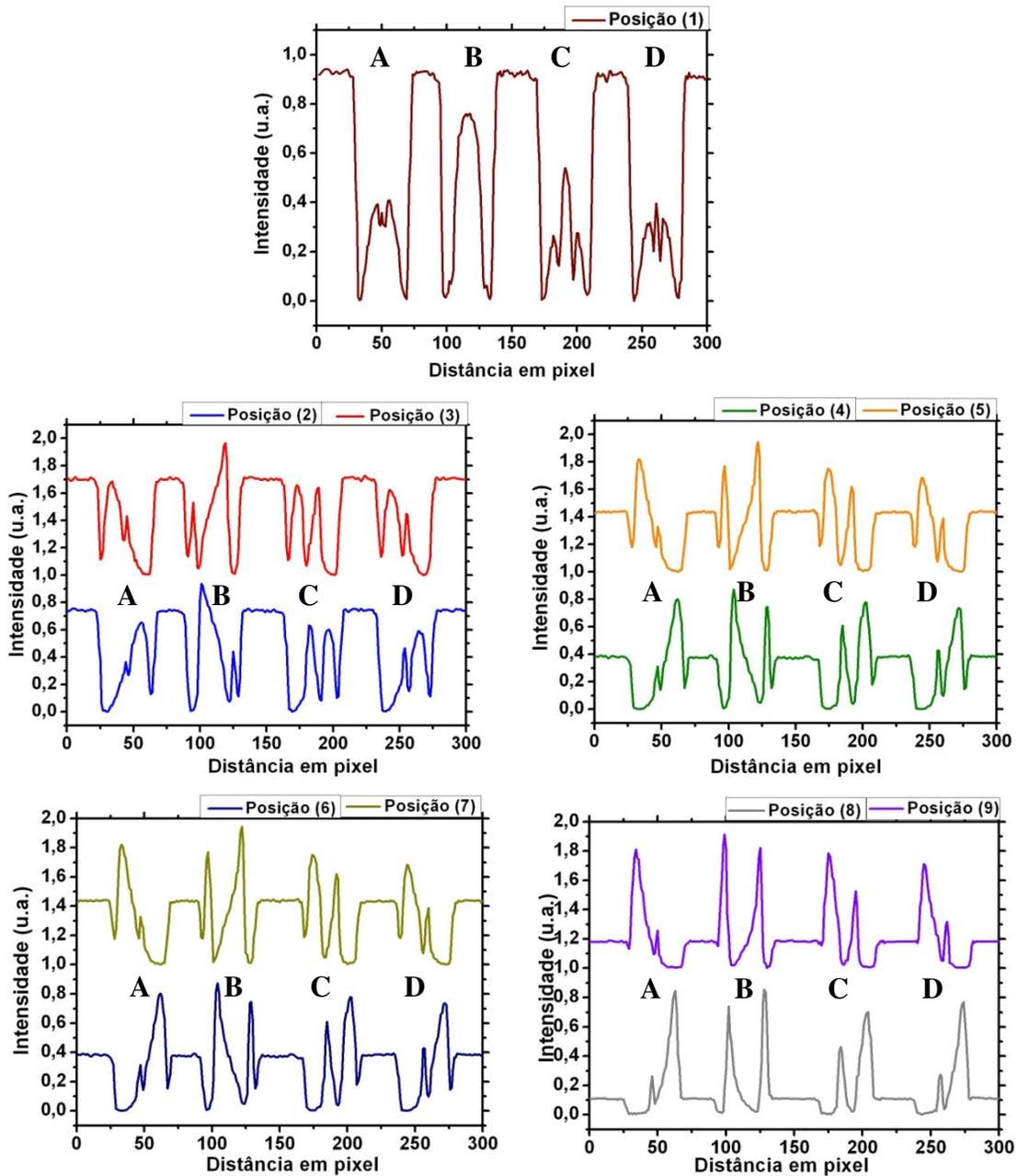


**Figura 43:** *Corpos de prova com mesmo raio externo de 1,57 mm em diferentes posições da curva de difração. A tem diâmetro interno de 0,13 mm, B de 1,02 mm, C de 0,51 mm e D de 0,25 mm. Os números de 1 a 9 nas imagens indicam o ponto da curva de difração onde o analisador foi ajustado (Figura 38).*

Para visualizar a influência da variação da posição da curva de difração na intensidade, foram obtidas diversas imagens de um objeto (*Figura 33B*) em diferentes posições da curva. As imagens dos corpos de prova com os traços para o cálculo dos perfis são mostradas na *Figura 43*.

Pelo perfil de linha traçado na *Figura 43* (linhas coloridas) obtém-se a *Figura 44*. Pela figura do perfil pode-se perceber que a medida que se afasta da posição central da curva de difração (posições mais distantes do topo da curva de difração) existem variações no contraste da imagem e também uma grande variação no sinal do objeto. Regiões de bordas apresentam maior intensidade em comparação com outras regiões, também observa-se que a intensidade das bordas do objeto são maiores que a intensidade sem a amostra (fundo da imagem). Isto mostra que a imagem é praticamente produzida pelos feixes refratados pela amostra e não somente aqueles que não tiveram desvios na sua trajetória devido a presença da amostra.

Outra característica é a presença da inversão do contraste nas imagens. Uma imagem realizada em um flanco da curva de difração tem o contraste invertido com uma imagem correspondente para o flanco oposto. Esta inversão de contraste ocorre pela seleção do cristal analisador para os feixes desviados na amostra. Esta é uma das principais características que somente as técnicas de contraste de fase fornecem nas imagens.



**Figura 44:** Para cada imagem na Figura 43 foi traçado um perfil de linha dos tubos. Em cada gráfico é apresentada dois perfis de linha que são obtidos na mesma altura da curva de refletividade, porém em flancos opostos da curva. As letras **A**, **B**, **C** e **D** nos gráficos acima indicam qual era o corpo de prova analisado.

*Alguns elementos de análise*

Para uma análise quantitativa das imagens foram calculados alguns parâmetros, tanto para as imagens obtidas pelo método tradicional (método convencional) quanto para as imagens por realce da difração.

Os parâmetros analisados para corpos de prova foram o Contraste de Área (CdA) que fornece a capacidade de distinguir diferentes áreas em uma mesma imagem, a Razão Sinal Ruído de uma Área ( $SNR_{\text{área}}$ ) que fornece a razão de um sinal de uma determinada área sobre o ruído daquela mesma área, a Razão Sinal Ruído Borda ( $SNR_{\text{borda}}$ ) que fornece a razão de um sinal de uma determinada borda sobre o ruído daquela mesma borda e por último a Visibilidade das Bordas (V) que fornece a capacidade de distinção entre bordas adjacentes em uma amostra. <sup>[53,67]</sup>

$$CdA = \frac{\langle I_{obj} \rangle - \langle I_{backg} \rangle}{\langle I_{backg} \rangle}, \quad \text{Eq. 35a}$$

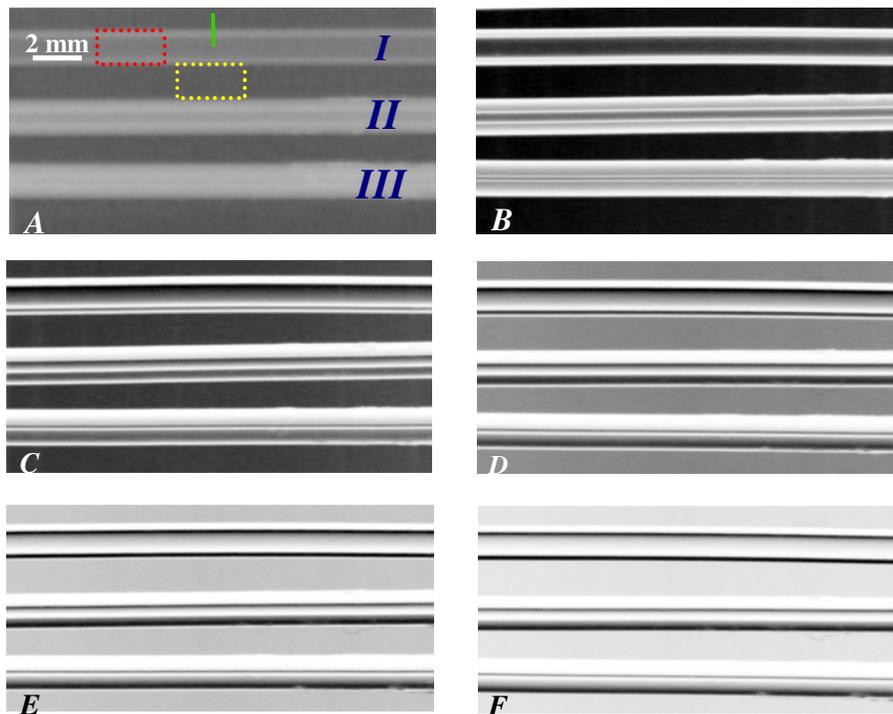
$$SNR_{borda} = \frac{I_{m\acute{a}x} - I_{m\acute{i}n}}{\sqrt{2} \sigma_{backg}}, \quad \text{Eq. 35b}$$

$$SNR_{\acute{a}rea} = \frac{\langle I_{obj} \rangle - \langle I_{backg} \rangle}{\sqrt{\sigma_{obj}^2 + \sigma_{backg}^2}}, \quad \text{Eq. 35c}$$

$$V = \frac{I_{m\acute{a}x} - I_{m\acute{i}n}}{I_{m\acute{a}x} + I_{m\acute{i}n}}, \quad \text{Eq. 35d}$$

onde  $\langle I_{obj} \rangle$  e  $\langle I_{backg} \rangle$  são as intensidades médias de uma área do objeto e do fundo da imagem (*background*), respectivamente. Os desvios padrões destas intensidades são  $\sigma_{obj}$  e  $\sigma_{backg}$  que correspondem a  $I_{obj}$  e  $I_{backg}$  respectivamente. Outros fatores são a  $I_{m\acute{a}x}$  e  $I_{m\acute{i}n}$  que correspondem as intensidades médias máximas e mínimas respectivamente de um perfil traçado através das bordas.

Utilizando a montagem de radiografia convencional e por contraste de fase pode-se obter a *Figura 45*. Nesta figura está indicado em pontilhados em vermelho e amarelo exemplos das áreas utilizadas para encontrar os parâmetros responsáveis pela área do objeto e pelo fundo da imagem respectivamente. O traço em verde mostra um exemplo de uma região utilizada para encontrar os parâmetros responsáveis pela interface entre o objeto e o fundo da imagem. Estas três marcações eram utilizadas em todos os objetos e em todas as imagens para encontrar os parâmetros.



**Figura 45:** Imagens de três corpos de prova. A imagem A foi realizada pelo método convencional por luz síncrotron. As outras imagens foram produzidas por contraste de fase sendo B uma imagem de topo (posição 1 Figura 38), C na posição 4, D na posição 6, E na posição 8 e finalmente F na posição 10. A numeração I, II e III será utilizada nas tabelas mais a frente.

Utilizando os parâmetros dados pela Eq. 35, pode-se construir as Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3. Nestas tabelas são apresentadas para cada corpo de prova, numerado por I, II e III, na Figura 45 os valores de Contraste de Área (CdA), Razão Sinal Ruído Área ( $SNR_{\text{área}}$ ), Razão Sinal Ruído Borda ( $SNR_{\text{borda}}$ ) e Visibilidade (V) tanto para uma imagem obtida pelo método tradicional quanto para as imagens obtidas por contraste de fase. Os primeiros parâmetros analisados foram o contraste de área e o  $SNR_{\text{área}}$ , que dependem da área do objeto que está sendo analisada.

As áreas e o perfil entre as interfaces utilizadas para realizar os cálculos são mostradas como exemplo na Figura 45, onde os valores eram obtidos utilizando o software *ISee Imaging*. Para os cálculos, uma área igual da amostra e do objeto era utilizada para os cálculos através do programa *ISee Imaging*. Para cada objeto nas figuras era selecionado a mesma área. Na Figura 45<sup>a</sup> está mostrado também um exemplo de como era obtido os valores para as bordas dos objetos (linha em verde).

**Tabela 1:** Valores de Contraste e  $SNR_{\text{área}}$  obtidos de corpo de provas da Figura 45. Os números **I**, **II** e **III** na tabela indicam qual corpo de prova esta sendo analisado. O número **I** indica o primeiro tubo de cima para baixo, o **II** indica o do meio e o número **III** o último tubo de cima para baixo, como mostrado na Figura 45. As imagens foram obtidas tanto pelo método convencional (Figura 45A) quanto por realce da difração com o analisador em diferentes posições angulares em torno do pico de Bragg (Figura 45B, C, D, E e F).

Imagens	Contraste			$SNR_{\text{área}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	-0,22	-0,42	-0,50	-4,73	-7,02	-6,55
(B)	-0,54	-0,73	-0,74	-1,66	-4,59	-6,06
(C)	-0,45	-0,69	-0,70	-1,17	-2,35	-2,65
(D)	-0,23	-0,37	-0,44	-0,39	-0,66	-0,85
(E)	0,33	0,20	0,03	0,26	0,16	0,02
(F)	1,07	0,93	0,80	0,44	0,42	0,37

Pela Tabela 1 observa-se que a imagem realçada por difração obtida em uma posição distante do topo da curva de difração apresenta um elevado contraste (Figura 45F) devido ao aumento contribuição dos feixes espalhados a ultra baixo ângulo. Também existe um alto contraste na imagem realizada no topo da curva de difração (Figura 45B) devido ao analisador rejeitar o espalhamento sofrido pelo feixe na amostra, como já era esperado da referência <sup>[53]</sup>. A imagem realizada pelo método convencional (Figura 45A) tem um contraste pouco menor ou comparável com algumas imagens de contraste de fase (Figura 45C e D) pelo fato do contraste ser calculado utilizando uma grande área do objeto e não só entre as bordas e o fundo. O  $SNR_{\text{área}}$  das imagens distantes do topo é baixo devido a uma forte variação entre o sinal máximo e mínimo na imagem o que produz um desvio padrão alto.

As imagens analisadas foram apenas do flanco direito (Figura 45C, D, E e F) pois as imagens do flanco esquerdo são uma inversão em torno de um eixo como se observa analisando o perfil de linha (Figura 43 e 44).

Outros parâmetros analisados foram a Visibilidade e o  $SNR_{\text{borda}}$ . Estes dois dependem das margens dos objetos e como as imagens por contraste de fase têm alteração entre as bordas superior e inferior numa mesma imagem, dividiu-se as tabelas em duas partes, uma da margem superior (Tabela 2) e outra da margem inferior (Tabela 3).

**Tabela 2:** Valores de Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de corpo de provas da Figura 45 em que foram analisadas regiões das margens superiores dos tubos.

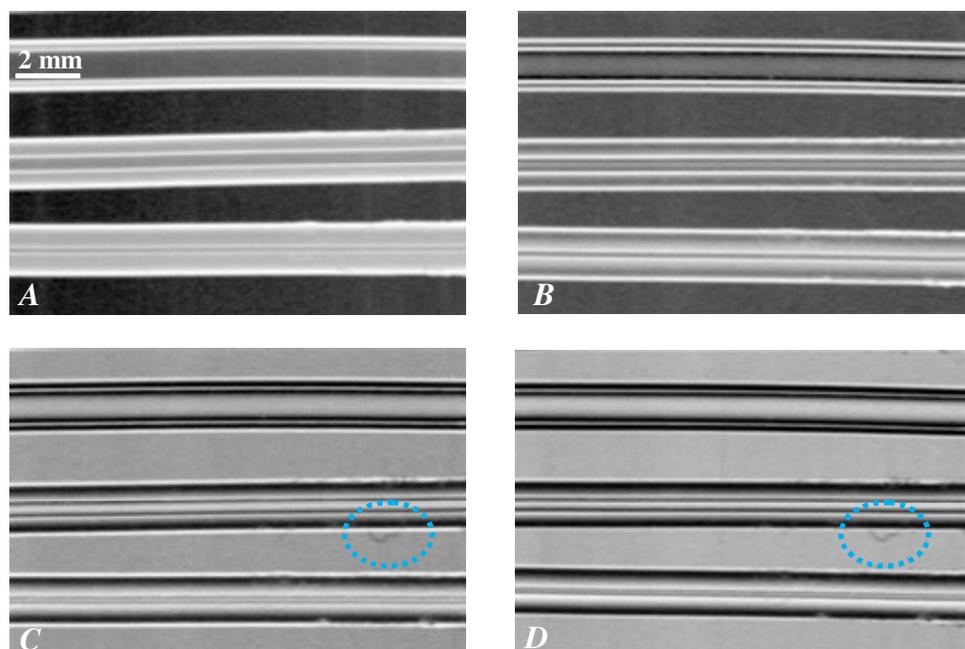
Imagens	Visibilidade			$SNR_{\text{borda}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	0,19	0,33	0,36	12,67	19,94	20,91
(B)	0,37	0,58	0,59	34,97	35,25	34,74
(C)	0,94	0,95	0,96	34,66	34,70	35,40
(D)	0,92	0,95	0,96	41,62	43,31	42,11
(E)	0,88	0,94	0,94	47,65	48,30	48,85
(F)	0,91	0,98	0,98	30,78	30,30	30,59

**Tabela 3:** Valores de Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de corpo de provas da Figura 45 em que foram analisadas regiões das margens inferiores dos tubos.

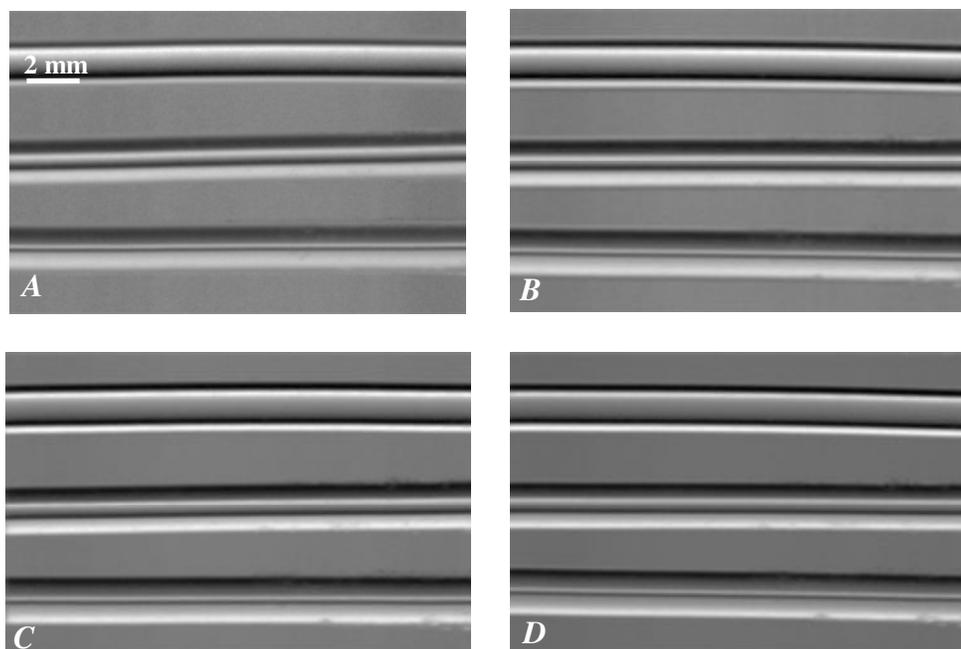
Imagens	Visibilidade			$SNR_{\text{borda}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	0,20	0,36	0,34	12,45	19,80	21,81
(B)	0,38	0,58	0,59	49,46	49,86	49,14
(C)	0,72	0,74	0,73	43,03	43,61	42,70
(D)	0,47	0,47	0,53	28,32	27,03	30,83
(E)	0,70	0,71	0,68	96,21	93,13	87,78
(F)	0,78	0,76	0,72	154,58	142,3	132,73

As imagens obtidas por contraste de fase apresentam uma visibilidade das bordas muito superior comparada com a imagem convencional, tanto nas bordas superiores quanto nas inferiores, o que é observado nas imagens e também pelas *Tabela 2* e *3*. Estes maiores valores de visibilidade nas imagens por contraste de fase são explicados pela sensibilidade maior que a técnica apresenta em regiões onde acontece uma maior variação do índice de refração. O interessante também é observar que os maiores valores de visibilidade estão nas imagens mais distantes to pico da curva de difração.

O  $SNR_{\text{borda}}$  mostrou valores muito altos à medida que as imagens são realizadas em posições distante do topo da curva de difração para a borda inferior (*Tabela 3*) e também para a borda superior (*Tabela 2*), que podem ser explicados novamente pelo fato do método ser extremamente sensível as bordas dos objetos.



**Figura 46:** *Imagens de Absorção Aparente de três corpos de prova obtidos de imagens em várias posições da curva de difração. A é uma imagem correspondente as posições 4 e 5, B das posições 6 e 7, C das posições 8 e 9, e E das posições 10 e 11. Todas as imagens correspondem às posições da Figura 38 No detalhe em azul pode-se observar um pedaço de fio de algodão que não era visível antes.*



**Figura 47:** *Imagens de Refração de três corpos de prova obtidos de imagens em várias posições da curva de difração. A é uma imagem correspondente as posições 4 e 5, B das posições 6 e 7, C das posições 8 e 9, e E das posições 10 e 11. Todas as imagens correspondem às posições da Figura 38.*

Além das análises das imagens pelo método convencional e por contraste de fase também foram realizadas as análises para as imagens de absorção aparente (*Figura 46*) e refração (*Figura 47*) dos corpo de provas.

**Tabela 4:** Valores de Contraste e  $SNR_{\text{área}}$  obtidos dos corpo de provas da *Figura 46* (Absorção Aparente).

Imagens	Contraste			$SNR_{\text{área}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	-0,44	-0,6	-0,63	-1,62	-4,12	-5,48
(B)	-0,21	-0,36	-0,43	-0,87	-1,97	-2,6
(C)	0,34	0,19	0,08	0,8	0,5	0,2
(D)	0,74	0,63	0,45	0,99	1,03	0,72

**Tabela 5:** Valores de Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos dos corpo de provas da *Figura 46* (Absorção Aparente).

Imagens	Visibilidade			$SNR_{\text{borda}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	0,75	0,79	0,79	42,66	43,76	43,35
(B)	0,47	0,48	0,51	34,34	35,09	35,57
(C)	0,27	0,3	0,33	15,41	21,42	20,21
(D)	0,57	0,56	0,58	71,22	64,54	63,61

Novamente acontece um aumento do contraste na imagem produzida a partir de duas imagens obtidas em regiões distantes do topo e também uma diminuição no  $SNR_{\text{área}}$  pelas altas variações de intensidade na amostra que provocam um aumento do  $\sigma_{obj}$  (*Tabela 4*).

A imagem de absorção aparente obtida a meia altura (*Figura 46A*) é muito parecida com a imagem obtida no topo (*Figura 45B*), mas a de absorção aparente apresenta maior Visibilidade e também  $SNR_{\text{borda}}$  (*Tabela 5*). Analisando as imagens de absorção aparente observam-se detalhes que antes não eram perceptíveis como pode ser observado nas *Figura 46C* e *D* (círculos pontilhados em azul) obtidas de imagens mais distantes do topo e além disso a *Figura 46D* mostra valores de  $SNR_{\text{borda}}$  muito altos. Outra característica das imagens de absorção aparente realizadas em posições mais distantes do topo da curva de difração é uma inversão gradual de contraste à medida que se desloca mais distante do topo, que pode ser observado na inversão dos valores de negativos para positivos (*Tabela 4*).

**Tabela 6:** Valores de Contraste e  $SNR_{\text{área}}$  obtidos de corpos de prova da Figura 47 (Refração).

Imagens	Contraste			$SNR_{\text{área}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	0,02	-0,02	-0,01	0,06	-0,08	-0,06
(B)	0,01	0,01	0,01	0,04	0,04	0,05
(C)	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01
(D)	-0,01	-0,02	-0,02	-0,02	-0,08	-0,08

Os valores obtidos de Contraste e  $SNR_{\text{área}}$  nas imagens de refração (Tabela 6) foram baixos devido às grandes variações de intensidade na imagem. Neste caso é interessante apenas analisar as características das imagens, como a noção de tridimensionalidade numa imagem bidimensional.

**Tabela 7:** Valores de Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de corpos de prova da Figura 47 em que foram analisadas regiões das margens superiores dos tubos.

Imagens	Visibilidade			$SNR_{\text{borda}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	0,15	0,19	0,18	22,04	26,20	24,87
(B)	0,20	0,19	0,19	61,88	58,74	56,71
(C)	0,18	0,16	0,15	104,19	86,39	80,37
(D)	0,17	0,15	0,15	107,99	95,25	90,29

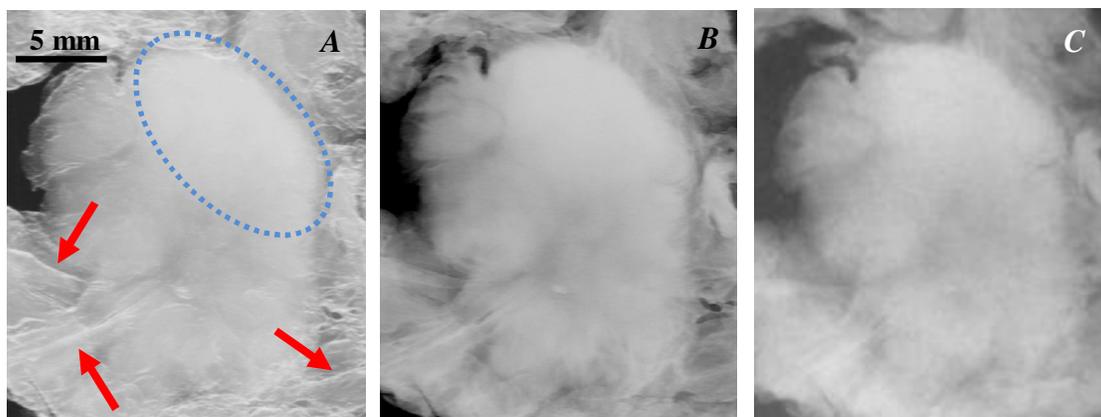
**Tabela 8:** Valores de Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de corpos de prova da Figura 47 em que foram analisadas regiões das margens inferiores dos tubos.

Imagens	Visibilidade			$SNR_{\text{borda}}$		
	I	II	III	I	II	III
(A)	0,09	0,13	0,12	16,27	24,37	22,38
(B)	0,27	0,29	0,20	57,39	60,21	53,15
(C)	0,26	0,24	0,22	94,53	89,52	85,16
(D)	0,31	0,27	0,24	123,66	112,18	101,5

As imagens de refração são muito semelhantes entre si, mostrando um aumento gradual de resolução dos objetos (Figura 47A, B, C, e D) quando as imagens são geradas em posições distantes do topo. Isto também é observado no aumento dos valores de  $SNR_{\text{borda}}$  das imagens e também nas margens dos objetos (Tabela 7 e Tabela 8), tanto nas bordas superior quanto na inferior dos tubos. Outra característica importante destas imagens de refração é que elas fornecem ideias de relevo em uma imagem, o que não ocorre em um método obtida pelo método tradicional.

### 7.2.2 Imagens de tecidos mamários

Para os tecidos de mama também foram analisados o Contraste (CdA), o  $SNR_{\text{área}}$ , a Visibilidade (V) e o  $SNR_{\text{borda}}$  das imagens obtidas por IRD e também pelo método convencional com luz síncrotron. As imagens pelo mamógrafo não foram analisadas pois elas foram obtidas com uma fonte e um sistema de aquisição diferente.



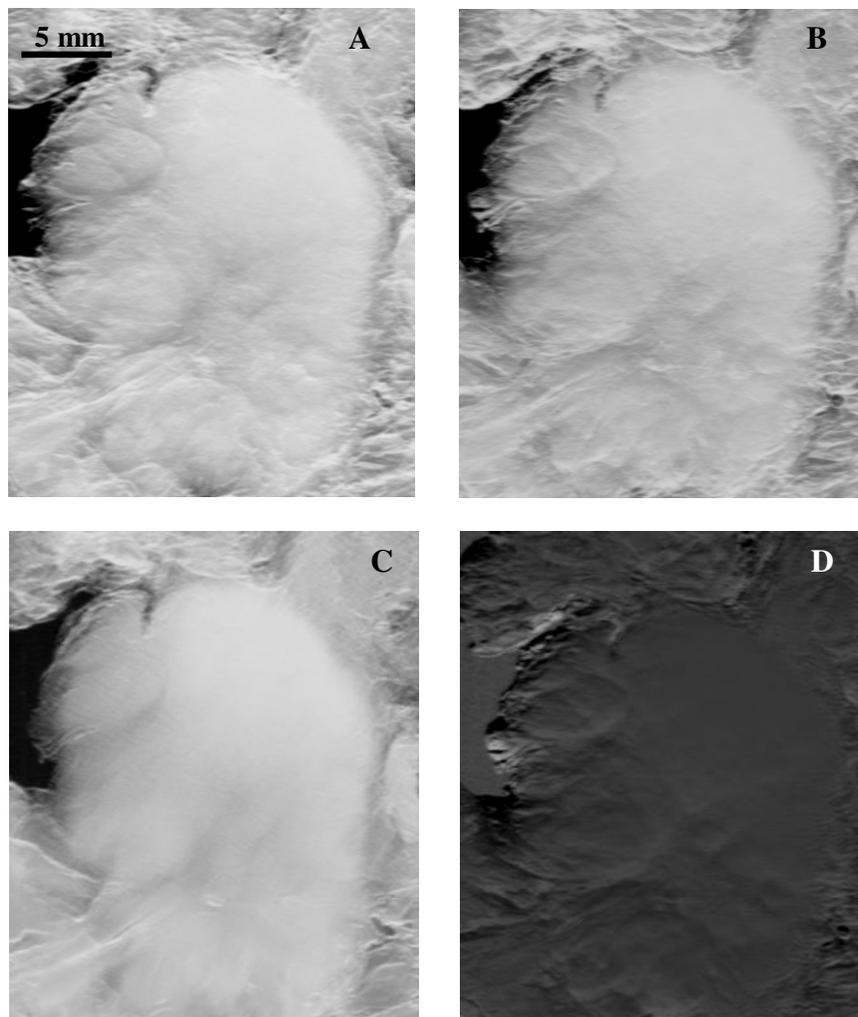
**Figura 48:** Tecido de mama com carcinoma ductal invasivo. A imagem A foi realizada pelo método de contraste de fase com o cristal analisador ajustado na posição do pico de Bragg. As imagens B e C foram obtidas pelo método convencional em que a B foi realizada com luz síncrotron e C por um mamógrafo. As setas em vermelho mostram os ligamentos de Cooper destruídos na amostra e os pontilhados em azul a região tumoral.

**Tabela 9:** Valores de Contraste,  $SNR_{\text{área}}$ , Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de tecidos de mama da Figura 48. RCLS – Radiografia Convencional por Luz Síncrotron.

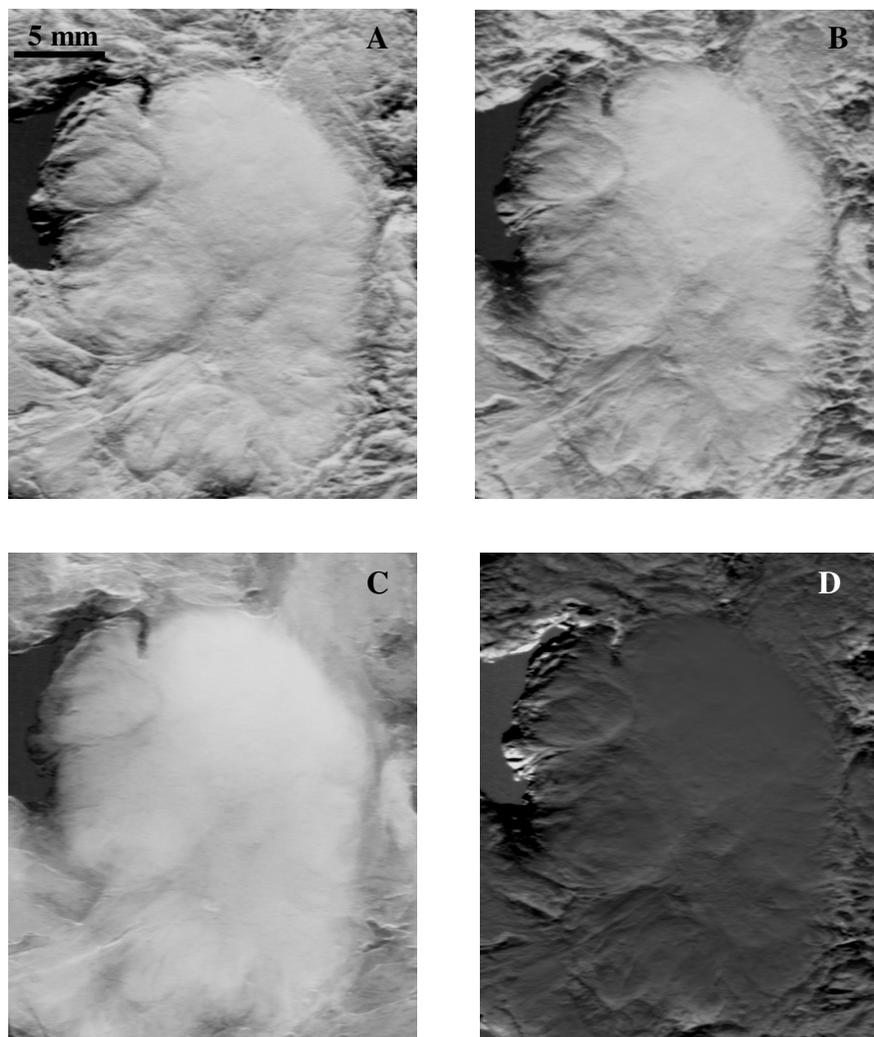
Imagens	CdA	$SNR_{\text{área}}$	V	$SNR_{\text{borda}}$
IRD (A)	-0,58	-4,18	0,47	3,37
RCLS (B)	-0,56	-4,87	0,4	3,48

A IRD de um tecido de mama mostrada na Figura 48A permite a identificação do tumor (região central mais densa da imagem – região pontilhada em azul) e também dos ligamentos de Cooper destruídos pela presença do carcinoma (setas em vermelho). Nas imagens convencionais produzidas por luz síncrotron (Figura 48B) e por um mamógrafo (Figura 48C) não se consegue observar tantos detalhes. Na Figura 48 observa-se que a imagem gerada por contraste de fase se assemelha muito à imagem convencional por luz síncrotron, mas a imagem obtida por IRD apresenta mais detalhes. Estas semelhanças podem ser vistas nos parâmetros da Tabela 9.

Utilizando o sistema BI-RADS, as imagens do carcinoma ductal invasivo (*Figura 48*) receberiam a categoria 0 pois ainda há limites e contornos imprecisos no canto esquerdo inferior das imagens.



**Figura 49:** Tecido de mama com carcinoma ductal invasivo. As imagens **A** e **B** foram realizadas por contraste de fase com o analisador ajustado para as posições **2** e **3** respectivamente da Figura 38. **C** é a imagem de absorção aparente e **D** de refração obtidas a partir das imagens **A** e **B**.



**Figura 50:** Tecido de mama com carcinoma ductal invasivo. As imagens **A** e **B** foram realizadas por contraste de fase com o analisador ajustado para as posições **8** e **9** respectivamente da Figura 38. **C** é a imagem de absorção aparente e **D** de refração obtidas a partir das imagens **A** e **B**.

Quando o analisador é deslocado da posição do máximo de difração têm-se maiores detalhes de algumas regiões da amostra que antes não eram perceptíveis. As imagens obtidas nos flancos produzem um efeito de relevo nas imagens, que pode ser observado tanto nas imagens dos flancos (*Figura 49A, B* e *Figura 50A, B*) como também nas imagens de refração (*Figura 49D* e *Figura 50D*). Isto as tornam diferentes das imagens convencionais. Este efeito ajuda no diagnóstico clínico da doença porque consegue fornecer contornos e limites mais precisos das patologias. Um dos maiores problemas para o cirurgião é delimitar as margens do tumor para que a excisão seja o suficiente para que não haja focos da doença na mama e também que a retirada não comprometa a mama toda da paciente.

A melhor visualização dos limites e contornos gerados pelas IRD em posições nos flancos da curva de difração (*Figura 50A e B*) podem resultar em laudos precisos, pois a área cancerígena se mostra com relevo entre as áreas sadias.

As imagens do flanco revelam maiores detalhes dos limites do tumor. Analisado pelo mastologista Dr. Cabello do CAISM as *Figura 50A e B* receberiam uma categoria 4 utilizando o sistema BI-RADS.

Outra característica da IRD é que as imagens produzidas por absorção aparente (*Figura 49C e Figura 50C*) são muito parecidas com a imagem do topo (*Figura 48A*), mas ainda com valores de  $SNR_{\text{área}}$  e  $SNR_{\text{borda}}$  menores devido à soma das imagens e assim um aumento do ruído nas imagens (*Tabela 9, 10 e 11*).

Os valores dos parâmetros para as imagens de refração (*Figura 49D e Figura 50D*) são muito baixos e não seriam utilizados para comparação das imagens. Nestas imagens o importante é a noção de relevo que elas provocam numa imagem bidimensional.

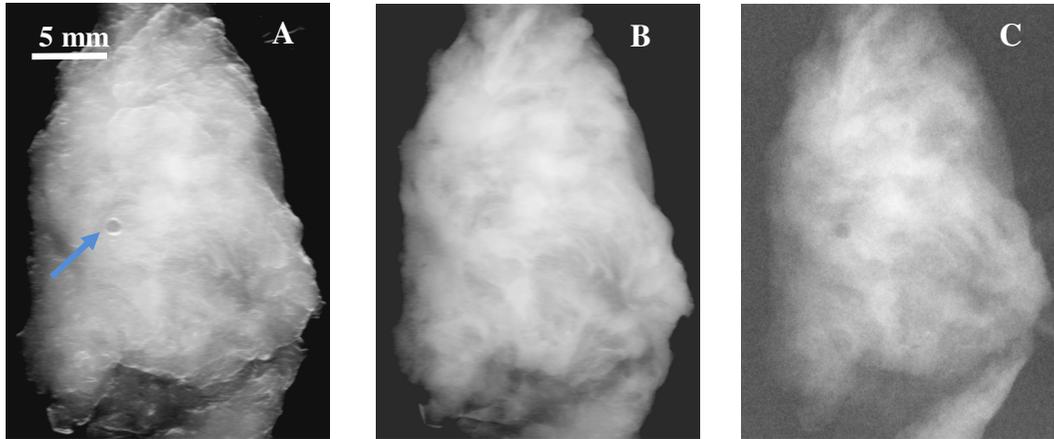
**Tabela 10:** Valores de Contraste,  $SNR_{\text{área}}$ , Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de tecidos de mama da *Figura 49*

Imagens	CdA	$SNR_{\text{área}}$	V	$SNR_{\text{borda}}$
(A)	-0,71	-3,3	0,67	2,72
(B)	-0,82	-2,96	0,86	0,67
(C)	-0,6	-3,8	0,46	2,55
(D)	-0,01	-0,72	0,01	1,29

**Tabela 11:** Valores de Contraste,  $SNR_{\text{área}}$ , Visibilidade e  $SNR_{\text{borda}}$  obtidos de tecidos de mama da *Figura 50*.

Imagens	CdA	$SNR_{\text{área}}$	V	$SNR_{\text{borda}}$
(A)	-0,41	-2,32	0,57	2,50
(B)	-0,65	-2,34	0,51	1,77
(C)	-0,83	-3,12	0,87	2,91
(D)	-0,01	-0,33	0,04	1,42

Como mencionado, o carcinoma lobular invasivo se assemelha muito ao tecido ao redor o que torna difícil a sua visualização. Isto pode acarretar em diagnósticos incorretos (exames falsos negativos).



**Figura 51:** Tecido de mama com carcinoma lobular invasivo. A imagem A foi realizada pelo método de contraste de fase com o cristal analisador ajustado na posição do pico de Bragg. As imagens B e C foram obtidas pelo método convencional em que a B foi realizada com luz síncrotron e C por um mamógrafo. A seta em azul mostra um cisto de gordura que não é tão perceptível nas outras imagens.

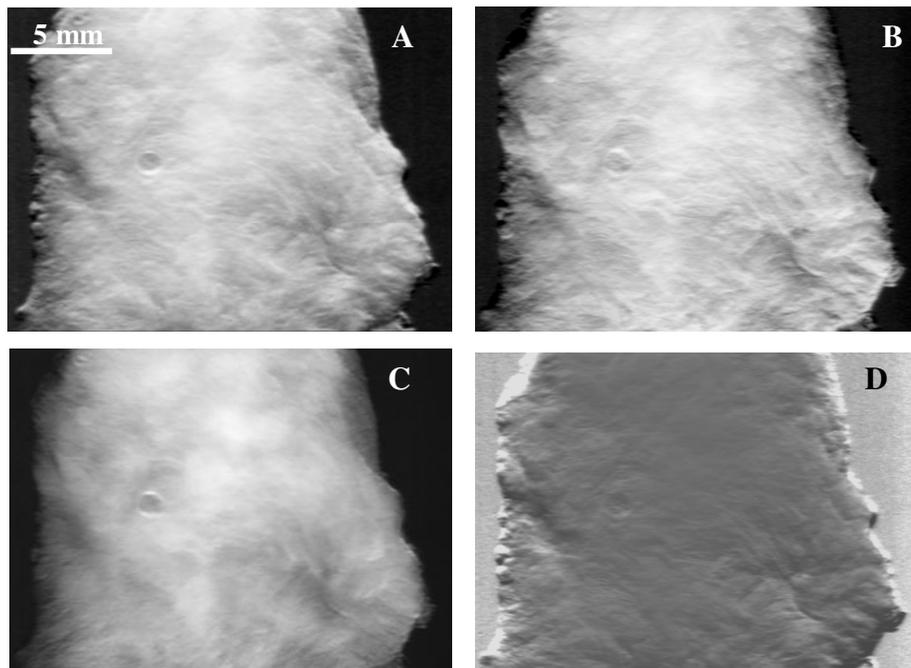
O carcinoma está espalhado por toda região central da peça (Figura 51). Com a técnica de contraste de fase não se consegue demarcar com precisão as bordas do tecido patogênico (Figura 51A), como também ocorre nas imagens por absorção (Figura 51B e C). Na Figura 51A consegue-se demarcar com precisão um cisto de gordura (seta em azul) que não denota malignidade. Este cisto já não é tão facilmente identificado nas imagens por absorção (Figura 51B e C).

Nas imagens do carcinoma lobular não houve os cálculos dos parâmetros da V nem  $SNR_{\text{borda}}$ , porque eles se aplicam a regiões de bordas dos objetos e neste caso não se consegue identificar com clareza uma região tumoral de uma sádia.

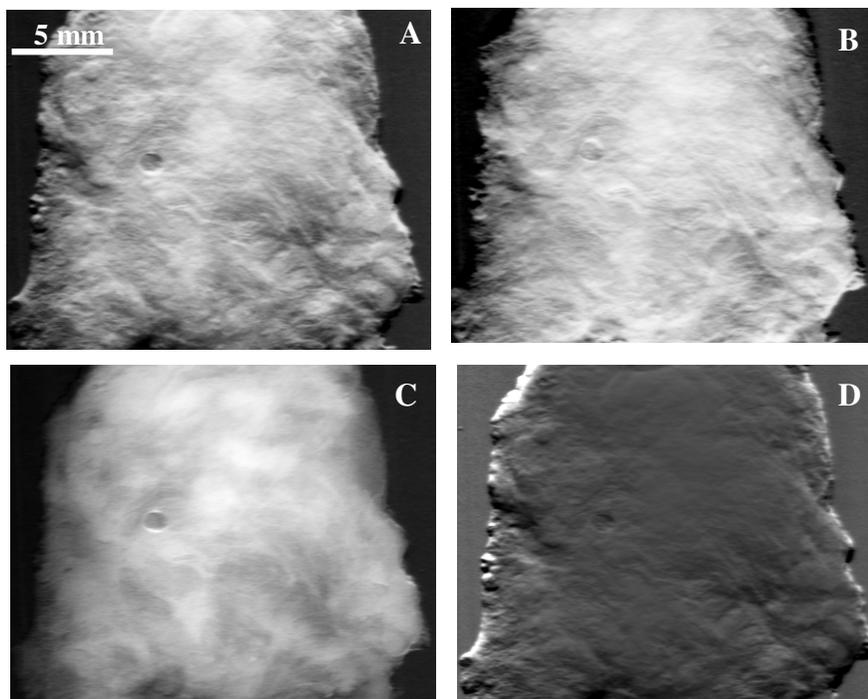
Apesar dos maiores detalhes observados numa IRD (Figura 51A) ela contém quase o mesmo CdA e  $SNR_{\text{área}}$  (Tabela 12) que a convencional (Figura 51B).

**Tabela 12:** Valores de Contraste e  $SNR_{\text{área}}$  obtidos do tecido de mama da Figura 51. RCLS – Radiografia Convencional por Luz Síncrotron.

Imagens	CdA	$SNR_{\text{área}}$
IRD (A)	-0,82	-15,91
RCLS (B)	-0,80	-16,33



**Figura 52:** Tecido de mama com carcinoma lobular invasivo. As imagens **A** e **B** foram realizadas por contraste de fase com o analisador ajustado para as posições 4 e 5 respectivamente da Figura 38. **C** é a imagem de absorção aparente e **D** de refração obtidas a partir das imagens **A** e **B**.



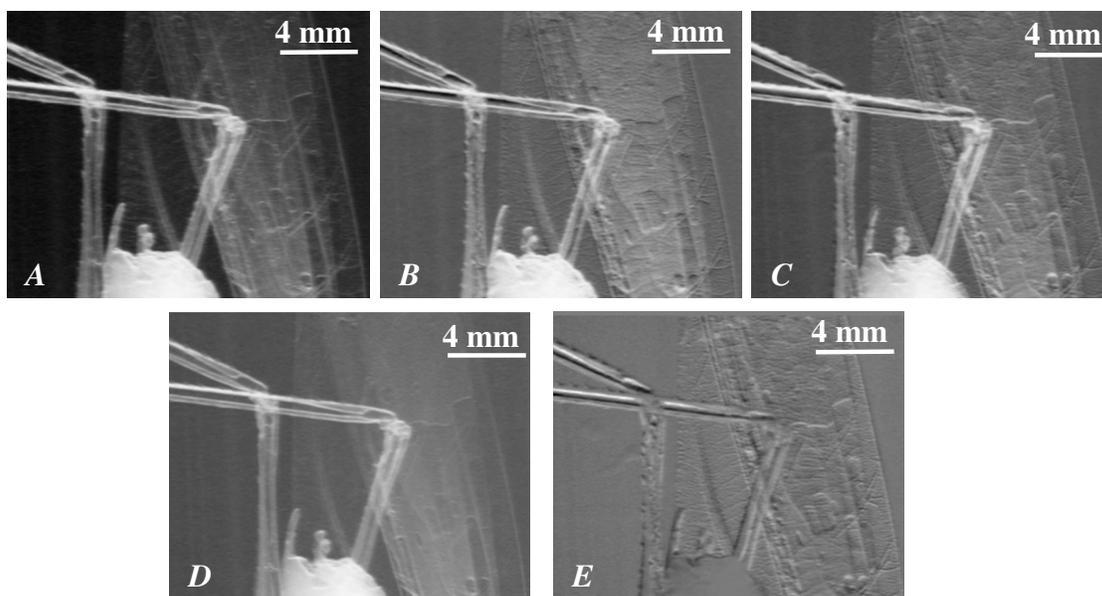
**Figura 53:** Tecido de mama com carcinoma lobular invasivo. As imagens **A** e **B** foram realizadas por contraste de fase com o analisador ajustado para as posições 6 e 7 respectivamente da Figura 38. **C** é a imagem de absorção aparente e **D** de refração obtidas a partir das imagens **A** e **B**.

Para este tipo de câncer também foram obtidas imagens de diferentes posições nos flancos mostradas nas *Figura 52A e B* e nas *Figura 53A e B*. Também foram obtidas as imagens de absorção aparente (*Figura 52C e Figura 53C*) e de refração (*Figura 52D e Figura 53D*).

Nas imagens dos flancos (*Figura 52A e B, Figura 53A e B*) não se consegue identificar com clareza a presença do câncer. Nas imagens de absorção aparente (*Figura 52C e Figura 53B*) nota-se uma variação de níveis de contraste no centro da amostra em relação às outras imagens, mas apesar disto ainda não é uma fonte confiável. Esta não homogeneidade é o câncer se espalhando por todo tecido sadio. Essas misturas de tecidos é a maior causa de falsos negativos, pois os médicos podem considerar essas variações como tecido sadio.

Apesar da escolha de regiões mais distantes da curva ainda não é possível afirmar com certeza a presença do câncer na amostra. Conclui-se que as IRD ainda não conseguem distinguir claramente a presença do carcinoma lobular no tecido de mama.

### 7.2.3 Imagens de um inseto



**Figura 54:** Asas e patas traseiras de um gafanhoto (*Tropidacris collaris*). Imagem **A** obtida no topo da curva de refletividade, **B** e **C** nas posições 4 e 5 respectivamente da Figura 38. As imagens **D** e **E** são imagens de absorção aparente e de refração respectivamente.

A técnica de imagens realçadas por difração permitiu observar detalhes nas asas e patas de um gafanhoto (*Figura 54*). As imagens obtidas na posição 4 e 5 da *Figura 38* (*Figura 54B e C*) são muito semelhantes, mas quando são aplicadas as *Eq. 33a e b*, as duas novas imagens fornecem um acréscimo de informação (*Figura 54D e E*). Novamente as imagens de absorção aparente (*Figura 54D*) se assemelham muito às imagens obtidas no topo da curva (*Figura 54A*) e a imagem de refração (*Figura 54E*) mostra detalhes de relevo.

## 8 Conclusões e Perspectivas

A utilização do método de realce da fase mostrou imagens com qualidade superior em relação às imagens obtidas pelo método convencional de absorção. As imagens obtidas pela técnica de contraste de fase, devido a sua resolução superior em relação às imagens tradicionais podem proporcionar um diagnóstico mais preciso e também um aumento no potencial de detecção precoce de uma anomalia de mama, conseqüentemente aumentando a chance de sobrevivência e cura do paciente.

Para os corpos de prova, as IRD mostraram valores de  $SNR_{\text{borda}}$  e de visibilidade muito superiores que em uma imagem obtida pelo método tradicional o que significa que a técnica tem grande capacidade em distinguir interfaces entre diferentes objetos.

Já nas imagens dos tecidos de mama *in vitro*, os parâmetros analisados resultaram em valores muito próximos entre o método de contraste de fase e o convencional. Apesar desta proximidade, as imagens obtidas por realce da difração mostraram uma qualidade superior em relação às imagens tradicionais (método convencional). As imagens obtidas do tecido com carcinoma ductal tiveram um aumento de resolução com a utilização do método de realce da difração, o que faz com que o diagnóstico daquele tecido tivesse maior chance de acerto. Isto resultaria em diagnósticos mais precisos e uma diminuição nos falso-negativos. Outro realce nestas imagens foram a capacidade de observar detalhes que antes não eram tão perceptíveis, como os ligamentos de Cooper.

Para as imagens obtidas do tecido com carcinoma lobular apesar de uma melhora na qualidade das imagens, ainda não seria possível afirmar com certeza a presença do tumor na região se não soubéssemos que aquela região já apresenta patologia. Uma das soluções para este caso seria explorar mais altas energias.

Outro importante resultado foi a obtenção das imagens de absorção aparente e refração com o cristal analisador em várias posições em torno do pico da curva de difração. As imagens geradas pelos algoritmos conseguiram revelar detalhes que antes não eram perceptíveis e também outras características das imagens como uma noção de relevo que não ocorre numa imagem obtida pelo método convencional.

Para a realização das imagens realçadas por difração é necessário a utilização de fontes de alta brilhância, por isto grande parte dos estudos de imagens por contraste se faz com a utilização de fontes de luz síncrotron, mas um grupo de Munique (Alemanha) está realizando esforços em construir fontes de alta brilhância partir de pulsos de laser permitindo gerar imagens por contraste de fase <sup>[75]</sup>. Outro avanço na realização de fontes compactas está sendo realizada na produção de

fontes síncrotrons compactas que já estão sendo testadas <sup>[76,77]</sup>. Estas fontes têm dimensões que se adaptam a um ambiente hospitalar.

Recentes avanços nesta área estão resultando em obtenção de imagens a partir do método IRD em amostra *in vivo*. A comunidade Européia desde o ano 2000 investiu aproximadamente 2 milhões de euros no projeto *PHASY (Phase Analyzer System)* para o desenvolvimento desta técnica na linha de luz SYRMEP (*SYnchrotron Radiation for MEDical Physics*) do Elettra. No começo do ano de 2006 foram examinadas 9 pacientes pelo método de contraste de fase no Elettra <sup>[78,79]</sup>, pois nos exames realizados pelo método convencional no hospital não puderam fornecer um diagnóstico preciso. Agora esse número de pacientes já passa de 50 <sup>[80]</sup>.

Apesar da existência de muitos síncrotrons no mundo nem todos tem uma infra-estrutura adequada para receber pacientes como um ambiente hospitalar. Um bom exemplo ocorre no síncrotron da Itália. O Elettra já construiu uma linha de luz (SYRMEP) especializada em tratamentos de pacientes com câncer de mama. A linha de luz foi reestruturada para que pudesse receber os pacientes como num ambiente hospitalar propício para a realização de exames de mama.

Outras tendências desta área de imagens por contraste de fase é a utilização de mamógrafos de microfoco adaptados em ambientes hospitalares <sup>[81]</sup>.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Als-Nielsen, J. *et al.*, *Elements of modern X-ray Physics*, Wiley, New York (2001).
- <sup>2</sup> Watson, J. D., *Molecular Biology of the Gene*, 2<sup>nd</sup> Edition, W. A. Benjamin, Inc. New York (1971).
- <sup>3</sup> Brasileiro Filho, G., *Bogliolo patologia*. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, (2000).
- <sup>4</sup> Kumar, V. *et al.*, *Robbins e Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças*. 7<sup>a</sup> edição. São Paulo: Elsevier, (2005).
- <sup>5</sup> Bravin, A. School on X Ray Imaging Techniques at the ESRF. Medical imaging, radiobiology and radiotherapy. February 5-6, (2007).
- <sup>6</sup> Klumb, C. E., *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* **24**(2), (2002): 111-125.
- <sup>7</sup> Parkin, D. M. *et al.*, *Eur. J. Cancer* **37**, (2001) S4-S66.
- <sup>8</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA 2007.
- <sup>9</sup> Martinez, M. F., *X-ray scattering and diffraction enhanced imaging studies of in vitro breast tissues*, (tese de Doutorado). Departamento de Física da Universidade de Helsinque, Finlândia (2006).
- <sup>10</sup> Cotran, R. S. *et al.*, *Robbins Pathologic Basis of Disease*, 6<sup>th</sup> Edition, W. B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania (1999).
- <sup>11</sup> Vicelli, J. T., *Desempenho da mamografia no diagnostico do câncer da mama em mulheres de 35 a 50 anos*. Campinas: UNICAMP, FCM, 1999. (Dissertação de Mestrado).
- <sup>12</sup> Bushberg, J. T. *et al.*, *The Essential Physics of Medical Imaging*. Lippincott Williams & Wilkins, (2001).
- <sup>13</sup> Disponível em: <http://www-dep.iarc.fr/globocan/downloads.htm> programa Globocan 2002.
- <sup>14</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Falando sobre câncer de mama. Rio de Janeiro: INCA 2002.
- <sup>15</sup> Madigan, M. P. *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.* **85**(11), (1995): 1681-1685.
- <sup>16</sup> Souhami, R. *et al.*, *Cancer and Its Management*, Blackwell Science Ltd, London (1998) 216-234.
- <sup>17</sup> Giannotti, I. A. *et al.*, *Revista Brasileira de Cancerologia* **49**(1), 2003: 87-90.
- <sup>18</sup> Millis, .R. R. *et al.*, *Br. J. Radiol.* **49**(577), (1976): 12-26.
- <sup>19</sup> Berg, W. A. *et al.*, *Radiology* **221**(2), (2001): 495-503.
- <sup>20</sup> New recommendations from the United States Government on breast cancer screening. *Pan. Am. J. Public Health* **11**, (2002): 205-9.
- <sup>21</sup> Heywang-Köbrunner, S. H. *et al.*, *Eur. J. Radiol.* **24**, (1997) : 94-108
- <sup>22</sup> Eyre, H. J. *et al.*, *Cancer screening and early detection*. In: Decker BC. Cancer medicine. 5th ed. London; (2000).
- <sup>23</sup> Smith R.A. *et al.*, *C. A. Cancer J. Clin.*, **53** (2003): 27-43.
- <sup>24</sup> Keyriliäinen, J., *Diffraction-enhanced X-ray imaging of in vitro breast tumours*, (Tese de Doutorado), Departamento de Física da Universidade de Helsinki, Finlândia (2004).
- <sup>25</sup> Anttinen, I. *et al.*, *Clin Radiol.* **48**(6), (1993): 414-421.
- <sup>26</sup> Young, K. C. *et al.*, *Br. J. Radiol.* **70**(833), (1997) : 482-488.
- <sup>27</sup> Keyriliäinen, J. *et al.*, *Eur. J. Radiol.* **53** (2005) 226-237.

- <sup>28</sup> Arfelli, F., *Phys. Med. Biol.* **43**, (1998): 2845–2852.
- <sup>29</sup> Brant, W. E., *et al.*, *Fundamentals of Diagnostic Radiology*, 3 ed. Lippincott Williams & Wilkins (2006).
- <sup>30</sup> Disponível em: [www.acr.org](http://www.acr.org). Acessado em 13/01/2009.
- <sup>31</sup> Disponível em: [www.birads.at](http://www.birads.at). Acessado em 14/01/2009.
- <sup>32</sup> Special Issue: X rays 100 years late, *Phys. Today* **48** (1995);
- <sup>33</sup> Cullity, B. D. *et al.*, *Elements of X-Ray Diffraction*, 3 ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, (2001).
- <sup>34</sup> Paganin, D. M., *Coherent X-Ray Optics*, 1ª ed., Oxford University Press, Oxford (2006);
- <sup>35</sup> Arndt, U. W. *et al.*, *X-Ray Generator*, United States Patent nº **US 6.282.263**. Agosto de 2001.
- <sup>36</sup> Tsuji, K., *et al.*, *X-Ray Spectrometry: Recent Technological Advances*, Ed. John Wiley & Sons, Ltd, (2004).
- <sup>37</sup> Disponível em: [www.hamamatsu.com](http://www.hamamatsu.com). Acessado em 12/12/2008.
- <sup>38</sup> Wilkins, S. W. *et al.*, *Nature (London)* **384**, (1996): 335-338.
- <sup>39</sup> X.Wang, *Line X-Ray source for diffraction enhanced imaging in clinical and industrial applications*, (Tese de Doutorado). North Carolina State University, (2006).
- <sup>40</sup> Rocha, H. S., *Desenvolvimento de sistemas radiográficos e tomográficos com técnicas de contraste de fase e realce por difração de raios X*. Tese de doutorado. Departamento de Engenharia Nuclear da Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- <sup>41</sup> D. J. Griffiths, *Introduction to Electrodynamics*, 3rd ed., Prentice-Hall, NJ, (1999).
- <sup>42</sup> Keyriliäinen, J. *et al.*, *Nucl. Instr. and Methods Phys. Res. A* **448**, (2002), 419–427.
- <sup>43</sup> Bushuev, V. A. *et al.*, *Crystallography Reports* (**41**), No. 5, (1996): 766-774.
- <sup>44</sup> Bushuev, V. A. *et al.*, *Il Nuovo Cimento* (**19D**), No. 2-4, (1997): 513-520.
- <sup>45</sup> Suortti, P. *et al.*, *Phys. Med. Biol.* **48**, (2003): R1–R35.
- <sup>46</sup> Takeda, T. *et al.*, *Acad Radiol* (**2**), (1995): 799-803.
- <sup>47</sup> Fitzgerald, R. *Phys. Today* **53**, (2000): 23-26.
- <sup>48</sup> Kitchen, M. J. *et al.*, *Br. J. Radiology* **78**, (2005): 1018-1027.
- <sup>49</sup> Menk, R. H. *et al.*, *Nucl. Instr. and Methods Phys. Res. A* **548** (2005) 213–220;
- <sup>50</sup> Davis, T. J. *et al.*, *Nature (London)* **373**, (1995): 595-598.
- <sup>51</sup> Forster, E. *et al.*, *Kryst. Tech.* **15**, (1995): 937-945.
- <sup>52</sup> Gao, D. *et al.*, *RadioGraphics* **18**, (1998): 1257-1267.
- <sup>53</sup> Pagot, E. *et al.*, *Phys. Med. Biol.* **50**, (2005): 709-724.
- <sup>54</sup> Snigirev, A. *et al.*, *Rer. Sci. Instrum.* **66**, (1995): 5486-5492.
- <sup>55</sup> Zhong, Z. *et al.*, *Nucl. Instr. and Methods Phys. Res. A* **450**, (2000): 556-567.
- <sup>56</sup> Wang, X., *Line X-Ray source for diffraction enhanced imaging in clinical and industrial applications*, (Tese de Doutorado). North Carolina State University, (2006).
- <sup>57</sup> Coan, P. *et al.*, *J. Synchrotron Rad.* **12**, (2005): 241-245.
- <sup>58</sup> Bonse, U. *et al.*, *Applied Physics Letters*, **6(8)**, (1965): 155-157.
- <sup>59</sup> Ando, M. *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, (1972): L298-L301.
- <sup>60</sup> Momose, A., *J. Synchrotron Rad.*, **9**, (2002): 136-142.
- <sup>61</sup> Takeda, T. *et al.*, *Circulation* **105**, (2002): 1708-1712.
- <sup>62</sup> Batterman, B. W., *Reviews of Modern Physics*, **36(3)** (1964): 681-716.

- <sup>63</sup> Authier, A. *Dynamical Theory of X-Ray Diffraction*. Oxford University Press Inc., New York, (2001).
- <sup>64</sup> Hart, M. *et al.*, *Physcis Today*, August (1970): 26-31.
- <sup>65</sup> Chapman, D. *et al.*, *Phys. Med. Biol.* **42** (1997): 2015-2025.
- <sup>66</sup> Giles, C. *et al.*, *J. Synchrotron Rad.* **10**, (2003): 421-423.
- <sup>67</sup> Hönnicke, M. G. *et al.*, *Rev. Sci. Instrum.* **76(9)** (2005): 093703.
- <sup>68</sup> Rocha, H. S. *et al.*, *Nucl. Instr. and Methods Phys. Res. A* **548** (2005): 228-233.
- <sup>69</sup> Rocha, H. S. *et al.*, *X-Ray Spectrometry* **36(4)**, (2007): 247–253.
- <sup>70</sup> Davis, T. J. *et al.*, *J. Opt. Soc. Am. A.* **13**, (1996): 1193-96.
- <sup>71</sup> Ingal, V. N. *et al.*, *Phys. Med. Biol.* **43**, (1998): 2555-2567.
- <sup>72</sup> Zachariasen, H. W., *Theory of X-ray Diffraction in Crystals*, Dover Publications Inc, New York (1945).
- <sup>73</sup> Sanchez del Rio, M. *et al.*, *SPIE Proceedings* **5536**, (2004): 171-174.
- <sup>74</sup> Giles, C. *et al.*, *J. Synchrotron Rad.* **10**, (2003): 430-434.
- <sup>75</sup> Disponível em: [www.munich-photonics.de](http://www.munich-photonics.de). Acessado em 22/01/2009.
- <sup>76</sup> Disponível em: [http://lynceantech.com/company\\_news.html](http://lynceantech.com/company_news.html). Acessado em 18/02/2009.
- <sup>77</sup> Bech, M. *et al.*, *J. Synchrotron Rad.* **16**, (2008): 43-47.
- <sup>78</sup> Castelli, E. *et al.*, *Nucl. Instr. and Methods Phys. Res. A* **572** (2007): 237–240.
- <sup>79</sup> Dreossi, D. *et al.*, *Nucl. Instr. and Methods Phys. Res. A* **576** (2007): 160–163.
- <sup>80</sup> Dreossi, D. *et al.*, *European Journal of Radiology* **68S** (2008): S58-S62.
- <sup>81</sup> Williams, I. M. *et al.*, *European Journal of Radiology* **68S** (2008): S73-S77.