



Universitatea Babeş-Bolyai
Facultatea de Fizică
Şcoala Doctorală Fizica



**Studii preclinice de imagistică prin rezonanța
magnetică la 7 T și asupra unor agenți de contrast cu
pământuri rare**

-Rezumatul tezei -

Îndrumător științific:
Prof. Dr. Simion SIMON

Doctorand:
Farcașanu Alexandru Ștefan

Cluj-Napoca
2022

Cuprins

Introducere	3
Capitolul 1.....	4
Capitolul 4. Studii preclinice de imagistică prin rezonanță magnetică la 7 T	7
Scannerul Bruker Biospec 7.0 Tesla	8
Studii ex-vivo.....	9
Studii in vivo.....	14
Capitolul 5. Studiul unor agenți de contrast cu pământuri rare	19
5.1 Sinteza particulelor sferoide și metode de caracterizare structurală.....	19
Sinteza de materiale prin metoda Stober.....	19
Relaxometrie prin Imagistica de rezonanță magnetică	20
5.2. Rezultate experimentale pe agenti de contrast cu pamânturi rare	21
Analiza termică diferențială	21
Difracție de raze X.....	23
Spectroscopie de absorbție in IR.....	23
Rezonanța paramagnetică electronică	24
Rezonanță magnetică nucleară.....	26
Microscopie electronică de baleiaj.....	28
Microscopia electronică de transmisie	29
Determinarea distribuției dimensionale și a potențialului electric	33
Relaxometrie prin imagistică de rezonanță magnetică (R-IRM)	35
Capitolul 6. Concluzii	38
Bibliografie	40
Anexa 1. Diseminarea rezultatelor.....	46

Introducere

Investigațiile preclinice de imagistică RM, atât in vivo cât și cele in vitro, s-au dovedit a fi extrem de importante, fiind în multe cazuri o precondiție pentru trecerea la cercetarea clinică. În cadrul cercetării preclinice utilizând câmpuri magnetice ultra înalte nu este necesară folosirea agenților de contrast, necesitate ce se impune în studiile de imagistică clinică la câmpuri magnetice mai joase.

Versalitatea utilizării tehnicii de imagistică RM în cadrul studiilor preclinice a fost demonstrată în studiile de cercetare atât cele ex vivo, cât și cea in vivo. Informațiile obținute prin utilizarea acestei tehnici a permis evidențierea diferitelor stadii de dezvoltare a sistemului nervos uman dar și utilizarea acesteia pentru diagnosticarea post-mortem a malformațiilor congenitale embrionare fiind o alternativă la autopsia clasică. Cercetările in vivo preclinice au arătat, de asemenea, că utilizarea tehnicii RM este necesară indiferent dacă se studiază patologii sau farmacocinetica unor medicamente pe model animal.

Particulele de silice dopate cu ioni paramagnetici Dy și Gd au fost sintetizate cu succes prin utilizarea sintezei chimice bazate pe metoda Stöber modificată, având potențiale aplicații ca agenți de contrast pentru imagistica prin rezonanță magnetică (IRM).

Analizele de caracterizare structurală arată un caracter amorf al structurii particulelor (XRD), o bună stabilitate termică (DTA/TGA) și o formă sferoidă (SEM), (TEM). Stabilitatea hidrodinamică a fost demonstrată prin analiza potențialului Zeta și prin DSL. Integrarea ionilor de Dy și Gd în rețeaua de silice a fost demonstrată prin spectroscopiile MAS-NMR, EPR și FTIR.

Examinările de relaxare prin rezonanță magnetică (R-MR) ale probelor indică o rată ridicată de relaxivitate pentru particulele dopate cu Dy, făcându-le adecvate ca agent de contrast pentru imagistica prin rezonanță magnetică T₂. Acest lucru este în contrast cu rezultatele obținute pe particulele dopate cu Gd care sunt un agent de contrast eficient pentru IRM T₁. În special, dacă structura de silice încorporează atât Gd, cât și Dy, particulele obținute sunt potrivite pentru îmbunătățirea contrastului în imaginile ponderate T₁ și T₂. Aceste caracteristici ale probelor sunt susținute și de valoarea raportului de relaxivitate (r_2/r_1) pentru cele trei probe dopate cu ioni paramagnetici. Rezultatele confirmă sustenabilitatea aplicațiilor de agent de contrast IRM, atât în imagistica ponderată T₁, cât și în T₂ pentru toate cele trei probe sintetizate.

Capitolul 1.

Imagistica prin rezonanță magnetică (IRM) reprezintă metoda de diagnostic non-invazivă, fără a utiliza radiație ionizantă, pentru studii clinice și pentru cercetarea preclinică. IRM este o tehnică de imagistică ce permite obținerea de imagini cu contrast și rezoluție spațială ridicată în special a țesuturilor moi [1].

Calitatea informațiilor obținute în investigarea țesuturilor moi, utilizând imagistica MR, a făcut ca această tehnică să fie utilizată cu succes pentru investigarea țesutului nervos central la diferite stadii de dezvoltare a embrionilor [2], [3], [4] dar și în cazul studiilor de patologie embrionară [5].

În cazul studiilor preclinice pe animale, tehnica de imagistică RM, are un mare avantaj atât din punct de vedere etic, deoarece animale nu sunt sacrificate în cadrul studiului, cât și din punct de vedere al calității informațiilor obținute în cadrul experimentului. Relevanța imagisticii RM în studiile preclinice a fost demonstrată în diferitele experimente interdisciplinare realizate cu scannerul MR preclinic de 7T [6], [7], [8], [9].

Raportul semnal-zgomot și prin urmare, rezoluția spațială/temporală crește în mod nativ odată cu intensitatea câmpului magnetic (>3 T), aceste intensități de câmp fiind utilizate în special în aplicațiile preclinice. În diagnosticul clinic predomină intensitatea moderată a câmpului magnetic (0,5–3 T) ce duce la necesitatea utilizării agenților de contrast care joacă un rol din ce în ce mai important pentru a crește sensibilitatea imaginii prin îmbunătățirea contrastului în regiunile de interes (ROI) [10].

În IRM, se măsoară timpul de relaxare (T_1 - timpul de relaxare longitudinală, T_2 - timp de relaxare transversal) [11]. Semnalul IRM tinde să crească odată cu scurtarea T_1 și scade odată cu scurtarea T_2 [12].

Agenții de contrast sunt folosiți pentru a modifica ratele de relaxare a protonilor și pentru a îmbunătăți vizualizarea diferențelor dintre țesuturile normale și cele bolnave [13] [14]. În funcție de modul de modificare a contrastului, agenții de contrast sunt împărțiți în agenți de contrast pozitivi (T_1) aceștia produc o creștere a intensității semnalului în regiunea de interes (ROI) (zone cu hipersemnal -imagini mai luminoase) în imaginile de tipul T_1 -ponderate. O a doua categorie de

agenți de contrast sunt cei negativi, prezența acestora produce o scădere a intensității semnalului în ROI (zone cu hiposemnal-imaginii mai întunecate) în imaginile de tipul T_2 -ponderate [15]. Iar cea de a treia categorie de agenți de contrast sunt cei duali unde sunt utilizate două moduri diferite de imagistică ponderate simultan T_1 și T_2 [16].

Cei mai utilizați agenți de contrast în diagnosticul clinic au în componență ioni de Gd, acesta are efect pozitiv în imaginile RM fiind T_1 -ponderate; efect ce este datorat celor 7 electroni neîmperecheați (momentul magnetic efectiv este $7.29 \mu B$) care perturba relaxarea protonilor din țesut învecinat rezultând o scurtare eficientă a timpului de relaxare longitudinală și creșterea intensității semnalului de rezonanță magnetică [17] [18].

Compușii pe baza de Dy^{3+} care au un moment magnetic efectiv ridicat ($10.6 \mu B$) și prezintă un timp de relaxare electronică scurt (aproximativ 10^{-13} sec) permit relaxarea ridicată a protonilor în câmpuri magnetice ultraînalte fiind astfel un agent de contrast negativ (T_2) [18]. Induce relaxarea T_1 într-o măsură neglijabilă, deoarece mișcarea orbitală cu electroni 4f este mult mai rapidă decât mișcarea lentă a spinului protonului. În timp ce mișcarea de spin a electronului 4f în Gd^{3+} se potrivește îndeaproape cu relaxarea lentă a spinului protonului. Prin urmare, Dy^{3+} nu este potrivit pentru agenții de contrast IRM T_1 , dar este potrivit pentru agenții de contrast RMN T_2 în diferite forme de nanoparticule din cauza valorii momentelor magnetice ale particulelor care conțin Dy^{3+} la temperatura camerei. Relaxarea T_2 este legată doar de momentul magnetic total al unui agent de contrast, deoarece este indusă în principal de fluctuația unui câmp magnetic local generat de agentul de contrast [19].

Mai recent, cererea din ce în ce mai mare pentru agenți de contrast a determinat încercări de a combina imagistica T_1 și T_2 într-o manieră sinergică pentru a evita posibilele artefacte RM [20] și pentru a îmbunătăți sensibilitatea deoarece modurile de imagistică combinate T_1 - T_2 pot permite validarea încrucișată a datelor obținute, producând informații complementare și auto-confirmate pentru precizie și sensibilitate ridicată [21].

Particulele sferoide de silice mezoporoasă oferă o multitudine de avantaje cum ar fi porozitate crescută, funcționalizare ușoară a suprafeței, biocompatibilitate, toxicitate scăzută, fiind ușor de fabricat cu proceduri de cost relativ scăzute și sunt ideale pentru găzduirea de molecule într-o gamă largă de dimensiuni, forme și funcționalități [22][23].

Metoda Stober [25] este o abordare clasică de sinteză a particulelor sferice de silice și a fost utilizată pentru a sintetiza aceste particule sferoide cu adădire de ioni de Gd^{3+} și Dy^{3+} .

Scopul aceste părți a studiului a fost sinteza microsferoide de SiO_2 dopate cu ioni de Gd^{3+} și Dy^{3+} în scopul de a fi utilizați ca agenți de contrast în imagistica de rezonanță magnetică.

După Introducere, în Capitolul I se prezintă principiile fundamentale a ceea ce presupune rezonanța magnetică nucleară fiind prezentate fenomenele fizice precum spinul nuclear, efectul Zeeman dar și cei mai importanți doi parametri ce caracterizează absorbția de energie a spinilor nucleari și anume timpul de relaxare spin-rețea și timpul de relaxare spin-spin, aceștia din urmă fiind parametri ce caracterizează sistemele de spini. Se mai prezintă transformarea matematică a semnalelor și distribuția spațială a acestora într-un spațiu matematic virtual.

Capitolul al III-lea prezintă modul în care se face trecerea de la informații sub formă de spectre la informație sub formă de imagini; sunt prezentate atât componentele care sunt necesare pentru această transformare cât și principiul fizic care presupune codarea spațială a informației. În cadrul acestui capitol sunt expuse proprietățile necesare pe care trebuie să le îndeplinească un biomaterial pentru a se califica pentru agent de contrast în imagistica RM.

În capitolul IV sunt prezentate investigațiile preclinice interdisciplinare realizate cu scannerul MRI 7T și rezultatele obținute prin utilizarea aceste tehnici în studiul sistemului nervos uman- cercetare de embrioni umani ex vivo; investigați prin IRM post mortem pentru depistarea malformațiilor congenitale; demonstrația că IRM este un instrument util pentru imagistica condițiilor anatomice ale morfologiei canalului radicular extern și intern în scopuri endodontice. În a doua jumătate a acestui capitol sunt expuse rezultatele utilizării tehnici IRM în studii in vivo: integrarea biomaterialului în țesut după implantare și urmărirea periodică a acestui proces; investigația morfologică a glandelor veninoase în cazul speciei *Ameiurus Nebulosus*; urmărirea proceselor inflamatorii în cazul inducerii leziunilor dentare periapicale și studiul de farmacocinetică cu luteină în cazul experimentului pe model animal.

Capitolul V prezintă , în prima parte, în detaliu, metoda de sinteză a sferoidelor de silice dopate cu ioni paramagnetici, aceasta fiind metoda clasică Stober modificată, astfel încât să se obțină aceste materiale cu proprietățile fizice necesare pentru a fi agenți de contrast în imagistica

RM. În continuarea acestui capitol sunt expuse tehnicile de caracterizare structurală utilizate pentru a demonstra caracterul de agent de contrast al probelor obținute în urma sintezei.

În partea a doua a capitolului V sunt prezentate rezultatele experimentale obținute prin utilizarea tehnicilor experimentale prezentate în capitolul anterior, analize ce au fost necesare pentru determinarea proprietăților fizice ale materialelor noi sintetizate.

În capitolul VI sunt expuse concluziile cercetării care înglobează rezultatele obținute utilizând imagistica RM. În cadrul experimentelor *in vivo* și *ex vivo* s-a demonstrat versatilitatea utilizării acestei tehnici în cercetarea preclinică și importanța acesteia în cadrul acestor studii. Iar în cazul studiului unor agenți de contrast cu pământuri rare ipoteza inițială a cercetării a fost confirmată prin rezultatele obținute. În acest capitol se regăsesc și perspectivele de continuare a acestei cercetări care pot duce în final la obținerea unui biomaterial care se va putea utiliza în imagistica RM ca agent de contrast dual.

Această lucrare se încheie cu prezentarea rezultatelor științifice deținute pe parcursul acestor ani de cercetare și nu în ultimul rând cu mulțumirile aduse oamenilor care m-au susținut în realizarea acestei cercetări.

Capitolul 4. Studii preclinice de imagistică prin rezonanță magnetică la 7 T

În cadrul cercetării, utilizând tehnica RM, abordarea multidisciplinară a fost una necesară și facilă, care în același timp susține dezvoltarea de noi direcții de aplicare a acestei tehnologii care a dus la obținerea de rezultate deosebite în cercetarea embrionară. O astfel de abordare de cercetare interdisciplinară o reprezintă studiile *ex-vivo* de diagnostic și de urmărire a dezvoltării sistemului nervos în diferite stadii de dezvoltare embrionară fără a altera probele.

Cercetările *in vivo* realizate pe animale fără a afecta integritatea acestora, reprezintă un atu important al tehnicii de imagistică RM. Și acest tip de cercetare se realizează în cadrul unor colaborări multidisciplinare, fiind implicate colective din domeniul medicinei umane și veterinare.

Scannerul Bruker Biospec 7.0 Tesla

Scannerul Biospec are capacitatea de a furniza, non-invaziv, o multitudine de informații funcționale și anatomice in vivo. Tehnologia cryoprobe RMN state-of-the-art combinată cu magneții USR oferă o înaltă rezoluție spațială, permite imagistica și spectroscopia pe ^1H și o serie de alte nuclee MR-active, cum ar fi ^{31}P , ^{23}Na , ^{19}F și ^{13}C . Exemple de studii care pot fi efectuate cu sistemul BioSpect 70/20 USR includ:

- ✓ Imaginile "clasice" bazate pe T1, T2 sau densitatea de protoni, de obicei sunt folosite pentru a arăta detalii anatomice;
- ✓ Fluxul de sânge în artere sau vene (angiografia prin rezonanță magnetică sau MRA);
- ✓ Vascularizația sângelui prin țesuturi, oferind harta fluxului sangvin cerebral (CBF) și volumul sangvin cerebral (CBV);
- ✓ Difuzia moleculară a apei prin țesuturi, (tractografie și difuzarea imaginilor tensor (DTI));
- ✓ Gradul relativ de apă legată și nelegată prin contrast de transfer al magnetizării (MTC);
- ✓ Mișcarea țesuturilor, cum ar fi activitatea inimii ce are ca rezultat măsurarea frecvenței de ejecție și mișcarea miocardului;
- ✓ Temperatura în țesuturi și măsurători de pH intracelular;
- ✓ Oxigenarea sângelui pentru a arăta zonele creierului activate de stimuli - RMN funcțională (fMRI);
- ✓ Modificări în vascularizația sângelui prin țesuturi, ca răspuns la tratamentul farmacologic (phMRI);

Studii ex-vivo

Înțelegerea morfogenezei organelor în diverse stadii de dezvoltare oferă o perspectivă asupra mecanismelor de dezvoltare a anomaliilor congenitale. Tehnicile de rezonanță magnetică sunt metode eficiente pentru obținerea datelor morfologice detaliate ale embrionilor.

Micro-RMN al embrionilor umani este o metodă de cercetare morfologică relativ nouă în domeniul embriologiei moderne. Oferă detalii precise ale embrionului în curs de dezvoltare datorită unei rezoluții spațiale de până la 20 μm /pixel [2].

Cercetările de imagistică RM pe embrioni au fost realizate prin colaborarea cu departamentul de embriologie de la Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” din Cluj-Napoca.

Primul studiu al acestei abordări de cercetare embrionară a avut ca scop caracterizarea morfologică a creierului în curs de dezvoltare al embrionilor avortați, în două stadii Carnegie, cu ajutorul examenului anatomic, împreună cu imagistica prin micro-rezonanța magnetică.

Analiza prin rezonanță magnetică a fost efectuată folosind un scanner Bruker Biospec 7.04 Tesla (Ettlingen, Germania). Au fost utilizate protocoale bazate pe o secvență ponderată T2 2D pentru a analiza morfologic embrionii în cele trei planuri anatomice.

Scanarea axială 2D a fost efectuată cu o grosime a feliei de 300 de micrometri și diferite distanțe între felii. Prin reducerea câmpului vizual la o valoare cu doar 20 % peste cea mai mare amprentă axială 2D și prin creșterea numărului de medii la 32, s-a obținut o rezoluție excelentă de 20 μm /voxel.

În studiul nostru [2], au fost obținute rezoluții spațiale remarcabile de 20 μm /voxel, care oferă imagini (Figura 4.1) extrem de precise. Detaliile surprinzătoare ale morfologiei creierului în curs de dezvoltare pot fi observate pe feliile RM, făcând din această tehnică de imagistică o nouă metodă standard în studiile morfologice. În plus, RM este reproductibilă și nu distruge speciimenele anatomice așa cum o fac metodele histologice.

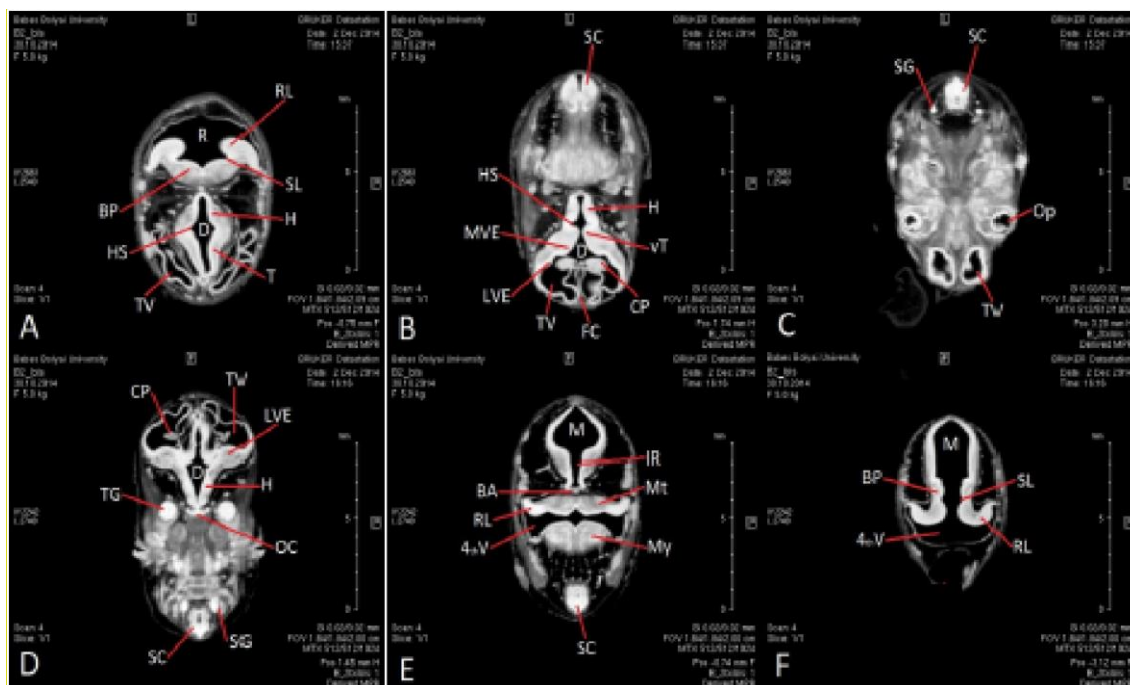


Figura 4.1. Embrion uman 22 mm CRL, CS 21 ilustrat prin micro-MR. Sunt prezentate secțiuni axiale (A-C) și secțiuni coronale (D-E). TV: vezicule telencefalice, FC: falx cerebri, D: diencefal, M: mezencefal, R: ventricul al patrimea, CP: plexuri coroidiene, H: hipotalamus, T: talamus, HS: sulcus hipotalamic, LVE: eminență ventriculară laterală, MVE: eminență ventriculară medială, Mt: metencefal, RL: buze rombice, SL: sulcus limitans, BP: placa bazală, BA: arteră bazilară, SC: măduva spinării, SG: ganglion spinal, vT: talamus ventral, Op: cupă optică, TG: ganglion trigemen, OC: chiasmă optică, IR: istm rombencefal, My: mielencefal.

Un al doilea studiu [5] ex vivo realizat a presupus utilizarea imagisticii RM post-mortem (PM-MRI) ca o alternativă promițătoare la autopsia convențională, unul dintre avantajele acestei metode fiind posibilitatea unei evaluări morfologice fetale îmbunătățite fără a modifica integritatea embrionului.

Studiul actual prezintă cazul unui făt diagnosticat cu sindrom Down la 13 săptămâni de gestație (Figura 4.3). Anomaliile fetale au fost analizate prin ecografie prenatală, PM-RMN și autopsie convențională.

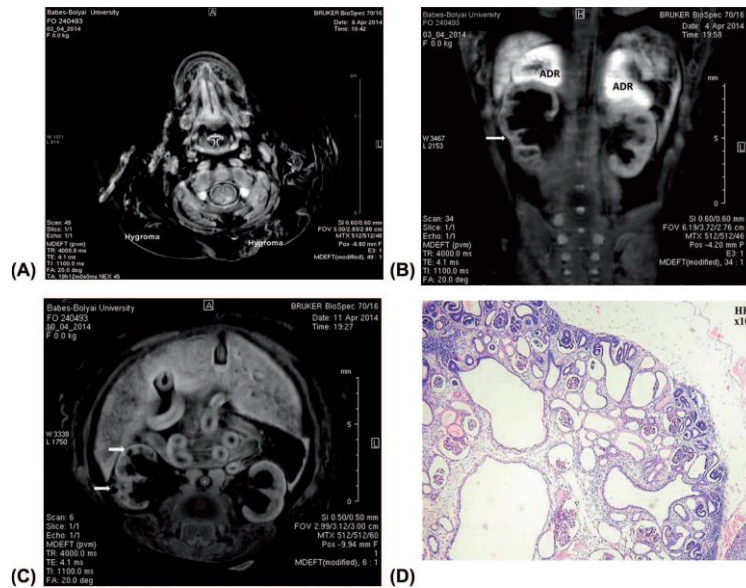


Figura 4.3. (A) Cap axial MRI-T1 IR WI al unui făt de sex masculin de 13 săptămâni, reprezentând un higrom cervico-dorsal. (B) Coronal T1 IR WI a unui făt de sex masculin de 13 săptămâni, centrat pe abdomen: săgeată care indică un rinichi drept anormal: sinus destins, grosimi corticale diminuate, (ADR glandele suprarenale). Rețineți rinichiul stâng: mai mic și situat la același nivel cu cel drept. (C) Axial T1 IR WI centrat pe rinichi. Săgețile de pe rinichiul drept indică mici structuri chistice din corticala renală. (D) Secțiune prin rinichiul drept.

Dilatații chistice multiple ale componentelor nefronice (HE 10X).

Folosind PM-RMN de înaltă performanță ca alternativă, sau în plus față de autopsia convențională la feteșii de vârstă gestațională timpurie, devine posibilă identificarea malformațiilor subtile, altfel trecute cu vederea. Studiile imagistice avansate pot ajuta la îmbunătățirea analizei patologice și a diagnosticului prenatal, facilitând consilierea suplimentară a pacientului și îngrijirea fetală. Cea de a treia cercetare ex vivo [4] pe embrioni a avut ca scop evaluarea creșterii și dezvoltării cerebelului folosind 2 tehnici de măsurare diferite: imagistica RM și tehnica cu ultrasunete. Măsurătorile cerebelului au fost funcție de vârsta gestațională. S-au studiat 14 feteșii umani avortați corespunzători la 15-28 săptămâni de gestație, conservați într-o soluție de formol 9%. Ajustările referințelor anatomice au fost obținute prin imagini ponderate T2 (T2-wi), în cele trei planuri ortogonale: plan axial, coronal și sagital. Pentru achiziția de imagini 3D a sistemul nervos s-a utilizat secvența de puls Fast Imaging with Steady-state Precession (FISP) (Figura 4.2).

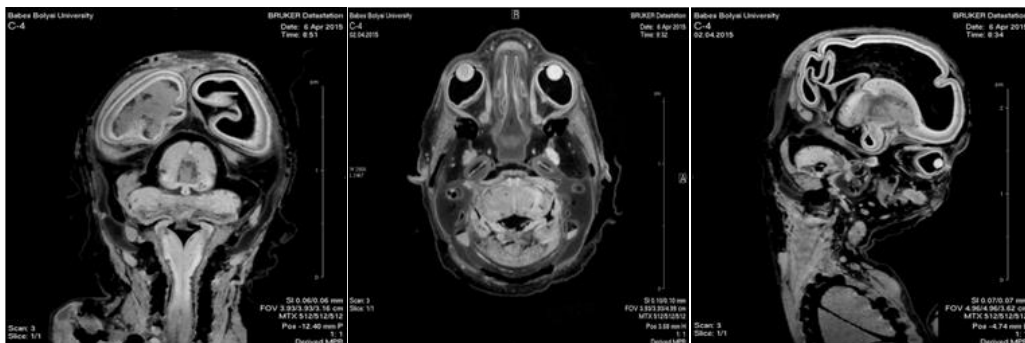


Figura 4.2. Făt 15 GW - imagini RM ale planurilor axial, coronal și sagital.

Rezultatele au arătat că există o corelație liniară între măsurătorile de RM și determinările cu ultrasunete. Pe baza tuturor datelor colectate am putea aplica formula elipsoidul transversal pentru calculul volumului cerebelos, un util criteriu în evaluarea dezvoltării cerebelului și a vârstei gestaționale. Sunt încă necesare studii de embriologie pentru o evaluare completă a organelor în curs de dezvoltare. Acestea pot oferi o mai bună înțelegere a normalului și a morfogenezei patologice.

Cea de a patra cercetare [3] de imagistica RM pe embrioni a avut ca și scop descrierea morfologică a unor eminente ganglionare în cadrul creierului embrionar și fetal timpuriu, prin utilizarea imagistici MR (Figura 4.3).

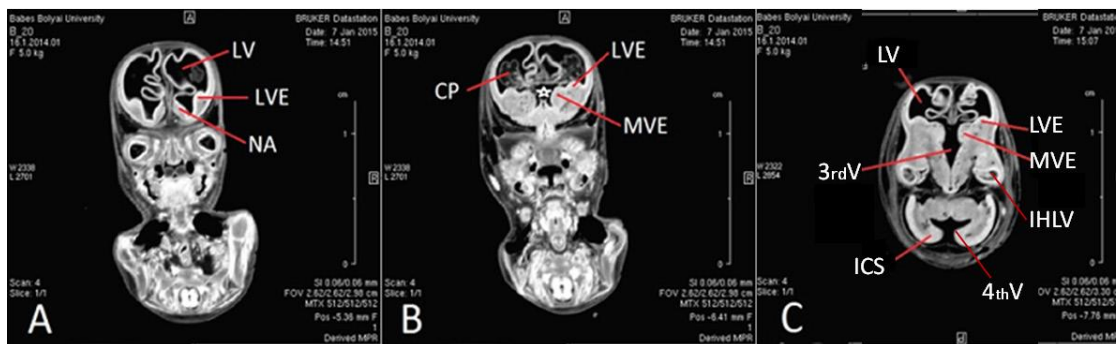


Figura 4.3. Embrion uman 32 mm CRL, 10 GW, CS 23. Sunt prezentate feliile coronale (A, B) și axiale (C). VS: ventricul lateral, LVE: eminență ventriculară laterală, NA: nucleus accumbens, CP: plex coroid, 3rdV și stea în (B): al treilea ventricul, ICS: cerebelos intern umflare, IHLV: corn inferior al ventriculului lateral, 4thV: al patrulea ventricul.

Această tehnică oferă imagini clare ale structurilor nervoase mici, cum ar fi eminențe ganglionare. Putem spera că îmbunătățirea rezoluțiilor spațiale ale aparatelor RMN prin utilizarea câmpurilor magnetice mai intense va oferi imagini „histologice” ale țesuturilor, fie în felii 2D, fie în reconstrucții 3D. Toate aceste studii au demonstrat capacitatea imagisticii RM cu un câmp magnetic de 7T de a oferi informații importante în studiul dezvoltării embrionare. Un alt tip de studiu ex vivo [26] realizat utilizând tehnica de imagistica RM a avut scopul de a demonstra că imagistica prin rezonanță magnetică este un instrument util pentru imagistica condițiilor anatomice ale morfologiei canalului radicular extern și intern în scopuri endodontice. Experimentul actual ex-vivo arată reconstrucția precisă a volumului 3D (Figura 4.4) a morfologiei interne și externe a unui dinte uman extras și tratat endodontic folosind un set de date de imagini obținute prin imagistică prin rezonanță magnetică.

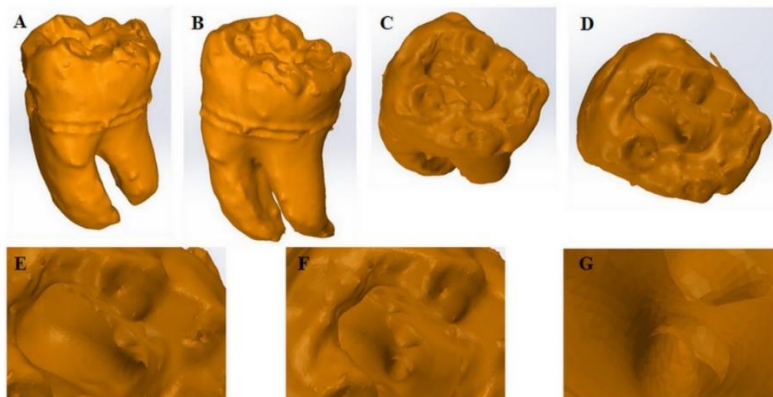


Figura 4.4 Reconstituirea suprafeței umplute în volum 3D.

A. Vedere linguală externă; B. Vedere vestibulară externă; C. Vedere ocluzală a camerei pulpare; D. Cavitata de acces; E. Vedere a deschiderii canalului distal, pe podeaua camerei pulpare; F. Deschiderea canalului radicular distal (prim-plan); G. Vedere în interiorul treimii coronale a canalului radicular.

Imagistica prin RM oferă seturi de date de imagini 3D cu mai multe informații decât tehnicile radiografice convenționale. Datorită capacității sale de imagistică atât a țesuturilor dentare dure, cât și moi, imagistica prin RM poate fi utilizată cu succes ca tehnică de imagistică de diagnostic 3D în stomatologie. Atunci când aleg metoda imagistică, medicii stomatologi ar trebui să pondereze raportul beneficiu-risc, ținând cont de costurile asociate imagisticii prin

rezonanță magnetică și de efectele nocive ale radiațiilor ionizante atunci când se utilizează tomografia computerizată cu fascicul conic sau radiografia convențională.

Studii in vivo

Studiile preclinice in vivo reprezintă cel mai mare avantaj în utilizarea acestei tehnici de imagistică RM, deoarece nu afectează integritatea animalului ce face parte din studiu și nu utilizează radiație ionizantă care ar duce la alte efecte asupra cobailui.

Unul din studii [6] a pus în evidență integrarea și regenerarea osoasă după implantarea unui biomaterial în țesut osos (femurul stâng și drept al cobaiului), dar și urmărirea acestui proces periodic fără a afecta integritatea cobaiului. Pentru a urmări evaluarea materialelor implantate, au fost efectuate experimente IRM. Scanările RMN au fost efectuate la diferite intervale de timp: prima investigație RMN a fost efectuată după implantarea chirurgicală a schelei compozite (Figura 4.5) și se poate observa defectul osos inițial; a doua a fost efectuată la 5 zile după implantare (Figura 4.6, 4.7), în timp ce ultima a fost efectuată la 28 de zile după intervenție chirurgicală .

Experimentul RMN a permis observarea neinvazivă și nedistructivă in vivo a dezvoltării osoase, fără a afecta rezultatele finale.



Figura 4.5. Imagini RM obținute imediat după intervenție chirurgicală (a, protocol RARE stânga; b, protocol FLASH dreapta).

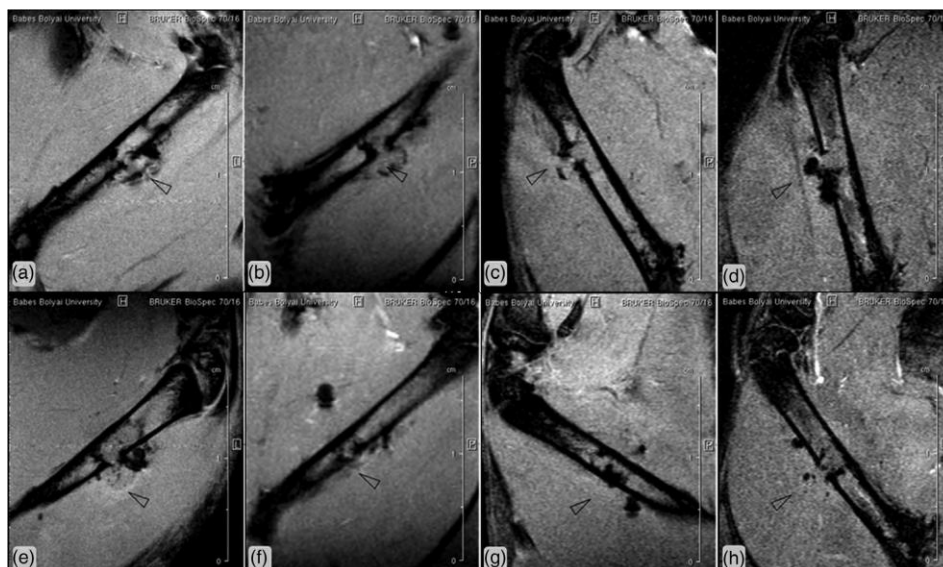


Figura 4.6. Imagini RMN obținute la 5 zile după intervenția chirurgicală: prima linie reprezentând piciorul drept al fiecărui grup Alg-Pll-0,5CuBG (a), Alg-Pll-1,5CuBG (b), Alg-Pll-BG (c), Alg-Pll (d) și a doua linie reprezentând piciorul stâng al fiecărui grup Alg-Pll-βTCP/HA (e, f, g, h).

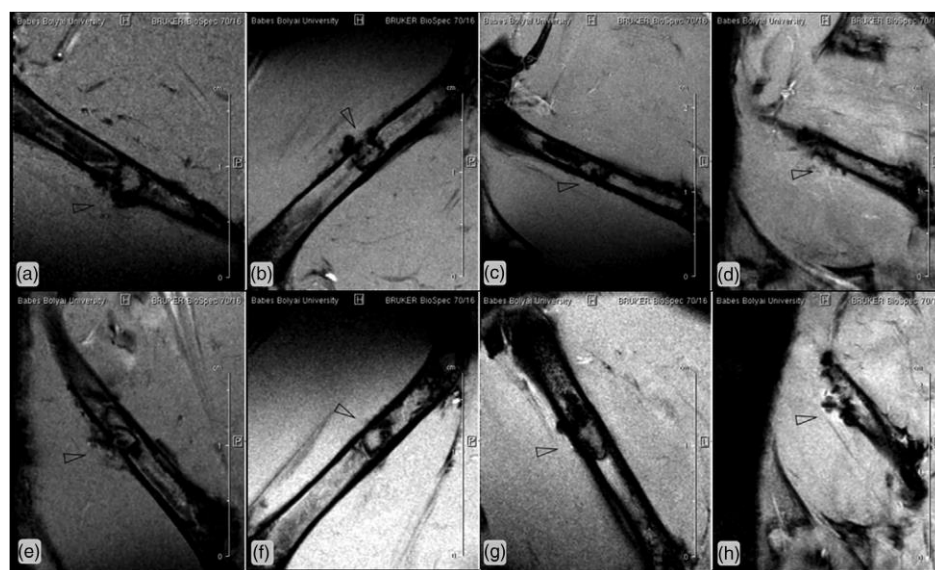


Figura 4.7. Imagini RMN obținute la 5 zile după intervenția chirurgicală: prima linie reprezentând piciorul drept al fiecărui grup Alg-Pll-0,5CuBG (a), Alg-Pll-1,5CuBG (b), Alg-Pll-BG (c), Alg-Pll (d) și a doua linie reprezentând piciorul stâng al fiecărui grup Alg-Pll-βTCP/HA (e, f, g, h).

Un alt studiu de imagistică RM morfologică s-a efectuat pe specia *Ameiurus Nebulosus* [7], unde am investigat forma și topografia glandelor veninoase. Motivul principal al acestei investigații a fost de a oferi o mai bună înțelegere a mecanismului de apărare al acestei specii.

Pentru investigațiile anatomice de imagistică RM s-au folosit protocoalele RARE (Rapid Acquisition with Refocused Echoes) și Turbo RARE High Resolution, bazate pe secvența pulsului RF de tip echo.

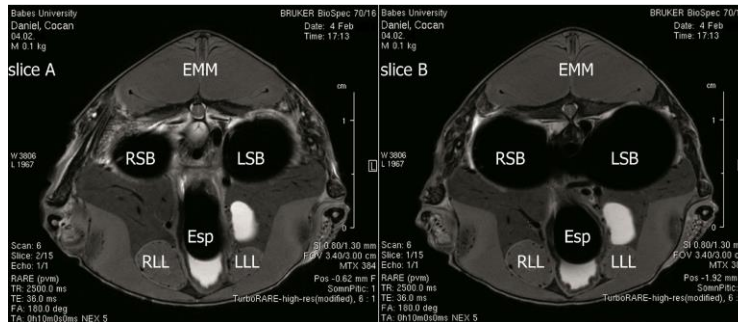


Figura 4.8. Secțiune axială a Ameiurus nebulosus. Secțiune craniană scanat până la prima înotătoare dorsală. A, felie 2/15; B, felie 1/15.

Folosirea tehnicilor IRM pentru investigațiile anatomice ale glandelor veninoase la *Ameiurus Nebulosus* s-a dovedit a fi foarte precisă, atât în identificarea formei, cât și a topografiei glandelor veninoase. De asemenea, prin utilizarea tehnicilor RMN am evidențiat mecanismul complex de apărare pe care l-a dezvoltat împotriva prădătorilor.

Studiul *in vivo* a avut ca scop evidențierea modificărilor calitative detectate prin imagistica RM 7 T și micro-CT în modelul animal căruia i-au fost induse experimental leziuni periapicale. Toate animalele au fost investigate la 14, 30 și 60 de zile prin utilizarea de imagistică RM și s-a pus în evidență inflamația periapicală, care a fost vizibilă devreme în secțiunile IRM axiale (Figura 4.9.a) și coronale (Figura 4.9.b).



Figura 4.9.a. Secvențe succesive RMN molare mandibulare axiale, timp 30 zile.



Figura 4.9 Secvențe succesive RMN molare coronale mandibulare, timp 60 de zile

Imagistica RM este o metodă neradiantă care permite depistarea precoce in vivo a patologiei și oferă posibilitatea de a studia evoluțiile acesteia în mod continuu.

Studiul care analizează farmacocinetica unor medicamente necesare pentru tratamentul problemelor oculare utilizând Imagistica prin RM (IRM) [9], această tehnică a evoluat într-un instrument multifuncțional, non-invaziv, care servește atât în mediul preclinic, cât și în cel clinic. Poate fi utilizat într-un mod sigur și neinvaziv pentru vizualizare in situ, în timp real, localizare de înaltă rezoluție și cuantificare a medicamentelor oftalmice la administrarea lor, cu sau fără agenți de contrast. Spre deosebire de imagistica anatomică convențională prin RM, spectroscopia de rezonanță magnetică (MRS) (Figura 4.10) măsoară informațiile despre schimbarea chimică a moleculelor individuale dintr-un subiect viu, permițând monitorizarea diferitelor procese biochimice și metabolice în comparație și la administrarea unui bioactiv de interes.

Studiul de față, utilizând un scanner 7 T RMN Bruker Biospec 70/16 USR, a investigat biodistribuția oculară la șobolani adulți a luteinei administrate local în matricea de hidrogel folosind metoda MRS. Au fost efectuate studii comparative intra- și interindividuale (ochi tratat vs. netratat; hidrogel cu și fără luteină; sănătos vs. bolnav - retinopatie diabetică; etc.) pentru a valida aplicabilitatea acestei tehnici MRS în demonstrarea capacității luteinei administrate local în atingerea țesutului retinian vizat.

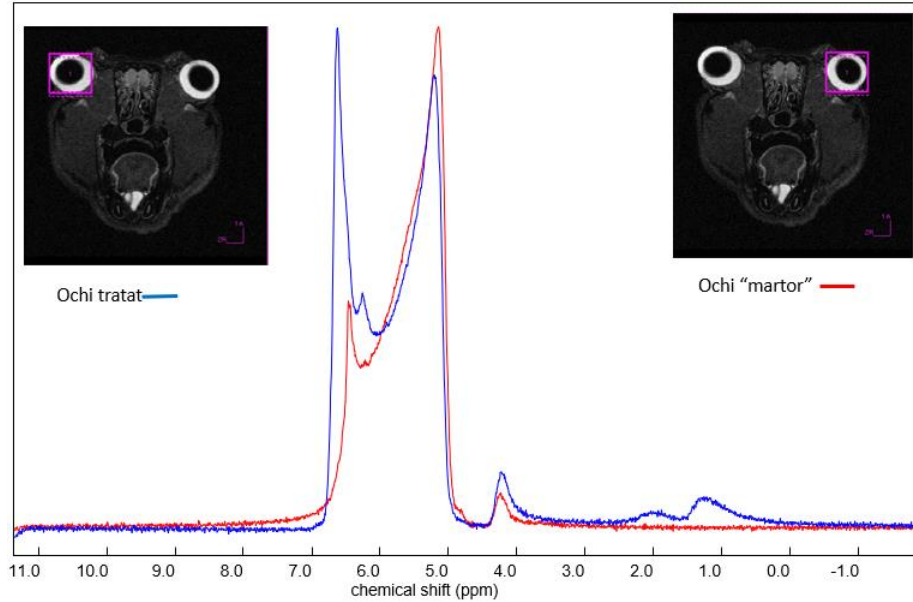


Figura 4.10. Spectre MRS pe ochiul tratat și netratat

In experimentele de imagistică RM preclinică necesitatea utilizării unor agenți de contrast nu este atât de mare comparativ cu investigațiile de diagnostic și cercetare în domeniul imagisticii RM clinică. Acest fapt se datorează utilizării, în studiile preclinice, a câmpurilor magnetice mult mai ridicate comparativ cu cele clinice. Din acest motiv apare necesitatea creării unui agent de contrast pentru studiile clinice, dar așa cum este normal în prima etapă cercetarea preclinică este obligatorie pentru un nou agent de contrast în imagistica RM.

Capitolul 5. Studiul unor agenți de contrast cu pământuri rare

5.1 Sinteza particulelor sferoide și metode de caracterizare structurală

Sinteza de materiale prin metoda Stober

În sinteza sistemelor pe baza de SiO_2 cu adaos de ioni paramagnetici (Gd și Dy) a fost utilizat pentru preparare metoda Stober modificată [25] [27], astfel s-au obținut patru probe după cum urmează:

- **P0:** 100% SiO_2
- **P1:** 99% SiO_2 1% Dy_2O_3
- **P2:** 99% SiO_2 1% Gd_2O_3
- **P3:** 99% SiO_2 0.9% Dy_2O_3 0.1% Gd_2O_3

Sistemul de SiO_2 (P0) a fost preparat prin amestecul unei soluții mixte de etanol (160ml) și apă distilată (100ml) la care s-a adăugat 1g de dodecilamină (DDA), iar după omogenizarea soluției au fost adăugați 10ml TEOS. Acest amestec s-a realizat la temperatura camerei. Soluția a fost agitată timp de 3 ore, apoi precipitatul obținut a fost separat de solvenți prin centrifugare. Produsul a fost spălat cu apă distilată și etanol de două ori și apoi centrifugat. Proba rezultată a fost uscată într-un incubator la 37 °C timp de 72 de ore și 24 ore la 60 °C pentru a îndepărta apa și solvenții.

În cazul sistemelor la care s-au adăugat ioni paramagnetici a fost introdus în protocolul de preparare o a treia soluție compusă din 10 ml H_2O și din azotați (0.314 g $\text{DyN}_3\text{O}_9 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ pentru proba P1, 0.229 g $[\text{Gd}(\text{NO}_3)_3] + 6\text{H}_2\text{O}$ pentru proba P2 și pentru proba P3 au fost 0.04 g $[\text{Gd}(\text{NO}_3)_3] + 6\text{H}_2\text{O}$, 0.311 g $\text{DyN}_3\text{O}_9 \cdot x\text{H}_2\text{O}$). Aceasta a fost adăugată simultan cu TEOS-ul în soluția mixta de etanol apă distilată și DDA, după care procesul a fost identic cu cel de la sinteza probei P0. În figura 5.4 este exemplificată schema de preparare pentru soluția de P3.

În cele din urmă, proba a fost calcinată la 600 °C timp de 1 oră într-un cuptor electric, în atmosferă de aer și răcită la temperatura camerei. Viteza de încălzire a cuptorului până la 600 °C a fost de 5 °C/min.

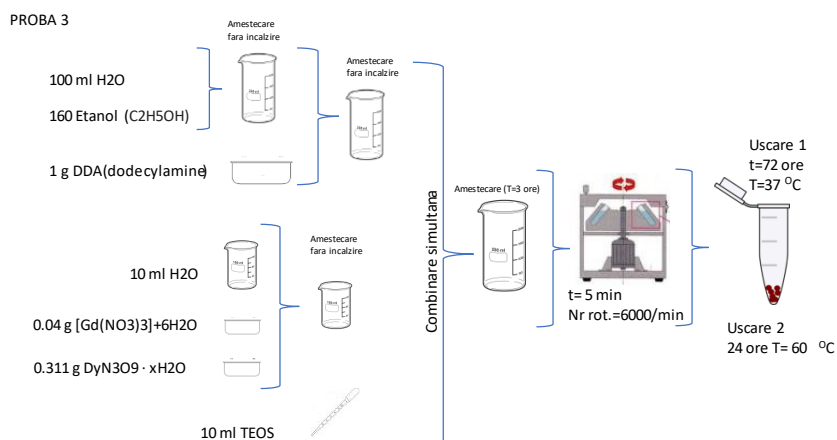


Figura 5.4. Schema de preparare a probei P3

Relaxometrie prin Imagistica de rezonanță magnetică



Figura 5.13. Scanner BrukerBioSpec 70/16USR [30].

Pentru procesarea informațiilor și obținerea timpilor de relaxare (T_1 și T_2) au fost utilizați software ParaVision 5.1 (Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Germania) și Parametric MRI (pMRI) [31] în care au fost selectate ROI și astfel obținute valorile acestora. Graficul în care este reprezentată rata de relaxare măsurată ($1/T_i$, unde $i=1, 2$) raportată la concentrația agentului de contrast, pentru a determina relaxivitatea prin calcularea pantei de regresiei liniare a fost realizat cu ajutorul software-ului Originlab [32].

5.2. Rezultate experimentale pe agenti de contrast cu pamânturi rare

Analiza termică diferențială

Pe baza termogramelor DTA/TGA ale probelor P0, P1, P2 și P3 a fost stabilită temperatura tratamentului termic pentru a obține stabilizarea structurală a probelor. Comportamentul termic al probelor preparate a fost investigat prin măsurători cu derivatograful DTG-60H Shimadzu.

Termogramele obținute sunt prezentate în Figura 2, iar atribuirile de evenimente corespunzătoare sunt prezentate în Tabelul 6.1.

Sample	Temperature range (° C)	Temperature Events (° C)		Weight loss (%)	Total weight loss (%)
		Endo	Exo		
P0	20-165	90	-	-13	-28.85%
	165-295	-	288	-10.5	
	295-500	-	376	-3.5	
	500-700	-	-	-1.85	
	700-1100	-	720	-	
P1	20-165	74	-	-9.8	-21.20%
	165-295	-	-	-6.8	
	295-500	-	-	-2.9	
	500-700	-	-	-1.7	
	700-1100	-	720	-	
P2	20-165	62	-	-18	-32.50%
	165-295	-	293	-10.5	
	295-500	-	-	-2.4	
	500-700	-	-	-1.6	
	700-1100	-	720	-	
P3	20-165	100	-	-8.5	-23.50%
	165-295	-	-	-10.4	
	295-500	-	-	-2.9	
	500-700	-	-	-1.7	
	700-1100	-	720	-	

Tabelul 6.1. Atribuirea evenimentelor din curbele DTA/TGA pentru probele studiate.

Din compararea curbelor DTA/TGA obținute pentru toate probele, se observă că proba P3 are în intervalul de temperatură 20-165 °C cea mai mică pierdere de masă și evenimentul endotermic cel mai mic datorat eliminării apei absorbite, iar eliminarea etanolului are loc la o temperatură mai mare în comparație cu probele P0, P1 și P2. (Fig. 6.2.)

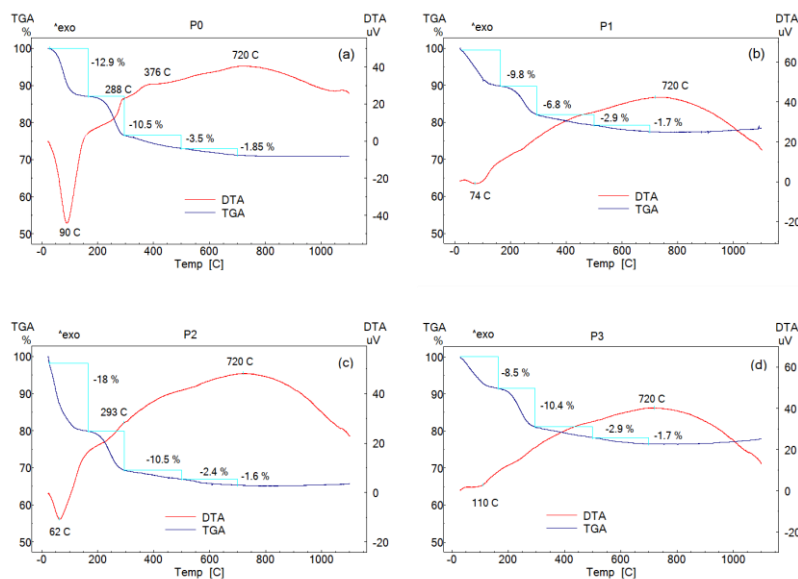


Figura 6.2. Curbele DTA/TGA ale probelor studiate.

Între 165-500 °C, curba DTA obținută pentru proba P0 (Fig. 6.2. P0.) conține două semnale exoterme cu maximul la 288 și 376 °C. Aceste evenimente și pierderea de masă corespunzătoare ~ 14 % pot fi atribuite descompunerii [33] [34] și reacției de ardere a reziduurilor organice care au rămas după procesul de sinteză [35][36]. Micul eveniment exotermic cu un maxim de 720 °C, care are loc fără o pierdere de masă, ar putea fi atribuit dihidroxilării și condensării silanolului din rețelele de silice [33], [36]. Acest semnal este prezent și în curbele DTA obținute pentru probele P1, P2 și P3. (Figura 6.2. P1, P2, P3) Încălzirea suplimentară până la 1100 °C nu a indicat prezența fenomenului de cristalizare în nicio probă investigată.

Pe baza rezultatelor analizei termice, probele au fost tratate termic la 600 °C timp de 1 oră pentru a îndepărta reziduurile organice și a obține stabilitatea stării amorfe a probelor.

Difracție de raze X

Difractogramele de raze X ale probelelor atât după sinteză, dar și după DTA și tratament termic indică natura amorfă a biomaterialului, atât a structurii de silice cât și a celor dopate cu Dy și Gd, proprietatea amorfă fiind confirmată de vârful larg de la 23° caracteristic particulele de silice [37].

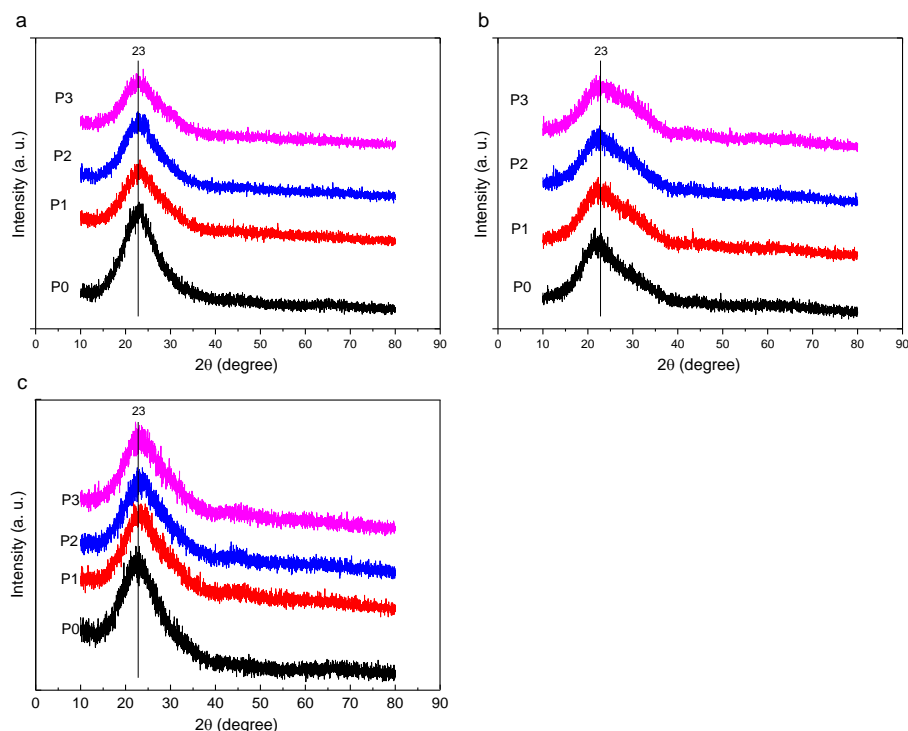


Figura 6.3. Difractogramele probelor preparate: (a) as-prepared, (b) DTA/TGA (1100°C), (c) tratamentul termic de la 600°C,

Spectroscopie de absorbție în IR

Rezultatul analizelor FT-IR obținute, în intervalul $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, pentru probele înainte de tratamentul termic este ilustrat în figura 6.4.a, iar cele după efectuarea calcinării sunt prezentate în figura 6.4.b.

Caracteristicile majore ale spectrelor FT-IR pentru toate probele sunt vârfurile la **1628**, **1092**, **974** și **459** cm^{-1} și sunt caracteristice modurilor de vibrație ale rețelei într-o matrice de SiO_2 [38]. Benzile de la **1224** și **1066** cm^{-1} sunt alocate modurilor de întindere asimetrică Si–O–Si [39]. Benzile de la **812** și **443** cm^{-1} sunt asociate cu întinderea/vibrația și îndoirea structurii rețelei Si–

O-Si [40][41]. Rezultatele au arătat că înălțimea vârfului corespunzător benzii de vibrația de întindere Si-O-Si ($\sim 1092\text{ cm}^{-1}$) a scăzut în intensitate în cazul probelor dopate cu Gd și Dy.

În cazul spectrelor FT-IR corespunzătoare probelor înainte de tratamentul termic se observă semnale specifice a modurilor de întindere simetrică a grupărilor CH_2 (2785 cm^{-1}), dar și cele de întindere simetrică prezentă la valori în infraroșu de 2850 cm^{-1} [42]. Aceste caracteristici specifice ale spectrelor probelor netratate termic nu mai se regăsesc în cele după tratament ceea ce susține puritatea matricii de silice atât în cazul probei standard, cât și a celor dopate cu ioni paramagnetici.

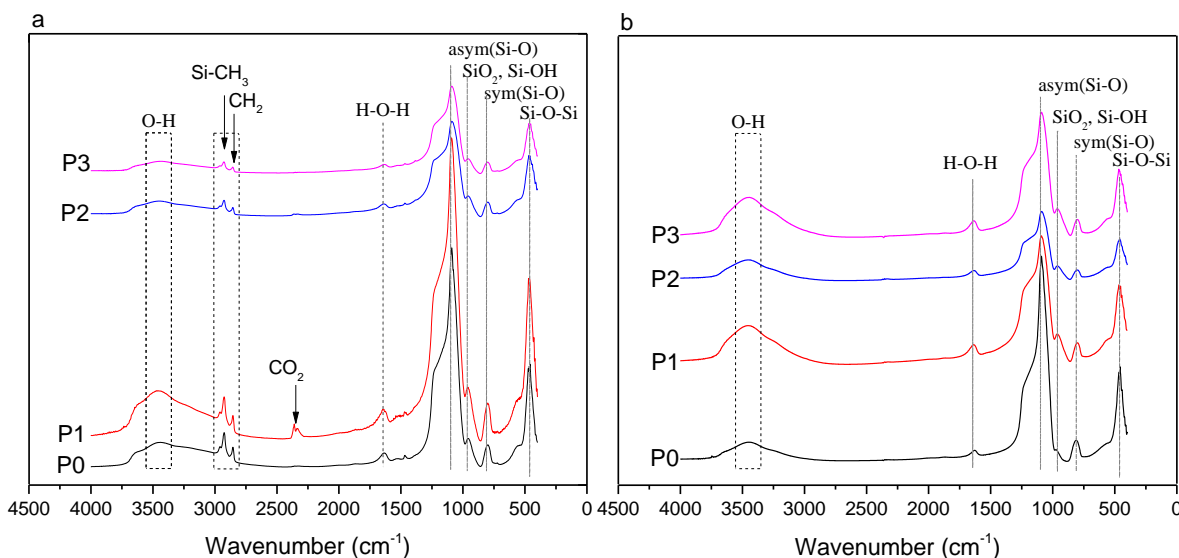


Figura 6.4 Spectrele FT-IR a probele (a) înainte de tratamentul termic și (b) după tratamentul termic la 600°C

Rezonanța paramagnetică electronică

Spectrele EPR ale probelor după preparare sunt ilustrate în figura 5 P1, P2, P3, iar cele de după efectuarea tratamentului termic sunt reprezentate în figura 5 P1-TT, P2-TT, P3-TT.

Spectrele probei dopate cu Dy^{3+} (Figura 5-P1 și P1-TT) nu prezintă indicii ale semnalului său EPR la temperatura camerei, în acord cu literatura [38], [43]. Semnalul EPR foarte slab prezent în spectrul obținut poate fi atribuit posibilelor impurități prezente în precursorii utilizați în sinteza probei.

Spectrele EPR în banda X obținute pentru probele care conțin doar gadoliniu (Figura 6.5 P2 și P2-TT) sunt caracterizate de patru linii relativ reduse cu valori ale factorului g efectiv de 6, 4,8; 2,8 și 2 și pot fi atribuite ionilor Gd^{3+} în locuri cu câmpuri cristaline puternice, intermediare și slabe. Forma spectrului EPR a ionului Gd^{3+} ($S = 7/2$) prezintă un anumit grad de complexitate și a fost denumit spectrul „U” [44] [45] datorită „omniprezenței” acestei forme spectrale în diferite materiale dezordonate [44] [45][46] [47]. Liniile slab rezolvate la $g_{eff} \approx 4,8$ și $2,8$ s-ar putea datora unei cristalizări slabe, în timp ce linia dominantă la $g_{eff} \approx 2$ apare din ionii Gd^{3+} care experimentează în principal interacțiuni dipolare [48][49][50]. În același timp, această linie foarte largă reflectă dezordinea locală din jurul acestor ioni paramagnetici., dar majoritatea sunt puternic cuplați formând clasteri.

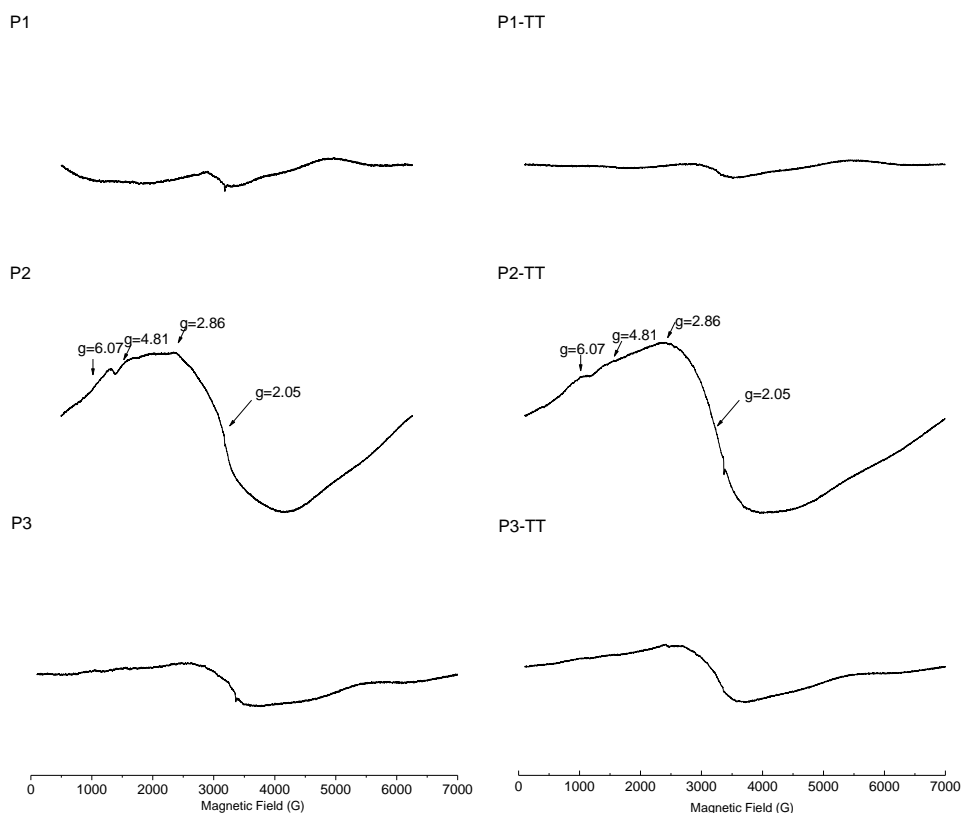


Figura 6.5. Spectrele EPR a probelor studiate; a-c- probele ne tratate termic iar d-f spectrele probelor tratate termic

Spectrul EPR pentru proba cu Gd-Dy (Figura 6.5 P3 și P3-TT) prezintă caracteristicile predominante ale ionilor paramagnetici Gd^{3+} , situați în poziții puternic distorsionați de prezența ionilor Dy^{3+} .

Rezonanță magnetică nucleară

Spectrele ^{29}Si MAS-RMN ale probelor tratate termic pot fi descompuse în două semnale la -100 și -110 ppm, care sunt atribuite unităților $\text{Si}(\text{Q}_3)$ și $\text{Si}(\text{Q}_4)$, iar în cazul probei P2 se identifică și unități $\text{Si}(\text{Q}_2)\text{Si}$ [51][52]. Liniile largi de rezonanță a spectrelor ^{29}Si MAS RMN sunt determinate de caracterul amorf al probelor [53]. Influența compoziției asupra structurii locale a probelor este evidențiată prin modificări ale deplasării chimice (ppm), ale lățimii liniilor la jumătatea maximului intensității FWHM (ppm) și a fracției Q_n (%) rezultate ce au fost obținute prin deconvoluția spectrelor.

Deconvoluția spectrelor experimentale au fost simulate prin funcții gaussiene în software-ul Dmfit [54] pentru a se obține distribuțiile grupurilor structurale ce au derivat din aria de sub fiecare componentă, iar rezultatele separării vârfurilor sunt redată în tabelul 5.2.

Conform rezultatelor simulării spectrelor experimentale ponderea unităților Q_4 și Q_3 în proba P0 este aproximativ de 50%, proporții ce se schimbă semnificativ în cazul probelor la care au fost adăugați ioni paramagnetici (o particularitate este prezenta de unităților $\text{Si}(\text{Q}_2)$). O posibilă explicație este că suprafața particulelor de silice devine mai hidrofobă, rezultatele fiind în concordanță cu datele din literatură [55].

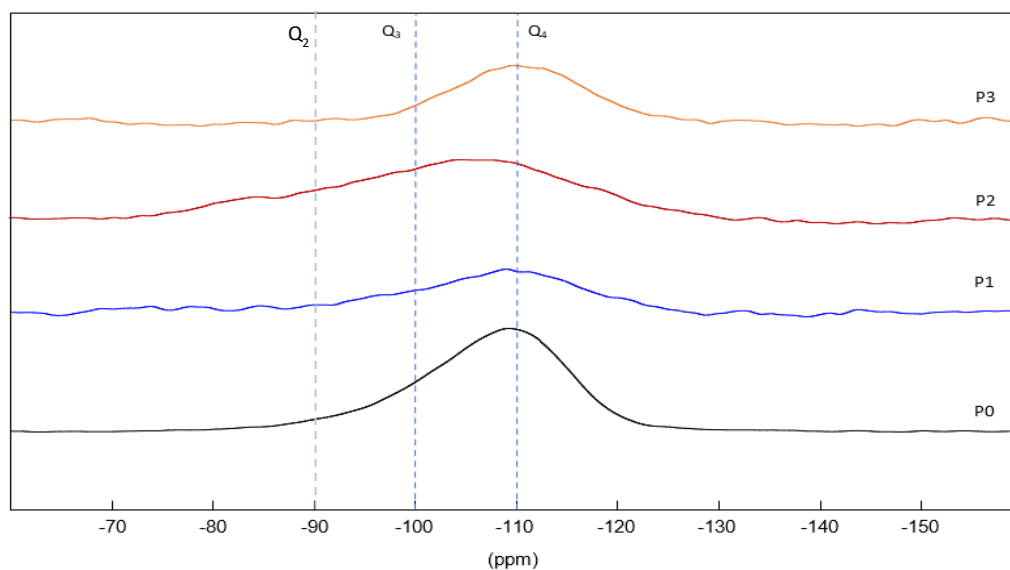


Figura 6.6 Spectrele ^{29}Si MAS NMR

Sample	Q ⁿ	δ (ppm)	FWHM (ppm)	Fq ⁿ (%)
P0	Q ³	-104.1	15.3	51.2
	Q ⁴	-111.1	10.4	48.8
P1	Q ³	-99.9	18.44	30.3
	Q ⁴	-110.4	14.1	69.7
	Q ²	-93.1	16.2	26.2
P2	Q ³	-104.4	13.9	49.5
	Q ⁴	-112.5	11.3	24.3
P3	Q ³	-106.4	10.8	43.6
	Q ⁴	-112.9	10.9	56.4

Tabelul 6.7 Parametrii RMN ai liniilor Q_n simulate din spectrele ²⁹Si MAS RMN ale probelor P0, P1, P2, P3.

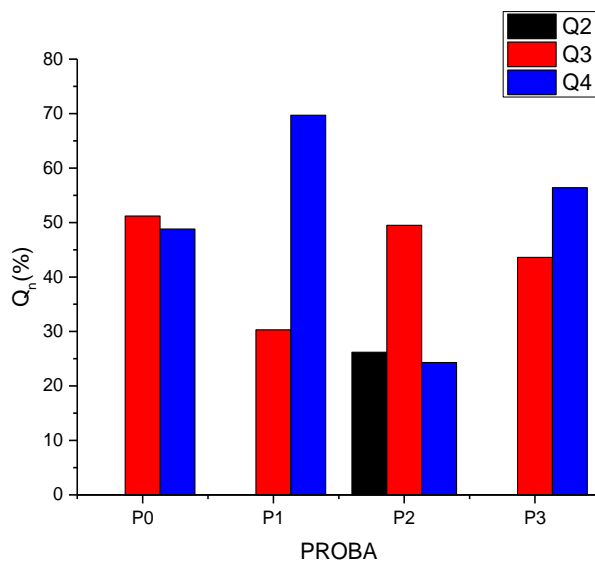


Fig.6.8. Dependența fracției Q_n (%) a probelor P0,P1,P2,P3.

Microscopie electronică de baleiaj

Analizele SEM pe probele tratate termic au fost împărțite în două etape, în prima etapă analizele au fost făcute pe probele pudră, iar în cea de a doua etapă probele au fost imersate în soluție de apă în recipiente de 0.5 mL, iar apoi introduse în baie cu ultrasunete pentru 30 de minute. După acest interval de timp din soluția au fost extrase cu ajutorul pipetei cate o picătură și așezată pe suportul standard de carbon utilizat în analizele SEM. Înainte de a fi introduse în camera de analiză a aparatului, probele au fost uscate la temperatura camerei. Scopul acestei a doua etape a fost de a crea o metodă de selecție a microsferelor de silice din punct de vedere al dimensiunii.

Imaginile obținute în prima etapă sunt prezentate în figura 6.9. Acestea arată gradul de aglomerare ridicat și variația ridicată în dimensiune a acestor sferoide de silice dopate cu ioni paramagnetici.

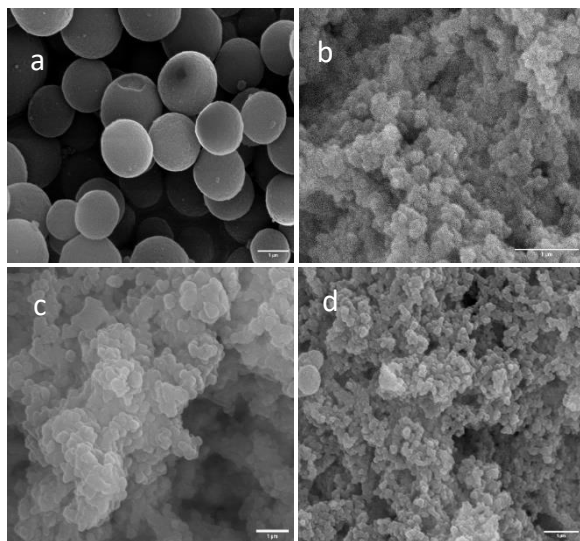


Figura 6.9. Imagini SEM ale probelor aflate sub formă de pulbere.(a- proba P0, b- proba P1, c- proba P2, d-proba P3

Figura 6.10 prezintă imaginile obținute prin SEM în cazul probelor sintetizate prin metoda Stober modificată, în cazul probei P0 sunt în formă sferică și dimensiunea lor variază în intervalul de la 1 μm la 2 μm . În cazul probelor în care s-au adăugat și ioni paramagnetici (P1,P2,P3) se identifică particulele sferice aglomerate distribuite neuniform de dimensiuni mult mai mici comparativ cu probele P0.

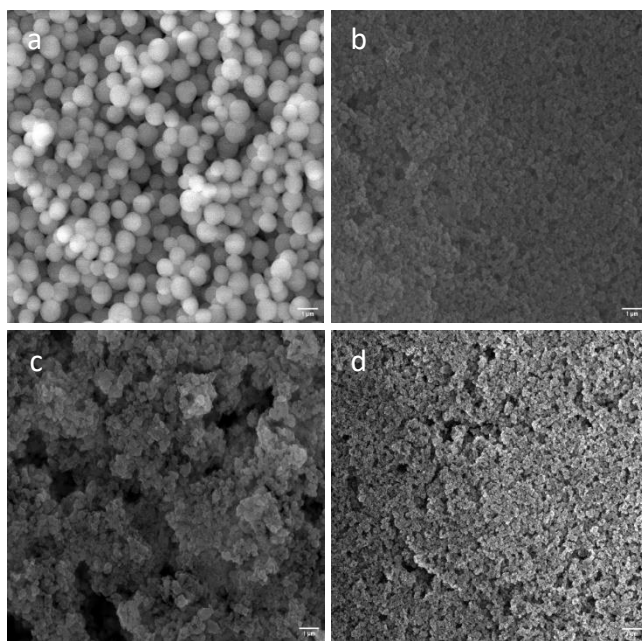


Figura 6.10. Imagini SEM a probelor extrase din soluția de apă după baie de ultrasunete. (a- proba P0, b- proba P1, c- proba P2, d- proba P3)

Microscopia electronică de transmisie

Analizele de microscopie în transmisie au fost realizate pe proba P3 sub formă de pulbere (sferoidele de SiO₂ dopate cu ioni de Dy și Gd), atât pe proba înainte de tratamentul termic, cât și după calcinare.

Morfologia sferoidelor P3 înainte de tratament termic este ilustrată în figura 6.11.a. Utilizând tehnica Selected Area Electron Diffraction (SAED) a permis evaluarea probei din punct de vedere al structurii amorfe proprietate dovedită de absența punctelor și inelelor luminoase generate prin difracția de electroni, fenomen ce ar fi creat de interacțiunea fasciculului cu atomii probei cristaline. Această analiză este în concordanță cu rezultatele obținute prin analizele DRX.

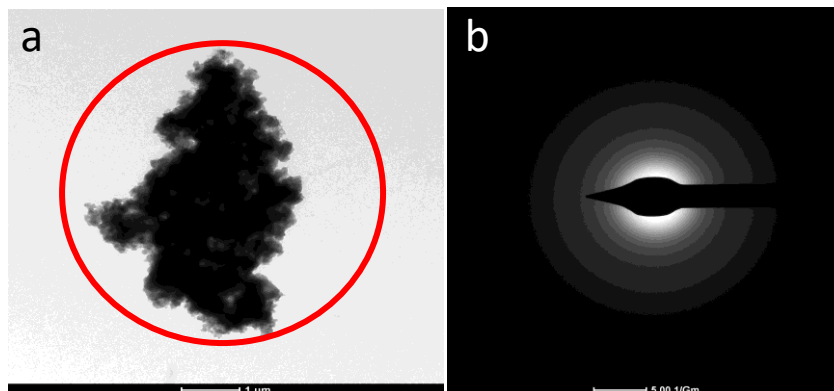


Figura 6.11.a. Imagine TEM a probei P3 înainte de tratament termic.

b. SAED: difracția electronilor în zona selectată.

Pentru confirmarea formării structurii silicatică cu ioni de Dy și Gd a fost efectuată analiză EDX. În timpul măsurării EDX au fost focalizate diferite zone (Figura 6.12-proba P3 netratată termic). În figura 6.12 este ilustrat spectrul EDX al probei P3, înainte de calcinare, din care se poate observa prezența atât a atomilor de Dy, cât și a celor de Gd. Detaliile spectrului EDX a probei P3 măsurate în procent atomic și de masă se regăsește în tabelul 6.13.

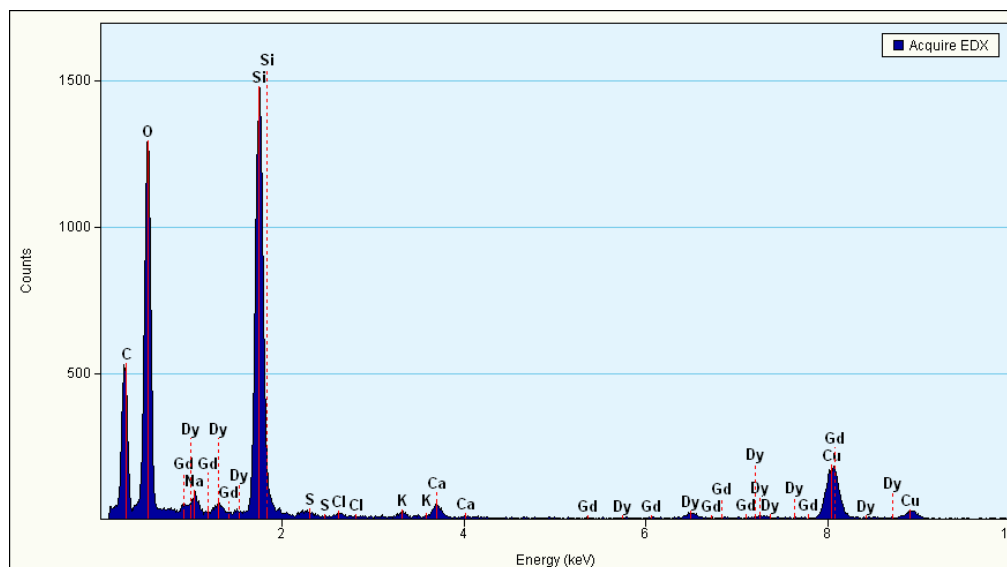


Figura 6.12. Spectrul EDX al probei P3 înainte de tratamentul termic

EDX					
Element	Weight %	Atomic %	Uncert. %	Correction	k-Factor
O(K)	57.11	71.07	0.44	0.51	1.889
Si(K)	40.37	28.61	0.27	0.92	1
Gd(L)	0.09	0.002	0.04	0.99	3.483
Dy(L)	2.49	0.3	0.09	0.99	3.507

Tabelul 6.13 Detaliile spectrului EDX al probei P3 înainte de tratamentul termic

Tehnica TEM a fost utilizată și în cazul probei P3 (proba sub forma de pudră) după ce a fost aplicat tratamentul termic (Figura 6.14), iar rezultatele EDX din două zone diferite a pulberii sunt prezentate în tabelul 6.15 și respectiv tabelul 6.16.

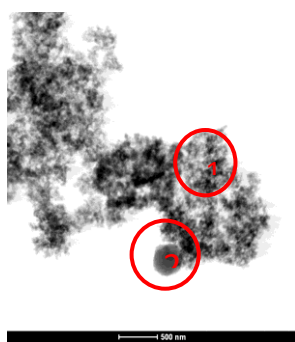


Figura 6.14. Imaginile TEM a probei P3 după tratamentul termic

EDX1					
Element	Weight %	Atomic %	Uncert. %	Correction	k-Factor
O(K)	56.25	72.18	0.38	0.51	1.889
Si(K)	36.86	26.94	0.22	0.92	1
Gd(L)	0.97	0.12	0.04	0.99	3.483
Dy(L)	5.89	0.74	0.12	0.99	3.507

Tabelul 6.15 Detaliile spectrului EDX a probei P3 după tratamentul termic

EDX2					
Element	Weight %	Atomic %	Uncert. %	Correction	k-Factor
O(K)	56.35	70.25	0.43	0.51	1.889
Si(K)	41.51	29.48	0.26	0.92	1
Gd(L)	0.69	0.08	0.04	0.99	3.483
Dy(L)	1.43	0.17	0.07	0.99	3.507

Tabelul 6.16. Detaliile spectrului EDX a probei P3 după tratamentul termic

Cartografierea elementară folosind tehnica HAADF-STEM-EDX a evidențiat distribuția ionilor Dy și Gd în matricea de silice. Imaginea corespunzătoare a microscopiei (HAADF-STEM) este prezentată în Figura 12(a). Analiza de cartografiere HAADF-STEM-EDX folosind energiile Si, Dy și Gd prezentate în Fig. 7b–d descriu distribuția elementară uniformă a Dy și Gd în rețele de silice.

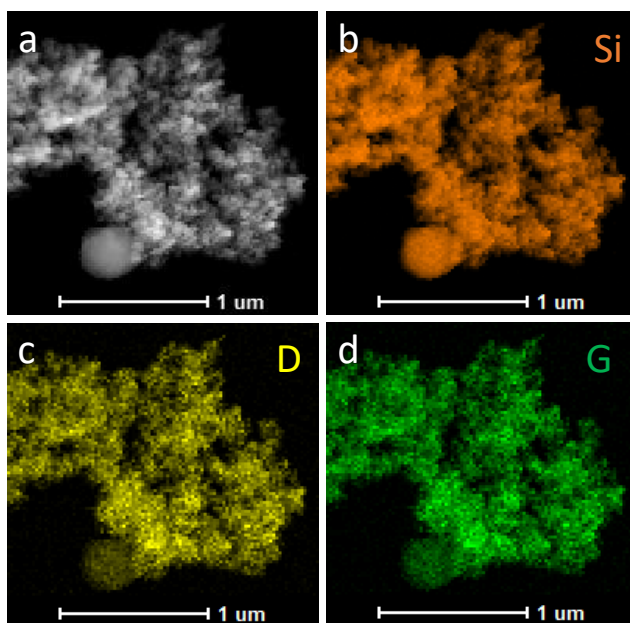


Figura 6.17. (a) Harta HAADF-STEM-EDX a unei zone selectate din imagine. (b) Harta HAADF-STEM-EDX Si. (c) Harta HAADF-STEM-EDX Dy. (d) Harta HAADF-STEM-EDX Gd

Rezultatele TEM, atât imagini morfologice, cât și spectrale și analizele elementelor au arătat caracterul amorf al pulberii de silice dopate cu Dy și Gd, dar și integrarea acestor ioni paramagnetici în rețeaua de SiO₂.

Determinarea distribuției dimensionale și a potențialului electric

Dimensiunea particulelor influențează proprietățile biomaterialelor ce sunt sub formă de particule și este un indicator valoros al calității și performanței acestora în îndeplinirea scopului de agent de contrast. Mărimea și forma pulberilor influențează proprietățile de curgere și compactare. Particulele mai mari, mai sferice, vor curge de obicei mai ușor decât particulele mai mici. Particulele mai mici se dizolvă mai repede și duc la vâscozități mai mari ale suspensiei decât particulele mai mari. Dimensiunile mai mici ale particulelor și sarcina de suprafață mai mare (potențial zeta) vor îmbunătăți de obicei stabilitatea suspensiei și emulsiei [56].

Potențialul Zeta este o măsură a mărimii respingerii sau atracției electrostatice a particulelor imersate dintr-o suspensie lichidă. Este unul dintre parametrii fundamentali despre care se știe că afectează stabilitatea dispersiei. Măsurătoarea potențialului Zeta oferă o perspectivă detaliată asupra cauzelor dispersiei, agregării sau flokulării și poate fi aplicată pentru a îmbunătăți formularea dispersiilor, emulsiilor și suspensiilor [57].

Potențialul Zeta este unul dintre factorii care mediază interacțiunile dintre particulele în suspensie. Particulele cu un potențial Zeta ridicat (de sarcină pozitivă sau negativă), se resping reciproc (< 30 mV și >+30 mV sunt considerate valori de potențial Zeta înalte). Pentru particulele care sunt suficient de mici și a căror densitate este suficient de mică pentru a rămâne în suspensie, un potențial Zeta ridicat conferă stabilitate, adică particulele în suspensie rezistă agregării [58].

În cadrul acestui experiment au fost utilizate suspensiile de probă obținute prin imersia acestora în soluție de apă în baia cu ultrasunete pentru 30 minute.

În cadrul experimentelor pentru determinarea potențialului Zeta au fost utilizate probele P0 și P3. Rezultatele pentru ambele probe au arătat că valorile potențialului sunt mari (-39mV în cazul probei P0 și -33 mV în cazul probei P3), adică formează suspensii stabile și particulele nu se

aglomerează în condițiile experimentului, aceste rezultate sunt ilustrate în figura 6.19 în care se pot identifica cele trei măsurători la interval de timp de 5 min pentru fiecare probă.

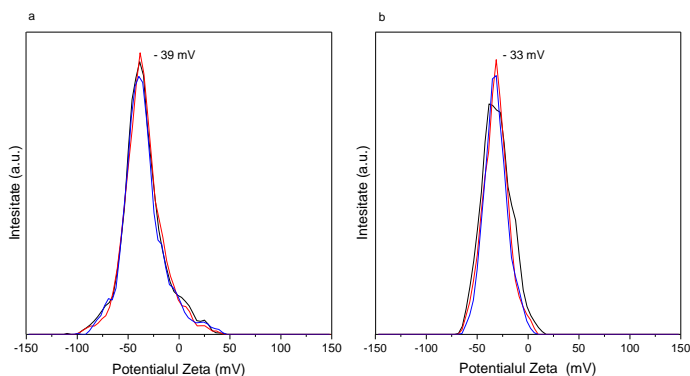


Figura 6.19. Potențialul Zeta în cazul probelor P0 (a) și al P3 (b)

Stabilitatea microsferelor de silice este analizată prin măsurarea împrăștierii dinamice a luminii (DLS). Stabilitatea coloidală a silicei mezoporoase este discutată sporadic în literatură; în orice caz, diametrul hidrodinamic poate afecta relaxometria propriu-zisă, legăturile agenților de contrast paramagnetic și trebuie raportate în mod adecvat și sistematic [59].

Diametrul hidrodinamic mediu este prezentat în figura 6.20. Analizele efectuate pe toate probele, la intervale de timp de 5 minute, au demonstrat stabilitate în suspensie mai mare a microsferoidele de silice dopate cu ioni paramagnetici.

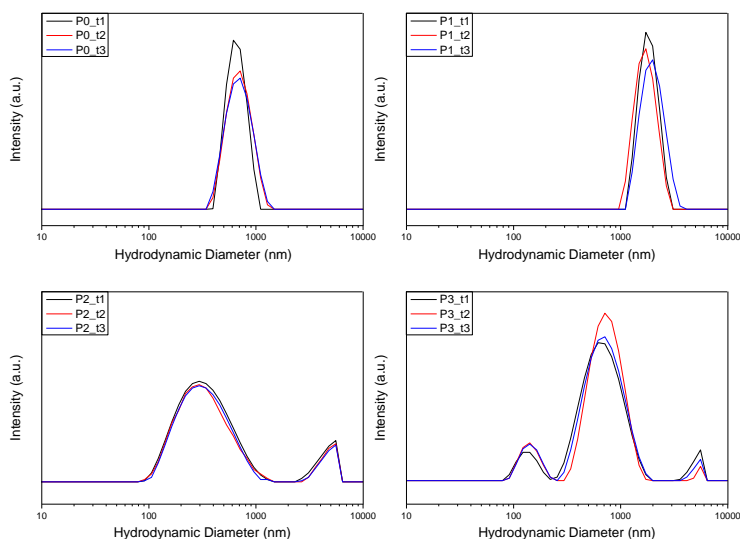


Figura 6.20. Diametru hidrodinamic al probelor rezultat din măsurătorile DLS

Relaxometrie prin imagistică de rezonanță magnetică (R-IRM)

În cazul investigației RMN-relaxivitate, a fost necesară introducerea unui nou ID pentru probe pentru a evidenția concentrația soluției (Tabelul 2).

Figura 6.21, prezintă imaginile IRM ponderate T_1 sau T_2 , în funcție de proba analizată. Caracterul de agent de contrast negativ al probei P1 este susținut de imaginea ponderată T_2 în care se observă scăderea intensității semnalului IRM prin scăderea timpului de relaxare transversală, cât și corelația dintre „înnegrirea” imaginii și concentrația probei. Efectul invers (de luminare a imaginii) este observat în imaginile IRM ponderate T_1 obținute pe probele P2. În cazul probelor P3 efectul agentului de contrast este mult mai vizibil în cazul imaginilor ponderate T_2 este datorat concentrației semnificativ mai mare ioni de Dy.

Relaxivitatea r_1 (longitudinal water proton relaxivity) și r_2 (transverse water proton relaxivity) este definită ca panta regresiei liniare generată din graficul ratei de relaxare măsurată ($1/T_i$, unde $i=1, 2$) față de concentrația AC.[60].

Figura 6.22 prezintă graficele valorii inverse a timpilor de relaxare, în funcție de concentrația soluțiilor în g/ml.

Valorile r_1 și r_2 pentru probele analizate se regăsesc în tabelul 3. Pentru proba P1 prezintă o valoare ridicată r_2 ce se datorează ionilor de Dy care sunt paramagnetici astfel se pune în evidență caracterul agentului de contrast negativ [61]. Proba P2 are o valoare r_1 ridicată ce susține caracterul acestuia de agent de contrast pozitiv [62]. În cazul probei P3 valorile mari r_1 și r_2 (tabelul 3) prezintă îmbunătățiri clare a contrastului dependent de concentrație arătând potențialul de acțiune ca agent de contrast IRM în mod dual pentru T_1 și T_2 [19].

Raportul general de relaxivitate r_2/r_1 caracterizează agentul de contrast astfel că un raport cu $r_2/r_1 < 10$ este un agent pozitiv [63]. Caracterul de agent de contrast este susținut și de valorile acestui raport (r_2/r_1) atât pentru proba P1, cât și pentru proba P2, iar în cazul probei P3 are un raport intermediar r_2/r_1 și cu valori semnificative ridicate ale r_1 și r_2 ce îl face ca să fie potrivit cu agent de contrast dual IRM, aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele anterioare [19][61][64][65][66].

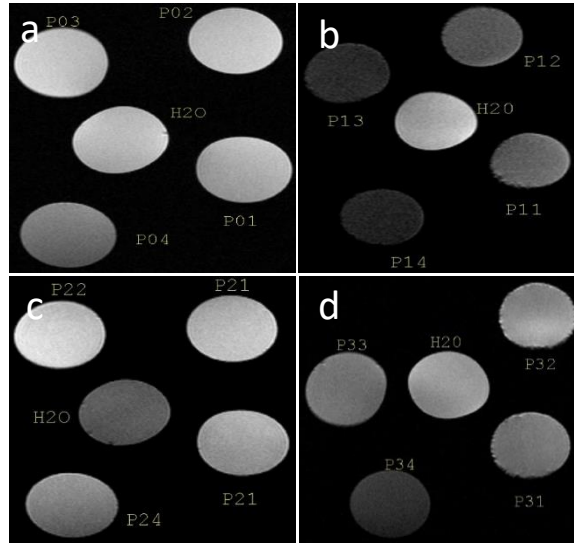


Figura 6.21. Imagini de rezonanță magnetică ponderate T1 și T2 ale soluției de referință de H2O și eșantionului de suspensie P0,P1,P2,P3 cu concentrație de 0,0015; 0,0035; 0,0055 0,0075 g/ml

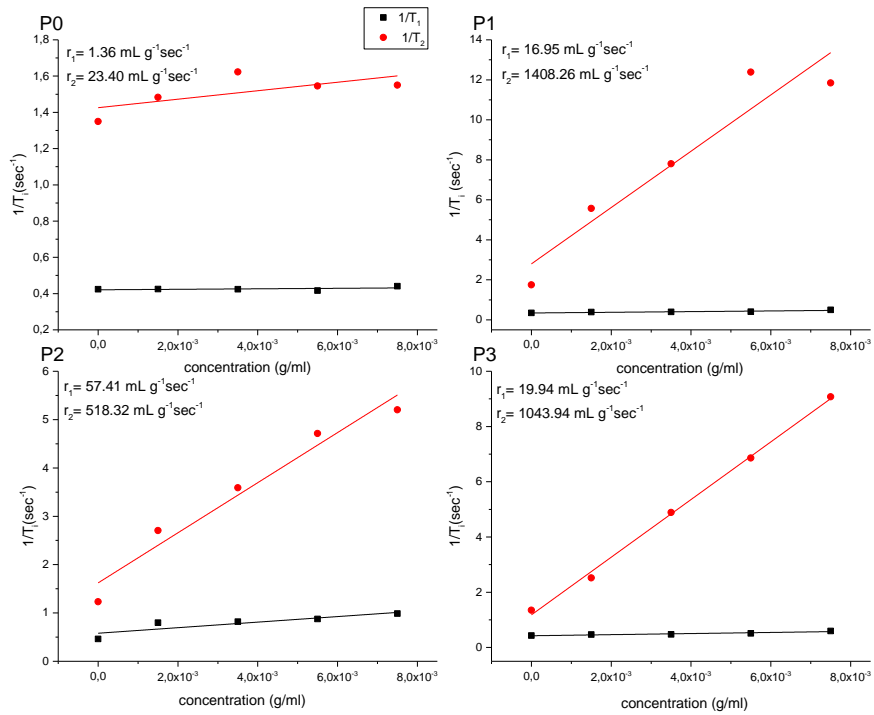


Figura 6.22. Graficele $1/T_1$ și $1/T_2$ ale suspensiilor de probe apoase în funcție de concentrațiile ionilor paramagnetici (g/ml). Pantele prezentate în fiecare diagramă corespund relaxivităților r_1 și r_2 .

PROBA	r1	r2	r2/r1
P0	1.36	23.4	17.21
P1	16.95	1408.26	83.08
P2	57.41	518.32	9.03
P3	19.94	1043.94	52.35

Tabel 3. valorile r1 și r2 ale probelor și raportul ratei de relaxare r2/r1

Capitolul 6. Concluzii

Studiile preclinice atât in vivo cât și cele ex vivo au arăta versatilitatea utilizării imagisticii RM în diferite proiecte de cercetare. Informațiile obținute cu ajutorul acestei tehnici neinvazive și nedestructive au adus un plus de valoare la aceste cercetări. Informațiile obținute prin utilizarea acestei tehnici a permis evidențierea diferitelor stadii de dezvoltare a sistemului nervos uman dar și utilizarea acesteia pentru diagnosticarea post-mortem a malformatiilor congenitale embrionare fiind o alternativă la autopsia clasică. Observarea efectelor intermediare după implantare s-a dovedit a fi foarte importantă astfel ca s-a decis continuarea lor în domeniul clinic. Cercetarile in vivo preclinice au arătat că utilizarea tehnicii RM este necesară indiferent dacă se studiază patologii sau farmacocinetica unor medicamente pe model animal.

Biomateriale pe baza de SiO_2 cu adăus de ioni paramagnetici (Dy, Gd și Dy-Gd) au fost sintetizate utilizând metoda Stöber modificată, pentru a obține materiale cu potențial de agent de contrast în imagistica prin rezonanță magnetică.

Analizele de caracterizare structurală au arătat o structură amorfă prin rezultatele de XRD și STEM proprietate ce duce la o probabilă biocompatibilitate ridicată a probelor. Stabilitatea termică foarte bună evidențiată prin analizele DTA, proprietate fizică importantă pentru aplicabilitatea finală a acestor probe. Forma sferoidă a acestora a fost ilustrată de analizele SEM, iar integrarea ionilor paramagnetici în structura silicatică a fost demonstrată de spectroscopiile ^{29}Si MAS NMR, EPR, FTIR și de analizelor TEM care au pus în evidență distribuția relativ uniformă a ionilor paramagnetici în matricea de silice.

Potențialul electric al acestora a demonstrat capacitatea acestor probelor de a nu se aglomera și stabilitate în suspensie a micro-sferoidele au demonstrat capacitatea acestora de a rămâne în suspensie, proprietate necesară pentru un agent de contrast utilizat în imagistica RM.

Examinările de MR ale probelor au prezentat o rată ridicată de relaxivitate pentru proba P1 făcând-o potrivită ca agent de contrast MR T2. În cazul probei P2, aceasta s-a dovedit a fi un agent de contrast eficient pentru T1, iar în cazul probelor P3 rezultatele au arătat că este potrivit pentru contrast în imaginile ponderate T1 și T2, ceea ce demonstrează caracterul de agent de contrast dual. Proprietățile de relaxometrie ale acestor probe sunt susținute și de valoarea raportului

r_2/r_1 pentru toate cele trei probe, valori care le califică a fi utilizate ca agenți de contrast. Rezultatele confirmă sustenabilitatea aplicațiilor ca agent de contrast IRM atât în imagistica ponderată T1, cât și a cea ponderată T2 pentru toate cele trei sisteme sintetizate.

Toate aceste rezultate conduc la noi perspective de cercetare pe aceste probe, fiind necesare analize de biocompatibilitate prin imersie în SBF și analiza stabilității ionilor paramagnetici în matricea de silice iar ulterior realizarea unui protocol pentru investigații în vivo preclinice.

Bibliografie

- [1] X. Y. Zheng, J. Pellico, A. A. Khrapitchev, N. R. Sibson, and J. J. Davis, “Dy-DOTA integrated mesoporous silica nanoparticles as promising ultrahigh field magnetic resonance imaging contrast agents,” *Nanoscale*, vol. 10, no. 45, pp. 21041–21045, 2018, doi: 10.1039/c8nr07198e.
- [2] Boitor-Borza, D; Crivii, Carmen; **Farcasanu, S**; Stamatian, F; "Morphology of the human brain in the embryonic period: anatomical study and assessment by 7T magnetic resonance imaging" *Obstetrica și Ginecologia*,63,,47-52,2015,.
- [3] D. Boitor-Borza, F. Turcu, **S. Farcasanu**, and C. Crivii, “Early development of human ganglionic eminences assessed in vitro by using 7.04 Tesla micro-MRI – a pilot study,” *Med. Pharm. Reports*, vol. 94, no. 1, pp. 35–42, 2021, doi: 10.15386/mpr-1715.
- [4] D. Vulturar, **A. Farcașanu**, F. Turcu, D. Boitor, and C. Crivii, “The volume of the cerebellum in the second semester of gestation,” *Clujul Med.*, vol. 91, no. 2, pp. 176–180, 2018, doi: 10.15386/cjmed-922.
- [5] A. Staicu, **A. S. Farcasanu**, G. Caracostea, R. V. F. Turcu, S. Simon, and F. Stamatian, “Contribution of post-mortem MRI to the evaluation of subtle renal anomalies in a first trimester foetus with Down syndrome,” *J. Obstet. Gynaecol. (Lahore)*, vol. 36, no. 3, pp. 359–360, 2016, doi: 10.3109/01443615.2015.1065232.
- [6] Popescu, Radu A; Tăbăran, Flaviu A; Bogdan, Sidonia; **Fărcășanu, Alexandru**; Purdoiu, Robert; Magyari, Klara; Vulpoi, Adriana; Dreancă, Alexandra; Sevastre, Bogdan; Simon, Simion; “Bone regeneration response in an experimental long bone defect orthotopically implanted with alginate-pullulan-glass-ceramic composite scaffolds,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 108, no. 3, pp. 1129–1140, 2020, doi: 10.1002/jbm.b.34464..
- [7] Cocan, Daniel; Mireșan, Vioara; Popescu, Florentina; Constantinescu, Radu; Coroian, Aurelia; Lațiu, Călin; Flaviu Turcu, Romulus Valeriu; **Fărcășanu, Alexandru Ștefan**; Martonos, Cristian, “MRI investigations on venomous glands of brown bullhead, *ameiurus nebulosus* (Lesueur, 1819) (Actinopterygii: Ictaluridae),” *Pak. J. Zool.*, vol. 52, no. 4, pp. 1347–1354, 2020, doi: 10.17582/journal.pjz/20180717090711
- [8] Antonela M. Berar, Dan Preda, Simona Iacob, Corina V. Moraru, **Alexandru Farcasanu**, Flaviu R. V. Turcu, Simion Simon, Smaranda Buduru “ Assessment of periapical lesions by 7T magnetic resonance imaging and micro-CT - experimental study" *Human and Veterinary Medicine*; Cluj-Napoca Vol. 14, Iss. 1, (Mar 2022): 10-15
- [9] **Alexandru Ștefan Fărcășanu**, Lăcrămioara Samoilă, Ovidiu Samoilă, Oliviu Voștinaru, Elena Dinte, Simion Simon, Ede Bodoki, “Assessment of the ocular biodistribution profile of topically administered lutein by magnetic resonance spectroscopy,” , Comunicare orală la 12th International Symposium of Drug Analysis 32nd International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Belgia ,vol. 46, no. 9, p. 2021, 2022.
- [10] T. H. Shin *et al.*, “T 1 and T 2 dual-mode MRI contrast agent for enhancing accuracy by

- engineered nanomaterials,” *ACS Nano*, vol. 8, no. 4, pp. 3393–3401, 2014, doi: 10.1021/nn405977t.
- [11] S. Marasini *et al.*, “A Novel Paramagnetic Nanoparticle T2 Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent With High Colloidal Stability: Polyacrylic Acid-Coated Ultrafine Dysprosium Oxide Nanoparticles,” *Bull. Korean Chem. Soc.*, vol. 41, no. 8, pp. 829–836, 2020, doi: 10.1002/bkcs.12074.
- [12] F. Wang, E. Peng, B. Zheng, S. F. Y. Li, and J. M. Xue, “Synthesis of Water-Dispersible Gd₂O₃/GO Nanocomposites with Enhanced MRI T1 Relaxivity,” *J. Phys. Chem. C*, vol. 119, no. 41, pp. 23735–23742, 2015, doi: 10.1021/acs.jpcc.5b06037.
- [13] G. Liu, N. M. K. Tse, M. R. Hill, D. F. Kennedy, and C. J. Drummond, “Disordered mesoporous gadolinosilicate nanoparticles prepared using gadolinium based ionic liquid emulsions: Potential as magnetic resonance imaging contrast agents,” *Aust. J. Chem.*, vol. 64, no. 5, pp. 617–624, 2011, doi: 10.1071/CH11064.
- [14] F. X. Wan, T. K. Zhang, Y. Li, C. C. Li, and L. Jiang, “Synthesis and study on magnetic resonance imaging performance of Gd(III)-DTPA-bisbenzothiazol hydrazide,” *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 61, no. 2, pp. 2861–2863, 2016, doi: 10.4067/S0717-97072016000200003.
- [15] I. Bertini, C. Luchinat, G. Parigi, and E. Ravera, *Relaxometry and contrast agents for MRI*. 2017.
- [16] J. S. Choi, J. H. Lee, T. H. Shin, H. T. Song, E. Y. Kim, and J. Cheon, “Self-confirming ‘aND’ logic nanoparticles for fault-free MRI,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132, no. 32, pp. 11015–11017, 2010, doi: 10.1021/ja104503g.
- [17] J. Fang *et al.*, “Manipulating the surface coating of ultra-small Gd₂O₃ nanoparticles for improved T1-weighted MR imaging,” *Biomaterials*, vol. 35, no. 5, pp. 1636–1642, 2014, doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.032.
- [18] S. Wan *et al.*, “Dysprosium-Modified Gold Nanoparticles as T2exContrast Agents for Magnetic Resonance Imaging,” *ACS Appl. Nano Mater.*, vol. 3, no. 9, pp. 9433–9439, 2020, doi: 10.1021/acsanm.0c02044.
- [19] T. Tegafaw *et al.*, “Dual-mode T1 and T2 magnetic resonance imaging contrast agent based on ultrasmall mixed gadolinium-dysprosium oxide nanoparticles: Synthesis, characterization, and in vivo application,” *Nanotechnology*, vol. 26, no. 36, 2015, doi: 10.1088/0957-4484/26/36/365102.
- [20] M. Borges *et al.*, “Dual T1/T2 MRI contrast agent based on hybrid SPION@coordination polymer nanoparticles,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 105, pp. 86779–86783, 2015, doi: 10.1039/c5ra17661a.
- [21] J. Wang *et al.*, “An Ultrahigh-Field-Tailored T1–T2 Dual-Mode MRI Contrast Agent for High-Performance Vascular Imaging,” *Adv. Mater.*, vol. 33, no. 2, pp. 1–8, 2021, doi: 10.1002/adma.202004917.
- [22] Y. Mehmood *et al.*, “Facile synthesis of mesoporous silica nanoparticles using modified

- sol-gel method: Optimization and in vitro cytotoxicity studies,” *Pak. J. Pharm. Sci.*, vol. 32, no. 4, pp. 1805–1812, 2019.
- [23] M. Vallet-Regi, A. Rámila, R. P. Del Real, and J. Pérez-Pariente, “A new property of MCM-41: Drug delivery system,” *Chem. Mater.*, vol. 13, no. 2, pp. 308–311, 2001, doi: 10.1021/cm0011559.
- [24] P. P. Ghimire and M. Jaroniec, “Renaissance of Stöber method for synthesis of colloidal particles: New developments and opportunities,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 584, no. xxxx, pp. 838–865, 2021, doi: 10.1016/j.jcis.2020.10.014.
- [25] W. Stober, A. Fink, and A. E. Bohn, “Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range 1,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 26, pp. 62–69, 1968.
- [26] O. C. Drăgan, A. Ş. Fărcăşanu, R. S. Câmpian, and R. V. F. Turcu, “Human tooth and root canal morphology reconstruction using magnetic resonance imaging,” *Clujul Med.*, vol. 89, no. 1, pp. 137–142, 2016, doi: 10.15386/cjmed-555.
- [27] M. Todea, M. Muresan-Pop, V. Simon, A. Vulpoi, and S. Simon, “Synthesis and characterization of composite SiO₂–Al₂O₃–Fe₂O₃ core–shell microspheres,” *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 96, no. 2, pp. 395–404, 2020, doi: 10.1007/s10971-020-05346-4.
- [28] S. Ebnesajjad, *Surface and material characterization techniques*. Elsevier Inc., 2011.
- [29] “Simultaneous Thermogravimetry/ Differential Thermal Analyzer.” <https://www.ssi.shimadzu.com/products/thermal-analysis/simultaneous-thermal-analysis/dtg-60-series/index.html> (accessed Jun. 22, 2022).
- [30] “MRI.jpg (2000×1125).” <http://phys.ubbcluj.ro/laboratoare/cnrm/imagini/MRI.jpg> (accessed Jun. 22, 2022).
- [31] “pMRI - Parametric MRI | Medical Imaging Software | Philadelphia.” <https://www.parametricmri.com/> (accessed Mar. 16, 2022).
- [32] “OriginLab - Origin and OriginPro - Data Analysis and Graphing Software.” <https://www.originlab.com/> (accessed Mar. 16, 2022).
- [33] S. Yousatit, T. Jittapasata, N. Leelaphattharaphan, S. Nuntang, and C. Ngamcharussrivichai, “One-pot synthesis of wormhole-like mesostructured silica with a high amine loading for enhanced adsorption of clofibric acid,” *J. Porous Mater.*, vol. 25, no. 6, pp. 1611–1623, 2018, doi: 10.1007/s10934-018-0575-6.
- [34] M. Todea a , V. Simon , M. Muresan-Pop , A. Vulpoi , M.M. Rusu , A. Simion d , M. Vasilescu, G. Damian c , D.M. Petrisor , S. Simon “Silica-based microspheres with aluminum-iron oxide shell for diagnosis and cancer treatment,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1246, p. 131149, 2021, doi: 10.1016/j.molstruc.2021.131149.
- [35] J. Yu, L. Zhao, and B. Cheng, “Preparation of monodispersed microporous SiO₂ microspheres with high specific surface area using dodecylamine as a hydrolysis catalyst,” *J. Solid State Chem.*, vol. 179, no. 1, pp. 226–232, 2006, doi: 10.1016/j.jssc.2005.10.036.
- [36] H. Zhao, Y. Xin, H. Wang, Z. Zhang, and S. Liu, “A Comparison of the Formation of SiO

- 2 Particles Under the Catalysis of Dodecylamine and Ammonia Solutions,” *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, vol. 21, no. 4, pp. 925–928, 2011, doi: 10.1007/s10904-011-9541-3.
- [37] R. S. Dubey, Y. B. R. D. Rajesh, and M. A. More, “Synthesis and Characterization of SiO₂ Nanoparticles via Sol-gel Method for Industrial Applications,” *Mater. Today Proc.*, vol. 2, no. 4–5, pp. 3575–3579, 2015, doi: 10.1016/j.matpr.2015.07.098.
- [38] E. Moncada, R. Quijada, J. Retuert, E. Moncada, R. Quijada, and J. Retuert, “Nanoparticles prepared by the sol gel method and their use in the formation of nanocomposites with polypropylene,” *Nanot*, vol. 18, no. 33, p. 335606, Aug. 2007, doi: 10.1088/0957-4484/18/33/335606.
- [39] C. J. Brinker and G. W. Scherer, *Sol-gel science : the physics and chemistry of sol-gel processing*. Academic Press, 1990.
- [40] N. D. Singho and M. R. Johan, “Complex impedance spectroscopy study of silica nanoparticles via sol-gel method,” *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 7, no. 6, pp. 5604–5615, 2012.
- [41] D. Eniu, C. Gruian, E. Vanea, L. Patcas, and V. Simon, “FTIR and EPR spectroscopic investigation of calcium-silicate glasses with iron and dysprosium,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1084, pp. 23–27, 2015, doi: 10.1016/j.molstruc.2014.12.020.
- [42] “Infrared Spectroscopy.” <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/infrared/infrared.htm> (accessed Jun. 28, 2022).
- [43] B. P. Kore *et al.*, “Thermoluminescence and EPR study of K₂CaMg(SO₄)₃:Dy phosphor: The dosimetric application point of view,” *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 49, no. 9, 2016, doi: 10.1088/0022-3727/49/9/095102.
- [44] T. Mashiko *et al.*, “EPR of Gd³⁺ with $g \approx 6.0$ in glasses: a reinterpretation,” *J. Phys. C Solid State Phys.*, vol. 15, no. 26, p. L933, Sep. 1982, doi: 10.1088/0022-3719/15/26/010.
- [45] C. M. Brodbeck and L. E. Iton, “The EPR spectra of Gd³⁺ and Eu²⁺ in glassy systems,” *J. Chem. Phys.*, vol. 83, no. 9, p. 4285, Aug. 1998, doi: 10.1063/1.449041.
- [46] S. Simon and A. D. Udvar, “Effect of gadolinium on the structure and magnetic properties of glass and glass-ceramic sillenites,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 93, no. 9, pp. 2760–2763, 2010, doi: 10.1111/j.1551-2916.2010.03783.x.
- [47] S. Simon, R. Pop, V. Simon, and M. Coldea, “Structural and magnetic properties of lead-bismuthate oxide glasses containing S-state paramagnetic ions,” *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 331, no. 1–3, pp. 1–10, Dec. 2003, doi: 10.1016/J.JNONCRY SOL.2003.08.079.
- [48] S. Arora, V. Kundu, D. R. Goyal, and A. S. Maan, “Structure and magnetic properties of Bi₂O₃–GeO₂–Gd₂O₃ glasses,” *ISRN Ceram.*, vol. 2013, pp. 1–5, 2013, doi: 10.1155/2013/914324.
- [49] E. Culea, L. Pop, and S. Simon, “Spectroscopic and magnetic behaviour of xGd₂O₃ (1 - x)(Bi₂O₃·PbO) glasses,” *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, vol. 112,

- no. 1, pp. 59–63, 2004, doi: 10.1016/j.mseb.2004.06.001.
- [50] M. Zagrai *et al.*, “Lead metallic-lead dioxide glasses as alternative of immobilization of the radioactive wastes,” *JNCS*, vol. 405, pp. 129–134, Dec. 2014, doi: 10.1016/J.JNONCRY SOL.2014.09.006.
- [51] S. E. Ashbrook and D. M. Dawson, “NMR spectroscopy of minerals and allied materials,” *Nucl. Magn. Reson.*, vol. 45, pp. 1–52, 2016, doi: 10.1039/9781782624103-00001.
- [52] H. Maekawa, T. Maekawa, K. Kawamura, and T. Yokokawa, “The structural groups of alkali silicate glasses determined from ^{29}Si MAS-NMR,” *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 127, no. 1, pp. 53–64, 1991, doi: 10.1016/0022-3093(91)90400-Z.
- [53] A. Simion, M. Vasilescu, C. Filip, M. Todea, M. Mureşan-Pop, and S. Simon, “Structural characterization of interfaces in silica core-alumina shell microspheres by solid-state NMR spectroscopy,” *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, vol. 117, no. October 2021, 2022, doi: 10.1016/j.ssnmr.2022.101773.
- [54] “Home | dmfit - D.Massiot - NMR@CEMHTI CNRS UPR3079 Orléans France.” .
- [55] Y. Cabrera, A. Cabrera, F. H. Larsen, and C. Felby, “Solid-state ^{29}Si NMR and FTIR analyses of lignin-silica coprecipitates,” *Holzforschung*, vol. 70, no. 8, pp. 709–718, 2016, doi: 10.1515/hf-2015-0165.
- [56] C. Irvine, “a Guidebook To Particle Size Analysis,” *Horiba*, pp. 1–17, 2019.
- [57] Malvern, “A basic guide to particle characterization,” *Malvern whitepaper*, pp. 1–24, 2015, [Online]. Available: https://www.cif.iastate.edu/sites/default/files/uploads/Other_Inst/Particle Size/Particle Characterization Guide.pdf.
- [58] V. Feldmann, J. Engelmann, S. Gottschalk, and H. A. Mayer, “Synthesis, characterization and examination of Gd[DO3A-hexylamine]-functionalized silica nanoparticles as contrast agent for MRI-applications,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 366, no. 1, pp. 70–79, 2012, doi: 10.1016/j.jcis.2011.09.053.
- [59] R. Guillet-Nicolas, J. L. Bridot, Y. Seo, M. A. Fortin, and F. Kleitz, “Enhanced relaxometric properties of MRI ‘positive’ contrast agents confined in three-dimensional cubic mesoporous silica nanoparticles,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 21, no. 24, pp. 4653–4662, 2011, doi: 10.1002/adfm.201101766.
- [60] M. Rohrer, H. Bauer, J. Mintorovitch, M. Requardt, and H. J. Weinmann, “Comparison of magnetic properties of MRI contrast media solutions at different magnetic field strengths,” *Invest. Radiol.*, vol. 40, no. 11, pp. 715–724, 2005, doi: 10.1097/01.rli.0000184756.66360.d3.
- [61] K. Kattel *et al.*, “Paramagnetic dysprosium oxide nanoparticles and dysprosium hydroxide nanorods as T 2 MRI contrast agents,” *Biomaterials*, vol. 33, no. 11, pp. 3254–3261, 2012, doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.01.008.
- [62] L. Relaxivity *et al.*, “Paramagnetic Ultrasmall Gadolinium Oxide Nanoparticles as Advanced T1 MRI Contrast Agent: Account for Large Diameter, and In Vivo T1 MR

- Images,” *ACS Nano*, vol. 3, no. 11, pp. 3663–3669, 2009.
- [63] F. H. Wang, K. Bae, Z. W. Huang, and J. M. Xue, “Two-photon graphene quantum dot modified Gd₂O₃ nanocomposites as a dual-mode MRI contrast agent and cell labelling agent,” *Nanoscale*, vol. 10, no. 12, pp. 5642–5649, 2018, doi: 10.1039/c7nr08068a.
- [64] Q. L. Vuong *et al.*, “Paramagnetic nanoparticles as potential MRI contrast agents: Characterization, NMR relaxation, simulations and theory,” *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.*, vol. 25, no. 6, pp. 467–478, 2012, doi: 10.1007/s10334-012-0326-7.
- [65] E. Gómez-González *et al.*, “Dysprosium and Holmium Vanadate Nanoprobes as High-Performance Contrast Agents for High-Field Magnetic Resonance and Computed Tomography Imaging,” *Inorg. Chem.*, vol. 60, no. 1, pp. 152–160, 2021, doi: 10.1021/acs.inorgchem.0c02601.
- [66] R. Antwi-Baah, Y. Wang, X. Chen, and K. Yu, “Metal-Based Nanoparticle Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents: Classifications, Issues, and Countermeasures toward their Clinical Translation,” *Adv. Mater. Interfaces*, vol. 2101710, pp. 1–31, 2022, doi: 10.1002/admi.202101710.

Anexa 1. Diseminarea rezultatelor

Articole ISI pe tema tezei:

1. Cocan, Daniel; Mireșan, Vioara; Popescu, Florentina; Constantinescu, Radu; Coroian, Aurelia; Lațiu, Călin; Flaviu Turcu, Romulus Valeriu; **Fărcășanu, Alexandru Ștefan**; Martonos, Cristian; ,*"MRI Investigations on Venomous Glands of Brown Bullhead, Ameiurus nebulosus (Lesueur, 1819)(Actinopterygii: Ictaluridae)."*,Pakistan Journal of Zoology,52,4,,2020, IF: 0.831 , AIS: 0.113
2. Popescu, Radu A; Tăbăran, Flaviu A; Bogdan, Sidonia; **Fărcășanu, Alexandru**; Purdoiu, Robert; Magyari, Klara; Vulpoi, Adriana; Dreancă, Alexandra; Sevastre, Bogdan; Simon, Simion; ,*Bone regeneration response in an experimental long bone defect orthotopically implanted with alginate-pullulan-glass-ceramic composite scaffolds*, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials,108,3,1129-1140,2020,"John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, USA", IF: 3.68 , AIS: 0.539
3. Staicu, **A**; **Farcasanu, AS**; Caracostea, G; Turcu, RV; Simon, S; Stamatian, F; ,*Contribution of post-mortem MRI to the evaluation of subtle renal anomalies in a first trimester foetus with Down syndrome*,J Obstet Gynaecol,36,3,359-60,2016, IF: 3.368 , AIS: 0.539

Articole BDI pe tema tezei:

1. **A.S. Farcasanu**, M. Todea, M. Muresan-Pop, D.M. Petrisor, A. Simion, A. Vulpoi, S. Simon; *Synthesis and structural characterization of silica particles doped with Dy and Gd paramagnetic ions for as MRI contrast agents*, Results in Chemistry (RECHEM-D-22-00527)
2. Boitor-Borza, Dan; Turcu, Flaviu; **Farcasanu, Stefan**; Crivii, Carmen; ,*Early development of human ganglionic eminences assessed in vitro by using 7.04 Tesla micro-MRI—a pilot study*, Medicine and pharmacy reports,94,1,35,2021,"Universty of Medicine and Pharmacy of Cluj-Napoca, Romania"
3. Berar, Antonela M; Preda, Dan; Iacob, Simona; Moraru, Corina V; **Farcasanu, Alexandru**; Turcu, Flaviu RV; Simon, Simion; Buduru, Smaranda; ,*Assessment of*

- periapical lesions by 7T magnetic resonance imaging and micro-CT-experimental study, Human and Veterinary Medicine,14,1,10-15,2022,Bioflux SRL*
4. Vulturar, Damiana; **Fărcășanu, Alexandru**; Turcu, Flaviu; Boitor, Dan; Crivii, Carmen; *The volume of the cerebellum in the second semester of gestation, Clujul Medical,91,2,176,2018,"Universty of Medicine and Pharmacy of Cluj-Napoca, Romania"*
 5. Drăgan, Oana Carmen; **Fărcășanu, Alexandru Ștefan**; Câmpian, Radu Septimiu; Turcu, Romulus Valeriu Flaviu; *Human tooth and root canal morphology reconstruction using magnetic resonance imaging, Clujul Medical,89,1,137,2016,"Universty of Medicine and Pharmacy of Cluj-Napoca, Romania"*
 6. Boitor-Borza, D; Crivii, Carmen; **Farcasanu, S**; Stamatian, F; *Morphology of the human brain in the embryonic period: anatomical study and assessment by 7T magnetic resonance imaging, Obstetrica și Ginecologia,63,,47-52,2015.*

Alte articole publicate în jurnale ISI:

1. Aurel Jurjiu, Mircea Galiceanu, **Alexandru Farcasanu**, Liviu Chiriac, Flaviu Turcu; *“Relaxation dynamics of Sierpinski hexagon fractal polymer: Exact analytical results in the Rouse-type approach and numerical results in the Zimm-type approach” The Journal of Chemical Physics 145, 214901 (2016); <https://doi.org/10.1063/1.4968209>, IF: 3.488 , AIS: 1.103*
2. Morosanu, Cezar Octavian; Nicolae, Liviu; Moldovan, Remus; **Farcasanu, Alexandru Ștefan**; Filip, Gabriela Adriana; Florian, Ioan Ștefan; *Neurosurgical cadaveric and in vivo large animal training models for cranial and spinal approaches and techniques—a Systematic review of the current literature, Neurologia i neurochirurgia polska,53,1,8-17,2019, IF: 2.223, AIS: 0.378*

Conferințe:

1. **Alexandru Ștefan Fărcășanu**, Lăcrămioara Samoilă, Ovidiu Samoilă, Oliviu Voștinaru, Elena Dinte, Simion Simon, Ede Bodoki *“Assessment of the ocular biodistribution profile of topically administered lutein by magnetic resonance spectroscopy” [DA-PBA 2022]: Comunicare orală la 12th International Symposium of Drug Analysis 32nd International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2022 Belgia.*

2. Dan Boitor-Borza, C. Crivii, F. Turcu, **A. Farcasanu**, S. Simon, F. Stamatian
„Morphogenesis of the human brain assessed by in vitro micro-MRI „next generation”embryology” XIII World Congress of Perinatal Medicine Belgrade – October 26-29, 2017.