

## ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA DE NÓDULOS CALCIFICADOS EM VALVA AÓRTICA

**K.C. Rodrigues<sup>1</sup>, L.P. Alves<sup>1</sup>, E. Munin<sup>1</sup>, G.C. de Souza<sup>2</sup>, J.A.B. Piotto<sup>2</sup>,  
C.J. De Lima<sup>1</sup>, J.C. Lazaro<sup>1</sup>, M.T.T. Pacheco<sup>1</sup>, R.A. Zângaro<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade do Vale do Paraíba - Univap/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D,  
Av. Shishima Hifumi, 2911 - São José dos Campos/SP, kalligaris@gmail.com

<sup>2</sup> Clínica de Cirurgia do Coração/Cirucor, Rua Santa Elza, 62 - São José dos Campos/SP

**Resumo** - A estenose de valva aórtica, a mais freqüente de todas as anormalidades valvares, geralmente ocorre por calcificação das cúspides que sofreram desgaste e destruição ao longo dos anos. Técnicas ópticas como espectroscopia de fluorescência, espectroscopia Raman e espectroscopia de reflectância, têm apresentado resultados promissores na identificação/diferenciação de tecidos biológicos normais e patológicos, além de permitir um diagnóstico, *in vivo*, minimamente invasivo com a utilização de cateter de fibra óptica. Até o momento, não foram encontrados estudos relacionados com a estenose valvar por nenhuma das técnicas citadas. Nesse sentido, o presente trabalho apresenta a espectroscopia de reflectância de valva aórtica (*ex-vivo*) obtida com um sistema de irradiação composto de uma lâmpada de Flash Perkin Elmer (modelo FX-1160) e um cateter “6 em torno de 1” para entrega da luz pela fibra central e coleta da reflectância pelas 6 fibras externas. Os resultados obtidos mostraram que há, na espectroscopia de reflectância, um potencial de diferenciação dos níveis de calcificação da valva aórtica.

**Palavras-chave:** espectroscopia de reflectância, cateter, valva aórtica, estenose valvar, hidroxapatita de cálcio

**Área do Conhecimento:** Engenharias

### Introdução

A estenose de valva aórtica, a mais freqüente de todas as anormalidades valvares, geralmente ocorre por calcificação das cúspides que sofreram desgaste e destruição ao longo dos anos (HIGUCHI et al., 2003). A formação dos depósitos calcificados degenerativos nos folhetos da valva, podem ser visualizados macroscopicamente sob a forma de nódulos irregulares, (VILLALBA et al., 2001). Estes depósitos de cálcio podem causar até morte súbita se atingirem uma profundidade suficiente para comprometer o sistema de condução (MOORE & ADAMS, 2001)

A ecocardiografia, principalmente transesofágica, aparece como o método de escolha no diagnóstico e acompanhamento desses pacientes, permitindo a avaliação anatômica e hemodinâmica das valvas (OTTO, 2000; ROSENHEK et al., 2004). Entre outros métodos diagnósticos o cateterismo cardíaco, também chamado de estudo hemodinâmico, tem um papel importante na avaliação e indicação de tratamento adequado.

A fim de prover uma alternativa não invasiva de diagnóstico, uma série de métodos ópticos têm sido investigados. Como exemplo, pode-se citar a espectroscopia Raman no estudo da aterosclerose vascular (NOGUEIRA et al., 2005; SILVEIRA JR et al., 2003), a espectroscopia de fluorescência na diferenciação de tecidos neoplásicos e normais (HAGE et al., 2003; SILVEIRA JR et al., 2004) e a espectroscopia de reflectância no diagnóstico de

cancer (ZHU et al., 2006) e placa aterosclerótica (LILLEDAHL et al., 2006).

Muitos estudos foram realizados na avaliação dos mais variados tecidos biológicos usando técnicas de espectroscopia, entretanto, nada foi encontrado, até o momento, sobre a análise de valvas cardíacas com espectroscopia de reflectância. Nesse sentido, o presente trabalho apresenta um estudo *ex-vivo* da espectroscopia de reflectância de nódulos calcificados de valva aórtica.

### Materiais e Métodos

A amostra analisada apresenta seus folhetos fundidos por calcificação e foi obtida de paciente submetido à substituição da valva natural por uma prótese. A fim de definir as regiões para realização das medidas, a amostra foi fotografada sobre um plano quadriculado. Quatro regiões foram selecionadas por uma análise visual da presença de calcificação. Sendo que nas regiões 1 e 2 a calcificação é mais proeminente que nas regiões 3 e 4. Uma quinta região foi selecionada por não apresentar calcificação, a região 5. No sentido de viabilizar uma análise preliminar dos espectros, um espectro de dente, devido a presença da hidroxapatita de cálcio, também foi coletado.

O sistema para irradiação é composto de uma lâmpada de Flash Perkin Elmer (modelo FX-1160) e um cateter “6 em torno de 1” para entrega da luz pela fibra central e coleta da reflectância pelas 6

fibras externas. A detecção é feita por um CCD, com o espectrógrafo ajustado para coletar dados entre 375 e 600 nm. O diagrama de blocos do sistema pode ser visualizado na Figura 1.

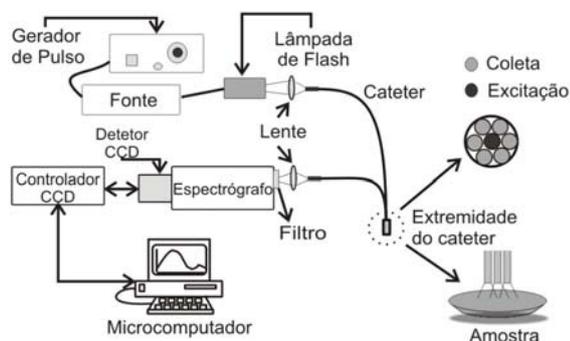


Figura 1- Diagrama de blocos do sistema de irradiação e coleta de reflectância.

A calibração do sistema foi realizada levando em conta o ruído de fundo e um difusor padrão, de forma que os espectros obtidos apresentem intensidades entre 0 e 100%.

## Resultados

Todos os espectros foram normalizados em 30% para a posição 425nm. Na Figura 2 estão os espectros obtidos para as regiões 1 e 2, regiões onde os nódulos são bem proeminentes, comparados com o da hidroxiapatita de cálcio e com o da região 5, que não contém nódulos de cálcio.

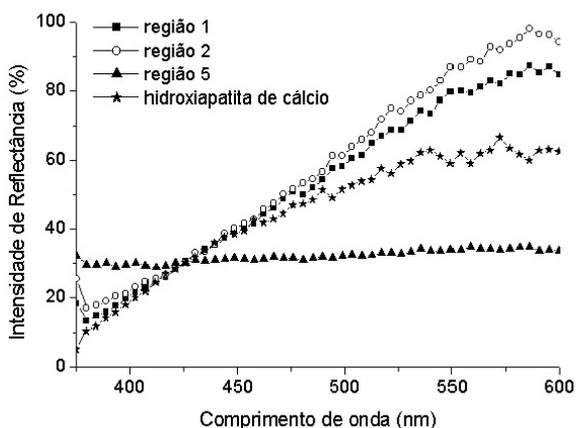


Figura 2 – Espectros de reflectância das regiões 1 e 2, comparados com a hidroxiapatita de cálcio e a região 5.

A Figura 3 apresenta os espectros de reflectância das regiões 3 e 4, regiões com menor proeminência dos nódulos de cálcio, comparados com o da hidroxiapatita de cálcio e com o da região 5, que não contém nódulos de cálcio.

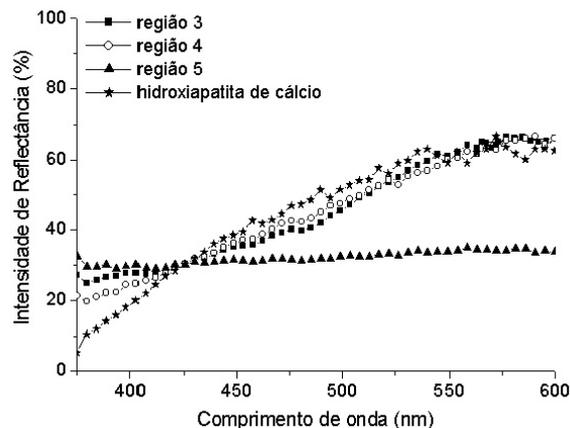


Figura 3 – Espectros de reflectância das regiões 3 e 4, comparados com a hidroxiapatita de cálcio e a região 5.

## Discussão

Os mecanismos patológicos que levam ao desenvolvimento da estenose de valva aórtica, sempre foram relacionados com o acúmulo passivo da hidroxiapatita mineral em função do envelhecimento. Entretanto, mais recentemente, têm se compreendido que o processo é similar ao que ocorre na aterosclerose de artérias, incluindo inflamação e infiltração de lipídeos (MOHLER, 2000).

As células de músculo liso dos vasos são importantes no acúmulo de tecido fibroso e na calcificação de placas ateroscleróticas nas artérias (MOHLER, 2004). Entretanto, a análise comparativa entre as valvas aórticas e as artérias coronárias, do ponto de vista tecidual e celular, demonstra que poucas células musculares lisas estão presentes nos folhetos valvares (HIGUCHI et al., 2003). Todavia, a valva aórtica contém células na camada intersticial, chamadas miofibroblastos, com características similares às células de músculo liso (MOHLER, 2004).

Estudos em uma população clone de cultura de miofibroblastos, mostraram que as células sofreram uma transdiferenciação fenotípica espontânea em células do tipo osteoblastos e formaram nódulos calcificados. Os nódulos são compostos de miofibroblastos não viáveis e hidroxiapatita mineral (MOHLER et al., 1999).

O espectro obtido para a hidroxiapatita de cálcio, apresenta uma intensidade de reflectância crescente de 375 nm até 550 nm, a partir de 550 nm há uma estabilização em torno de 60% de intensidade de reflectância. O mesmo acontece com os espectros das regiões 3 e 4, que se observa na Figura 3. Todavia, as regiões 1 e 2 apresentaram espectros com uma inclinação bem mais acentuada que o espectro da hidroxiapatita de cálcio, como se vê na Figura 2.

Os resultados mostram que os pontos com calcificação mais proeminente, regiões 1 e 2, têm uma intensidade de reflectância crescente, mais acentuada que os pontos onde a calcificação está mais infiltrada no tecido, regiões 3 e 4.

Por outro lado, o ponto 5, que não possui calcificação proeminente nem infiltrada, apresenta um intensidade de reflexão praticamente constante em todo o espectro analisado.

## Conclusão

Conclui-se, pelos resultados obtidos, que há um potencial de diferenciação, na espectroscopia de reflectância, dos níveis de calcificação da valva aórtica.

Estudos futuros, com o apoio de histopatologia das amostras analisadas e um modelamento matemático das curvas obtidas, podem resultar em um novo método de diagnóstico óptico de patologias valvares.

## Agradecimentos

O primeiro autor agradece ao programa de bolsas CAPES/PROSUP.

## Referências

- HAGE, R.; GALHANONE, P.R.; ZANGARO, R.A.; RODRIGUES, K.C.; PACHECO, M.T.T.; MARTIN, A.A.; NETTO, M.M.; SOARES, F.A.; DA CUNHA, I.W. Using the laser-induced fluorescence spectroscopy in the differentiation between normal and neoplastichuman breast tissue. **Lasers Med Sci.** V.18, n. 3 , p.171-176, 2003.

- HIGUCHI, M.L.; DOS SANTOS, M.H.H.; DEMARCHI, L.M.M. Etiopatogenia: aspectos relevantes. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.** V.13, n.3, p.305-11, 2003.

- LILLEDAHL, M.B.; HAUGEN, O.A.; BARKOST, M.; SVAASAND, L.O. Reflection spectroscopy of atherosclerotic plaque. **J Biomed Opt.** V.11, n.2, p.021005, 2006.

- MOHLER, E.R.III; CHAWLA, M.K.; CHANG, A.W.; VYAVAHARE, N.; LEVY, R.J.; GRAHAM, L.; GANNON, F.H. Identification and characterization of calcifying valve cell from human and canine aortic valves. **J. Heart Valve Dis.** V.8, p.254-60, 1999.

- MOHLER, E.R.III. Are atherosclerotic processes involved in aortic-valve calcification? **Lancet.** V.356, p.524-25, 2000.

- MOHLER, E.R.III. Mechanisms of aortic valve calcification. **Am. J. Cardiol.** V.94, p.1396-1402, 2004.

- MOORE, M.A.; ADAMS, A.K. Calcification resistance, biostability, and low immunogenic potencial of porcine heart valves modified by dye-mediated photooxidation. **J. Biomed. Mater. Res.** V.66, n.5, p. 378-84, 2001.

- NOGUEIRA GV, SILVEIRA L, MARTIN AA, ZANGARO RA, PACHECO MT, CHAVANTES MC, PASQUALUCCI CA. Raman spectroscopy study of atherosclerosis in human carotid artery. **J Biomed Opt.** V.10, n.3, p.031117, 2005.

- OTTO, CM. Aortic stenosis: listen the patient, look at the valve. **N. Engl. J. Med.** V. 343, p. 652-654, 2000.

- ROSENHEK, R.; KLAAR, U.; SCHEMPER, M.; SCHOLTEN, C.; HEGER, M.; GABRIEL, H.; BINDER, T.; MAURER, G.; BAUMGARTNER, H. Mild and moderate aortic stenosis: natural history and risk stratification by echocardiography. **Eur. Heart J.** V. 25, p. 199-205, 2004.

- SILVEIRA JR, L.; SATHAIAH, S.; ZÂNGARO, R.A.; PACHECO, M.T.T.; CHAVANTES, M.C.; PASQUALUCCI, C.A.G. Near-infrared Raman spectroscopy of human coronary arteries: histopathological classification based on Mahalanobis distance. **J Clin Laser Med Surg.** V.21, n.4, p.203-8, 2003.

- SILVEIRA JUNIOR, L.; PALECKIS, L.G.P.; NICOLAU, R.A.; NOGUEIRA, G.V.; BUSANELLO, R.Z.; MARDEGAN; D.A.; FONSECA, SM; ZÂNGARO, R.A.; PACHECO, M.T.T. Detection of induced neoplastic lesions in the oral mucosa of hamsters using fluorescence spectroscopy. **Rev. Assoc. Med. Bras.** V. 50, n. 3, p.297-301, 2004.

- VILLALBA, R.; PEÑA, J.; LUQUE, E.; VILLAGRÁN, J.L.G. Characterization of ultrastructural damage of valves cryopreserved under standard conditions. **Cryobiology.** V.43, p. 81-4, 2001.

- ZHU, C.; PALMER, G.M.; BRESLIN, T.M.; HARTER, J., RAMANUJAM, N. Diagnosis of breast cancer using diffuse reflectance spectroscopy: Comparison of a Monte Carlo versus partial least squares analysis based feature extraction technique. **Lasers Surg Med.** 2006 (aguardando publicação).