

## APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS NA AMPLIAÇÃO DO SINAL DE DISPOSITIVOS DE DIAGNÓSTICOS ÓPTICO – UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

**Kátia Cristina Rost Xavier<sup>1</sup>, Kátia Calligaris Rodrigues<sup>2</sup>, Gilbert Silva<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Graduação em Engenharia Biomédica, Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo – FEAU - Universidade do Vale do Paraíba – Univap. Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova. São José dos Campos/SP CEP: 12244-000. katiarost@gmail.com

<sup>2</sup> Núcleo de Formação Docente, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE. kalligaris@gmail.com

<sup>3</sup> IP&D II, Universidade do Vale do Paraíba – Univap. – Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova. São José dos Campos/SP CEP: 12244-000 gilbert@univap.br

**Resumo** – A possibilidade de acesso ao tecido biológico alvo e a coleta de informações com precisão deste tecido, de forma minimamente invasiva e em tempo real, são apenas alguns dos benefícios proporcionados por métodos de diagnósticos baseados na coleta do sinal luminoso, como a Tomografia por Coerência Ótica (OCT). Tradicionalmente, para o imageamento dos tecidos biológicos são administrados compensadores ópticos, porém em técnicas baseadas no retroespalhamento, como o OCT, a utilização dessas soluções ocasiona uma diminuição da intensidade do sinal. Assim, existe uma busca por novos agentes de contraste com utilização viável em métodos como o OCT. Este trabalho tem o objetivo de realizar um levantamento bibliográfico da utilização de nanopartículas metálicas na ampliação do sinal óptico obtido pela técnica de OCT. Os resultados obtidos nesse trabalho apontam o emprego de nanopartículas metálicas, devido as suas importantes propriedades catalíticas, de biocompatibilidade e de amplificação de sinais ópticos espectroscópicos, com futuro bastante promissor no diagnóstico óptico e terapia de tumores.

**Palavras-chave:** Tomografia por Coerência Óptica, Nanopartículas, Ampliação do Sinal Óptico

**Área do Conhecimento:** Engenharias IV

### Introdução

O processo de absorção e espalhamento ocorridos na interação da luz com o tecido biológico permite conhecer não somente seus constituintes bioquímicos, mas também sua morfologia (RODRIGUES, K.C., 2009). A possibilidade de acesso ao tecido alvo e a coleta de informação sem a destruição deste tecido é um aspecto muito motivador para o desenvolvimento de técnicas e tecnologias na área de óptica biomédica (MOTZ, J.T., *et al.*, 2004). Essas técnicas são capazes de exercer uma avaliação diagnóstica com precisão, sem retirada ou destruição de tecido biológico, de forma minimamente invasiva e em tempo real, possibilitando assim uma intervenção clínica precoce e um acompanhamento da evolução da doença (RODRIGUES, K.C., 2009).

Entre as técnicas mais promissoras estão a espectroscopia Raman, a espectroscopia de fluorescência, a espectroscopia de reflectância e a tomografia por coerência óptica (OCT) (RODRIGUES, K.C., 2009), sendo este o método abordado neste estudo.

A tomografia por coerência óptica trabalha no infravermelho próximo ( $\lambda = 750$  a  $1300$  nm), gerando uma imagem em micro escala da seção

da amostra em duas dimensões. Desta forma, as medidas de distância e dimensão de microestruturas da amostra são obtidas usando a luz que é retro-espalhada ou retro-refletida. Explorando este fenômeno de interferência de ondas, as dimensões das estruturas analisadas são obtidas a partir da medida do eco temporal entre a luz que é retro-espalhada ou retro-refletida da amostra, com o sinal luminoso de referência que percorre um caminho conhecido. Na área médica a sua primeira utilização foi na oftalmologia, hoje já é aplicada em biópsias ópticas na oftalmologia, ginecologia, odontologia, dermatologia, cardiologia, laringologia e urologia, inclusive em locais onde a biópsia convencional apresenta riscos ou a sua realização é impossível, na detecção precoce de neoplasias e como guia em intervenções cirúrgicas (FUGIMOTO, J.G., 2002).

O OCT é um método análogo ao ultrassom, exceto que a sua resposta se dá ao detectar-se reflexões no infravermelho próximo, ao invés do som. Isso significa que o OCT pode imagear células e estruturas subcelulares, apresentando 10 à 25 vezes maior resolução espacial do que a produzida pelo ultra-som, e até 100 vezes melhor do que a ressonância magnética ou tomografia computadorizada (TONG, L. *et al.*, 2009).

Tradicionalmente, para o imageamento dos tecidos biológicos, são administrados líquidos osmoticamente ativos conhecidos como compensadores ópticos, como o glicerol, propilenoglicol, dextrans e soluções de glicose concentrada para diminuir o efeito do espalhamento múltiplo. No entanto, para as técnicas de detecção de retroespalhamento, como o OCT, a administração dos agentes de compensação óptica leva a uma diminuição da intensidade que contribuem para o sinal, proporcionando efeitos negativos sobre a sensibilidade da técnica (KIRILLIN, M. *et al.*, 2009), provocando a busca por novos agentes de contrastes com utilização viável em métodos como o OCT.

A tomografia por coerência óptica vem recebendo atenção considerável como um revolucionário método de imagem biomédica desde a sua introdução há aproximadamente duas décadas. No entanto, apenas recentemente os pesquisadores começaram a explorar as possibilidades de melhorar a qualidade das imagens de OCT obtidas de tecidos biológicos através da adição de agentes de contrastes exógenos, como as nanopartículas (AGRAWAL, A. *et al.*, 2006), partículas ultrafinas da ordem de nanômetros ( $1 \times 10^{-9}$  m) (KOSOKAWA, M. *et al.*, 2007), microbolhas de ar e novos corantes, que vem sendo utilizadas na ampliação da intensidade da luz retroespalhada do tecido para o OCT (AGRAWAL, A. *et al.*, 2006).

As nanoestruturas metálicas, como as nanopartículas, nanotubos e nanocamadas apresentam uma melhor absorção no infravermelho próximo e não apresentam espalhamento múltiplo, como os compensadores ópticos tradicionais (SON, S. J. *et al.*, 2007). Estes agentes de contraste podem ser adaptados variando a composição, tamanho e forma, para aderirem à moléculas específicas, células ou diferentes tipos de tecidos, e assim fornecer a seletividade adicional que pode aumentar a utilidade do OCT como uma técnica emergente de diagnóstico (LEE, T.M. *et al.*, 2003).

Este trabalho tem o objetivo de realizar um levantamento bibliográfico da aplicação de nanopartículas metálicas na ampliação do sinal óptico obtido pela técnica de tomografia por coerência óptica.

## Materiais e Métodos

A metodologia aplicada foi a revisão bibliográfica, onde foram consultados *sites* científicos (SciELO, Lilacs, Elsevier, etc) e a biblioteca acadêmica da Universidade do Vale do Paraíba – Univap. Os descritores utilizados no levantamento foram “nanopartículas” e “OCT”.

## Discussão

As nanocamadas representam um novo tipo de nanopartículas, consistindo de um núcleo dielétrico, coberto por uma fina camada metálica de ouro ou de prata. As nanopartículas de ouro com núcleo-casca dielétricos possuem boas propriedades em aplicações terapêuticas, sendo biocompatíveis e estáveis. Variando as dimensões do núcleo e da casca, as nanocamadas apresentam propriedades ópticas únicas, além disso, biomoléculas como anticorpos podem ser facilmente conjugados nas superfícies de nanocamadas de ouro para a segmentação de células específicas (SON, S. J. *et al.*, 2007). Já os nanotubos, a previsão é que por possuírem maior superfície, apresentam uma maior absorção, quando comparados aos demais formatos de nanopartículas de ouro ou prata. Assim, quando a sua utilização é concomitante a drogas específicas conjugadas em seu interior, os nanotubos podem converter eficientemente a energia ótica em calor, ocasionando ataque à células malignas alvo. (SON, S. J. *et al.*, 2007), (TONG, L. *et al.*, 2009).

Agarwal e colaboradores (2006) produziram nanocamadas de diversas morfologias, variando o diâmetro do núcleo de sílica e a casca de ouro (126/15, 126/26, 213/19, 291/8, 291/15, 291/25 nm). As nanopartículas foram adicionadas à água e posteriormente a uma simulação de tecido e o OCT realizado a 1310 nm. Foi caracterizado o efeito da concentração das nanopartículas em cada meio, e o comportamento da relação núcleo/casca das nanopartículas na melhora do sinal óptico. Os resultados indicaram um aumento contínuo na intensidade do sinal e menor atenuação diretamente proporcionais ao aumento do tamanho do núcleo e da casca. Nos testes realizados em água, as nanopartículas de maior núcleo e casca (291/25 nm) apresentaram um aumento de 8 dB no sinal de OCT quando comparada as nanopartículas de menor núcleo e casca (126/15 nm). Nos testes de simulação de tecidos, os resultados foram semelhantes. Em ambos os testes, a concentração das nanopartículas foi de  $5 \times 10^9$  nanopartículas por mL.

Zagaynova e colaboradores (2008) realizaram um estudo avaliando nanopartículas de ouro em OCT (900 nm) em simulação de tecidos, *in vivo* e simulação de Monte Carlo. Foram utilizadas nanopartículas com núcleo de sílica de 150 nm e casca de ouro de 25 nm e concentração de  $5 \times 10^{10}$  partículas por  $\text{mL}^{-1}$ . As nanopartículas foram aplicadas na superfície do tecido *in vitro* e o imageamento por OCT realizado a cada 30 minutos durante 5h, posteriormente uma vez ao dia, até completar 48 horas. Os resultados

mostraram que a penetração das nanopartículas no tecido aumenta a intensidade do sinal do OCT e do brilho correspondente as áreas imageadas. Em experimentos *in vivo* (pele de coelho), o efeito das nanopartículas se manifestou aumentando significativamente a intensidade do OCT nas regiões de delimitação das áreas com e sem nanopartículas. A simulação de Monte Carlo foi realizada para dois tipos de pele (palmas das mãos e das plantas dos pés e a pele do restante do corpo) e confirmou a possibilidade de contrastar a pele e suas estruturas através da aplicação de nanopartículas de ouro. A simulação apresentou efeitos das nanopartículas semelhantes aos obtidos na parte experimental do estudo, provando assim que os efeitos se originam exatamente da presença das nanopartículas.

Kirillin e colaboradores (2009) avaliaram o comportamento de nanocamadas com núcleo de 75 nm de sílica e casca de 25 nm de ouro e nanopartículas comerciais de dióxido de titânio ( $54 \pm 12$  nm) em imagens de OCT (900 nm) em pele de porco e através de simulação de Monte Carlo, sendo esta para mostrar que os efeitos de contraste observados nos experimentos originou-se através da presença das nanopartículas, e não através de outras mudanças nas propriedades da pele causadas por sua aplicação. No estudo *in vivo* foi aplicado 25  $\mu$ L de cada solução contendo as nanopartículas (concentração de  $2,4 \times 10^9$  nanopartículas de  $\text{SiO}_2/\text{Au}$  /mL e  $1,9 \times 10^{10}$  nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ ) na pele do animal após tricotomia e para o controle foi aplicado o mesmo volume de água em outra região da pele. As imagens de OCT foram obtidas logo após a aplicação das soluções, a cada 30 minutos por 5 horas e após 24 horas. Observando as imagens do experimento, percebe-se o efeito de contraste das nanopartículas que se manifesta pelo aumento da intensidade do sinal de OCT das camadas superiores da pele, onde as nanopartículas estão mais concentradas. Ao mesmo tempo, regiões da pele onde não foram adicionadas as nanopartículas, apresentaram sinal de OCT significativamente menor. As nanopartículas de  $\text{SiO}_2/\text{Au}$  apresentaram melhor contraste na camada superior da pele após 120-240 minutos de aplicação. Já as nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  proporcionaram melhor visualização das camadas superiores e inferiores da pele após 120 minutos de aplicação até 24h. A capacidade de penetração das nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  na pele se mostra melhor quando comparada a de  $\text{SiO}_2/\text{Au}$  neste estudo, provavelmente devido a sua concentração na solução aplicada ser maior. Nos testes *in vivo* o contraste nas imagens de OCT foi de 0.7 a 0.9 para ambos os tipos de nanopartículas, e na simulação de Monte Carlo foi de 0.85 para as partículas de  $\text{SiO}_2/\text{Au}$  e 0.65 para

as de  $\text{TiO}_2$ , sendo os resultados semelhantes, comprovando assim que a melhora do sinal ocorre devido a presença das nanopartículas.

Troutman e colaboradores (2007) utilizaram nanopartículas de ouro no formato de nanotubos como agentes de contraste de OCT. Realizaram o estudo *in vitro*, simulando tecidos biológicos, onde as propriedades ópticas do material e a distribuição dos nanotubos pode ser controlada. Produziram nanotubos com 20 nm de diâmetro e comprimento de 750 nm e 912 nm. Trabalhou-se com três grupos: controle, onde foi adicionada gel na simulação de tecidos, nanotubos de 750 nm de comprimento e nanotubos de 912 nm de comprimento, ambos adicionados ao experimento em uma concentração de uma esfera por  $1100 \mu\text{m}^3$ . O OCT trabalhava com 890 nm. No controle, o incremento no sinal do OCT foi de -1,3 dB. Na simulação de tecidos onde foram adicionados nanotubos com 750 nm o incremento no sinal foi de 1.9 dB e nos nanotubos de 912 nm, o incremento correspondeu a 4.5 dB, comprovando assim uma melhora significativa no sinal de OCT nas amostras com nanotubos.

As nanopartículas de ouro estão sendo estudadas como um novo agente de contraste em outros sistemas de diagnósticos, como a tomografia fotoacústica. Zhang *et al.* (2009) sintetizaram nanopartículas de ouro de 20 nm e 50 nm de diâmetro e avaliaram as suas interferências em um tumor da parede abdominal de camundongo *in vitro* e *in vivo*. Para isso, implantou-se células cancerígenas na parede abdominal de um camundongo e esperou que o tumor crescesse aproximadamente 1 cm. Uma amostra deste tecido foi retirada. Inicialmente, realizou-se a tomografia fotoacústica individualmente no tecido, que apresentou um contraste fotoacústico de 0.50, e em uma nanopartícula de 50 nm, que apresentou um contraste de 1.6, ou seja, um contraste fotoacústico das nanopartículas de 50 nm e a amostra de tecido foi de aproximadamente 3.2. Após este experimento, uma solução contendo 25  $\mu$ L de nanopartículas de ouro de 50 nm, com concentração de  $50 \times 10^{11} \text{ mL}^{-1}$ , foi adicionada ao centro do tecido. O tecido com as nanopartículas apresentou absorção de 0.70, enquanto as regiões sem as nanopartículas apresentou 0.40. Um contraste de 1.8 foi obtido entre as regiões com e sem nanopartículas. Para as análises *in vivo*, injetou-se uma solução de 200  $\mu$ L de nanopartículas de ouro de 20 nm em uma região da parede abdominal do camundongo, em outra região o mesmo volume contendo uma solução com nanopartículas de 50 nm, e em outra região ainda o mesmo volume de salina, para controle. As imagens foram obtidas antes e logo após a

aplicação. Os resultados deste experimento são qualitativos. Tanto as nanopartículas de 20 nm como as de 50 nm apresentaram excelentes resultados *in vivo*, porém uma comparação direta entre os dois tamanhos de partículas aplicadas é dificultada por alguns fatores como a distribuição das partículas intratumoral, metabolismo e a profundidade com que foram aplicadas no tecido. Já no controle, mudanças na absorção foram muito pequenas e randômicas, comprovando assim o benefício das nanopartículas utilizadas.

### Conclusão

Estudos referentes a utilização de nanopartículas metálicas adicionadas ao tecido biológico como método de contraste para técnicas ópticas ainda são poucos. Porém todos os existentes comprovam a eficácia da técnica nas simulações realizadas, nos estudos *in vivo* e *in vitro*.

Observou-se uma maior tendência de avaliar nanopartículas de ouro, entretanto, outros materiais, formas e tamanhos podem ser explorados.

As nanopartículas metálicas apresentam importantes propriedades catalíticas, de biocompatibilidade e de amplificação de sinais ópticos espectroscópicos, sendo seu emprego no diagnóstico óptico e terapia de tumores bastante promissor.

### Referências Bibliográficas

- AGRAWAL, A., *et al.* Quantitative evaluation of optical coherence tomography signal enhancement with gold nanoshells. **Journal of Biomedical Optics**, v.11(4), 2006.
- FUGIMOTO, J.G. Optical coherence tomography: Introduction. In BOUMA, B.E.; Tearney, G.J. **Handbook of Optical Coherence Tomography**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002.
- KIRILLIN, M., *et al.* Contrasting properties of gold nanoshells and titanium dioxide nanoparticles for optical coherence tomography imaging of skin: Monte Carlo simulations and in vivo study. **Journal of Biomedical Optics** 14(2), 2009.
- KIRILLIN, M. *Et al.* Nanoparticles for contrasting OCT images of skin. **Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques IV**. Proc. Of SPIE-OSA Biomedical Optics, v. 7372, 2009.
- KOSOKAWA, M. *et al.* Nanoparticle technologie: Introduction. **Nanoparticle technologie handbook**. Elsevier, 2007.

- LEE, T. M., *et al.* Engineered microsphere contrast agents for optical coherence tomography. **Optics Letters**, v. 28, n.17, 2003.
- MOTZ, J. T., *et al.* Optical fiber probe for biomedical raman spectroscopy. **Appl. Opt.**, v.43, n.3, 2004.
- RODRIGUES, K. C. Biópsia óptica de tecido de valva aórtica estenótica. 2009. 48f. Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2009.
- SON, S.J.; BAI, X.; LEE, S.B. Inorganic hollow nanoparticles and nanotubes in nanomedicine. Part 2: Imaging, diagnostic, and therapeutic applications. **Drug Discovery Today**. V. 12, n. 16/17, 2007.
- TONG, L.; WEI, Q.; WEI, A.; CHENG, J.X. Gold nanorods as contrast agents for biological imaging: optical properties, surface conjugation and photothermal effects. **Photochemistry and Photobiology**, n. 85, 2009.
- TROUTMAN, T. S.; BARTON, J. K.; ROMANOWSKI, M. Optical coherence tomography with plasmon resonant nanorods of gold. **Optics Letters**, v. 32, n.11, 2007.
- ZAGAYNOVA, E.V., *et al.* Contrasting properties of gold nanoparticles for optical coherence tomography: phantom, in vivo studies and Monte Carlo simulation. **Physics in Medicine and Biology**, v.53, 2008.
- ZHANG, Q. *et al.* Gold nanoparticles as a contrast agent for *in vivo* tumor imaging with photoacoustic tomography. **Nanotechnology**, v.20, 2009.