UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Giovani Grisotti Martins

Princípios físicos da propagação da luz em meios turvos e as Espectroscopias Ópticas no tecido biológico

Monografia – F 896

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Giovani Grisotti Martins

RA 146254

MONOGRAFIA – F 896

PRINCÍPIOS FÍSICOS DA PROPAGAÇÃO DA LUZ EM MEIOS TURVOS E AS ESPECTROSCOPIAS ÓPTICAS NO TECIDO BIOLÓGICO

Trabalho apresentado ao Instituto de Física Gleb Wataghin (IFGW - UNICAMP) para a disciplina F 896 – Monografia, ministrada pelo Professor Fernando Jorge da Paixão Filho, orientado pelo Professor Rickson Coelho Mesquita.

Campinas – SP, Dezembro de 2016

Sumário

1. Resumo 4
2. Introdução 5
3. Fundamentos de Espectroscopias Ópticas para Medicina 7
3.1 – As possíveis interações da luz e a Espectroscopia Óptica de Difusão 7
3.2 – A Espectroscopia de Correlação de Difusão 15
4. Aplicações de *DOS* e *DCS* em tecidos biológicos *in vivo* 26
4.1 – *DOS* 26
4.2 – *DCS* 28
5. Conclusões e perspectivas 31
6. Bibliografia 33

1. Resumo

A espectroscopia óptica aplicada a tecidos biológicos vem surgindo como uma técnica promissora para o monitoramento e o diagnóstico de pacientes em clínicas e como pesquisas. Tal emergência é devido a aspectos como o baixo custo das técnicas e sua portabilidade. Entretanto, a característica que mais interessa quando se trata da espectroscopia em relação às outras técnicas atualmente utilizadas no meio clínico é que a mesma é não invasiva, não usando radiações ou campos de alta intensidade. Escolhendo o comprimento de onda apropriado para a incidência na região a ser analisada, é possível obter informação acerca de quais são as concentrações dos constituintes do meio, bem como a movimentação dos mesmos. No tecido biológico, usando luz na região do infravermelho próximo, isso significa obter informações como o abastecimento de oxigênio e o fluxo sanguíneo instantâneo, medidas de grande utilidade na avaliação da saúde do tecido. No trabalho, mostrou-se que é possível caracterizar qual informação quantifica melhor cada característica do tecido estudado, de acordo com a interação em questão da luz com o meio de propagação. Por exemplo, uma análise das características relativas à absorção fornece informações sobre concentrações sobre oxi-hemoglobina e desoxi-hemoglobina principalmente, mas também de água e lipídeos. *DCS*, detalhes sobre a movimentação de entes espalhadores, como células vermelhas (o que permite a avaliação do fluxo sanguíneo, por exemplo). Para comprovar tais afirmações, foram apresentados alguns dados medidos em tecidos biológicos humanos, corroborando a acurácia da técnica *DCS*: foram eles a apneia e a oclusão do braço. Para a técnica *DOS*, o monitoramento da endarterectomia de uma carótida foi analisado e, resultando em medições condizentes com o esperado biologicamente na grande maioria dos pacientes acompanhados.

2. Introdução

Atualmente, no meio clínico, um dos problemas enfrentados é a falta de técnicas não invasivas e de custo moderado para monitoramento da concentração de oxigênio e fluxo sanguíneo em tecidos biológicos. As técnicas atualmente usadas são tipicamente de alto custo, algumas vezes necessitam do transporte do paciente e possuem pouca resolução temporal, o que não permite o monitoramento eficiente do indivíduo em tempo real [1].

Uma alternativa para solucionar tais problemas é fazer o uso de técnicas ópticas. Através delas, é possível determinar as *propriedades ópticas* e *dinâmicas* do meio em estudo. *Propriedades ópticas* é um termo que se refere a como o meio em estudo interage e altera a luz através da interação com partículas quase estáticas, se valendo da *Espectroscopia Óptica de Difusão (DOS)*. Já as *propriedades dinâmicas*, analogamente, descrevem como é a interação da luz com as partículas em movimento através da *Espectroscopia de Correlação de Difusão (DCS)*. Ambas espectroscopias são baseadas na óptica de difusão.

O desejo de um diagnóstico através de métodos não muito invasivos percorre os cenários clínicos e o imaginário humano há muito tempo. Desde sondas futurísticas a scanners corporais em grande escala, o ser humano tenta obter informações de pacientes aparentemente debilitados ou com alguma suspeita de problema clínico de forma externa e não prejudicial.

Isso se torna possível já que, para uma determinada faixa de comprimentos de onda, o tecido biológico se comporta como um *meio turvo*, como será discutido posteriormente. Assim, através da determinação das propriedades ópticas do meio, em especial das dinâmicas, se torna possível monitorar o abastecimento tanto de

oxigênio quanto de sangue da região, avaliando a saúde biológica local.

Determinada qual a faixa ideal de comprimento de onda a ser usado, é interessante ressaltar que a intensidade espalhada varia com o tempo. Medindo a intensidade espalhada como uma função do tempo, pode-se também entender como é a cinemática geral das partículas do meio, já que tal dependência temporal é causada pela movimentação das partículas. De maneira simples, quando uma amostra de tecido é iluminada, suas partículas espalhadoras acabam se comportando de forma análoga a antenas, funcionando como novos emissores de radiação. A análise das flutuações da intensidade espalhada traz a informação do deslocamento quadrático médio das partículas do meio, informação que se relaciona com o fluxo sanguíneo.

O trabalho tem como objetivo estudar o funcionamento da *DOS* e da *DCS*, técnicas usadas, dentre outras finalidades, para análise do tecido biológico, conforme dito. Para isso, foram apresentados os conceitos físicos por trás da propagação de da interação da luz num meio para cada um dos regimes de interesse, bem como a ideia por trás da obtenção e análise de dados para cada uma das técnicas sem muitas deduções ou formalismo matemático.

3. Fundamentos de Espectroscopias Ópticas para Medicina

Neste capítulo serão apresentados os princípios físicos por trás de cada uma das técnicas de espectroscopia: *DOS* e *DCS*. Uma noção experimental da obtenção de dados, análise e interpretação dos mesmos também será exibida, bem como o processo de interação da luz com o meio em que se propaga.

3.1 – As possíveis interações da luz e a Espectroscopia Óptica de Difusão

O processo de propagação da luz num meio material heterogêneo é diferente da propagação da luz, por exemplo, no vácuo, processo facilmente entendido, caracterizado e quantificado através das equações de Maxwell para o vácuo [2]. O estudo da mesma em meios materiais lineares também se faz possível através do ajuste de tais equações para o meio em questão, sem maiores complicações matemáticas. No entanto, existem mecanismos interessantes de interação da luz com a matéria quando a mesma se propaga num meio heterogêneo que serão discutidos com maior riqueza de detalhes: são eles a *absorção* e o *espalhamento*. Uma rápida ilustração dos efeitos está apresentada na Figura 1.

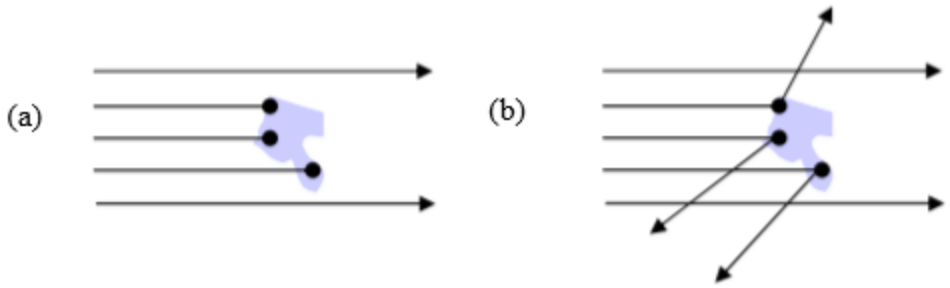

Figura 1: Dos esquemas acima, (a) ilustra uma amostra constituída de partículas absorvedoras e (b) uma constituída de partículas dispersoras. Nota-se que, em (a), os raios de luz incidentes na amostra não continuam se propagando depois dele. Em (b), os raios de luz incidentes na partícula são espalhados para várias direções angulares em relação à inicial. Figura retirada de [7].

Para o melhor entendimento da absorção da luz pelo meio, uma abordagem quântica simples é necessária. As moléculas que constituem o meio possuem modos rotacionais e vibracionais de energia de acordo com a geometria das mesmas [3]. Cada um desses estados tem uma energia própria, maior que a do estado fundamental da molécula estática. Ou seja, quando um fóton da radiação incidente tem energia igual à diferença entre a energia da molécula num estado que a mesma pode ocupar e a energia de seu estado atual, o mesmo é absorvido pela molécula. Uma ilustração do processo está apresentada na Figura 2. Com os vários fenômenos de absorção, a intensidade da radiação incidente é diminuída e, matematicamente, segue a lei de Beer-Lambert:

$$I(x) = I_o e^{-\mu_a x},$$

onde I_o é a intensidade da luz incidente e $I(x)$ é a intensidade da luz após ter percorrido uma distância x num meio de *coeficiente de absorção* μ_a.

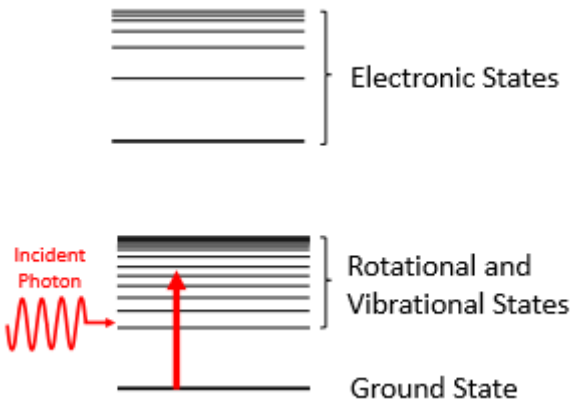

Figura 2: Diagrama de possíveis níveis de energia ocupados por uma molécula em seus vários estados rotacionais e vibracionais. Vale ressaltar que a transição entre dois níveis de energia só é possível se o fóton incidente tiver energia igual à diferença entre um nível energético possível e a energia da molécula no instante da absorção. Figura retirada de [1].

Como pode ser visto pela equação anterior, o coeficiente de absorção mede a capacidade do meio em questão de absorver fótons da radiação, ou seja, de reduzir a intensidade da mesma. O coeficiente depende, de maneira geral, da concentração das partículas absorvedoras do meio e da seção de choque de absorção das mesmas, que depende do comprimento de onda. Ou seja, genericamente, $\mu_a = \mu_a(t, \lambda)$, já que a concentração pode variar com o tempo. Como a intensidade está relacionada com o número de fótons presentes no feixe naquele instante de tempo, μ_a pode ser visto como o número de absorções por distância percorrida no meio.

Do ponto de vista clássico, no entanto, quando uma radiação eletromagnética incide num meio granular, as partículas do mesmo são forçadas a vibrar com a frequência do campo. Assim, se as frequências naturais de oscilação dos constituintes do meio são similares à frequência dos campos, as mesmas absorvem energia da radiação, reduzindo sua amplitude, manifestando a mesma como uma oscilação. Como os átomos ou moléculas perdem tal energia num tempo menor do que o de

duração deste estado excitado (de duas a quatro ordens de grandeza de diferença) através de colisões com outras partículas, a energia trazida pelos campos é, de forma geral, dissipada em forma de calor no meio [4].

Além de ser absorvida, como descrito anteriormente, a luz pode ter sua direção de propagação alterada em relação à inicial ao interagir com uma partícula. Quando isso ocorre, o evento é chamado de espalhamento da luz. Na interpretação clássica, novamente, as cargas discretas que constituem o material são forçadas a entrar na frequência de oscilação do campo externo e irradiarão em diversas direções (particularmente em regiões não colineares à do campo incidente). Entretanto, tal fenômeno pode ocorrer fora da frequência natural de oscilação da partícula, o que faz a amplitude da vibração da mesma ser pequena, minimizando a chance de perda energética por mecanismos de colisão. Portanto, no regime de espalhamento, é pouco provável que a energia dos campos se converta em energia térmica e seja, portanto, dissipada.

As considerações para o coeficiente de espalhamento, μ_s, ocorrem de maneira análoga às feitas para μ_a: o mesmo é uma medida do número de espalhamentos que ocorrem por unidade de distância que a luz percorre no meio. De forma geral, μ_s depende do comprimento de onda, do índice de refração do meio e da seção de choque de espalhamento. Entretanto, a distribuição angular dos fótons espalhados também traz informações sobre o meio. Uma delas é o ângulo de espalhamento médio, θ, que é parte da definição do *coeficiente de espalhamento reduzido,* $\mu_s' = (1 - g)\mu_s$, onde $g = \langle \cos(\theta) \rangle$ é o fator de anisotropia do meio. μ_s' é muito útil no estudo do regime de espalhamento múltiplo.

Apesar dos eventos terem sido separados por fins didáticos, é interessante ressaltar que ambos ocorrem simultaneamente quando a luz se propaga por um meio.

De maneira geral, um meio opticamente ativo é caracterizado principalmente pelos efeitos de absorção e espalhamento produzidos pelas partículas que o constituem, através dos coeficientes apresentados anteriormente. Chama-se de *meio turvo* o meio onde os eventos de espalhamento são muito mais significativos que os de absorção, ou seja, $\mu_s' \gg \mu_a$. Nesse regime, uma onda eletromagnética se propaga de maneira difusa. Tal padrão de espalhamento permite que alguma intensidade seja detectada longe da fonte de luz, ou seja, a trajetória dos fótons é desviada de forma que os mesmos podem ser detectados longe de onde foram inseridos no meio. Tal propagação se encontra ilustrativamente apresentada na Figura 3.

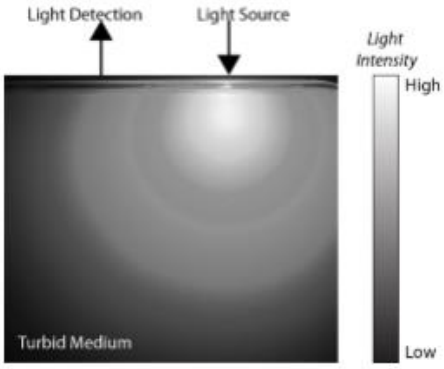

Figura 3: Ilustração da propagação difusa da luz num meio turvo. Como é mostrado na figura, a intensidade da luz é maior conforme mais clara a região. Note que, em relação ao feixe incidente, a radiação é espalhada para todas as direções. Figura retirada de [1].

Logo, de forma geral, ao adentrar num meio turvo, o feixe luminoso se propaga no mesmo e, ao interagir, a luz é espalhada ou absorvida. O resultado da interação pode ser detectado no plano de incidência e a análise de suas características, diferentes da luz incidente, traz a informação óptica sobre o meio, ou seja, permite a obtenção dos coeficientes, além de propriedades dinâmicas do mesmo.

O foco do estudo para maios turvos se faz importante principalmente no âmbito da biologia e da medicina, já que o tecido biológico, para determinados comprimentos de onda, se comporta desta maneira ($\mu_s' \cong 100\ \mu_a$). Assim, a análise da luz espalhada pelo tecido permite a determinação da composição do meio, do ponto de vista das partículas estáticas, bem como da movimentação das mesmas, como será discutido mais adiante.

No entanto, o espectro eletromagnético é enorme, o que traria certa dúvida acerca de qual o comprimento de onda deve ser usado. Para escolher o melhor valor, é levado em conta quem serão as partículas absorvedoras da luz no meio turvo em questão: o tecido biológico. É interessante que a radiação utilizada não seja de alta frequência, para que não seja ionizante. Resumidamente, a radiação ionizante pode interagir diretamente com o DNA ou pode promover a produção de radicais livres no meio e, através dos dois mecanismos, acarretar na perda da capacidade clonogênica da célula ou gerar mutações [5]. Ainda assim, existe um vasto espectro apenas de radiações não ionizantes a serem usadas.

O propósito do monitoramento do abastecimento de oxigênio no tecido em estudo é paralelo ao do fluxo sanguíneo, visto que o gás é transportado pelas hemoglobinas, proteínas presentes nas hemácias, glóbulos vermelhos transportados pelo sistema circulatório [6]. A presença de oxigênio, necessário para obtenção de energia através da respiração celular, e sangue (que transporta outros nutrientes além do gás) no tecido estão diretamente relacionados com a saúde do mesmo. Então, seria ideal que as alterações promovidas na luz espalhada em relação à incidente fossem dadas essencialmente por partículas relacionadas ao fluxo sanguíneo e à concentração de oxigênio local.

Depois de vários testes, notou-se que, para comprimentos de onda na região do

infravermelho próximo (650 - 900 nm), os eventos de espalhamento tornam-se mais intensos que os de absorção, o que garantiria o regime de meio turvo. As dificuldades relacionadas com a presença de lipídeos que impedem a propagação da luz na região do visível são solucionados para tal intervalo de comprimento de onda, já que tais moléculas são grandes absorvedoras abaixo de 600 nm. A espectroscopia com luzes de comprimento de onda no infravermelho próximo é também conhecida como *NIRS* (do inglês *near infra-red spectroscopy*) [7, 8, 9]. A Figura 4 mostra um gráfico que relaciona os níveis de absorção das partículas relevantes em função do comprimento de onda na região do *NIRS*.

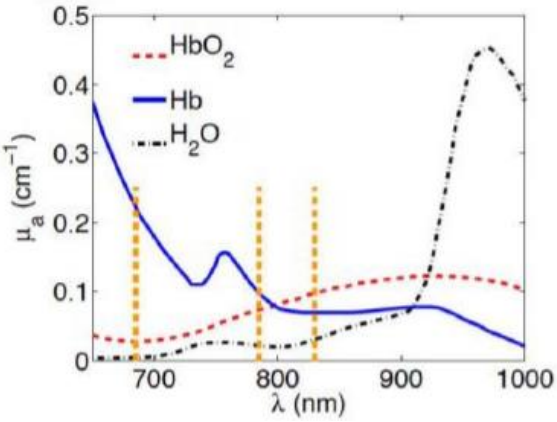

Figura 4: Gráfico do coeficiente de absorção, μ_a, em função do comprimento de onda. Hb e HbO_2 referem-se, respectivamente, a desoxi-hemoglobina e oxi-hemoglobina, condições em que a proteína se encontra livre na hemácia ou associada ao oxigênio. Particularmente para o *NIRS*, pode-se notar que as partículas mais sensíveis à absorção são Hb e HbO_2, enquanto gordura e água não. Para 803 nm, os dois tipos de hemoglobina são iguais em relação à absorção. Depois de 900 nm, ambas perdem em absorção para a água. Lipídeos são grandes absorventes para comprimentos de onda menores de 600 nm. Portanto, é possível ver que há uma janela de absorção exclusiva de Hb e HbO_2 entre 700 e 900 nm. Figura retirada de [7].

Note, pela figura anterior, que outra molécula que pouco interage na região do *NIRS* é a água, substância presente em abundância na grande maioria dos tecidos. A mesma constitui de 60% a 80% da massa total do corpo estando presente, por

exemplo, no cérebro de um recém-nascido, com uma relação de água por massa de aproximadamente 90%. Por estar em grande abundância no tecido biológico, a água é considerada um grande cromóforo em retiradas de espectro dos mesmos, o que traz outra vantagem do *NIRS*: a janela de pouca absorção da mesma.

O coeficiente de absorção total de um meio é a soma dos coeficientes de absorção de cada um de seus cromóforos. Como o mesmo, para cada cromóforo, pode ser calculado como o produto da concentração C do mesmo pelo seu coeficiente de extinção, ε, que é uma medida do quão fortemente tal substância absorve a radiação de certo comprimento de onda, equaciona-se que:

$$\mu_a(\lambda) = \sum_i \varepsilon_i(\lambda) C_i = \varepsilon_{Hb}(\lambda) C_{Hb} + \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) C_{HbO_2} + \varepsilon_{H_2O}(\lambda) C_{H_2O},$$

onde a última igualdade é obtida para o caso particular do *NIRS* no tecido biológico. Como o comprimento de onda da luz incidente não varia na técnica empregada, qualquer variação no coeficiente de absorção do meio deve ser dada pela variação das concentrações dos cromóforos, para uma intensidade fixa de luz incidente. Lembrando que a última parcela da soma da equação anterior já é pequena e que a concentração de água não varia muito, conclui-se que:

$$\Delta\mu_a(\lambda) = \varepsilon_{Hb}(\lambda) \Delta C_{Hb} + \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) \Delta C_{HbO_2}.$$

Como, pela lei de Beer-Lambert, é possível medir variações em μ_a através da comparação das intensidades incidente e coletada, a relação anterior torna possível medir variações nas concentrações das hemoglobinas em tempo real, através de uma técnica não invasiva. Mesmo medindo apenas variações nas concentrações de tais

proteínas, a técnica *NIRS* é muito útil ao se analisar mudanças funcionais em tecidos.

Nesse regime de comprimentos de onda, de forma análoga à absorção, que é predominante em cromóforos internos às hemácias, o espalhamento é causado majoritariamente pelas células vermelhas também. A baixa absorção da luz nos comprimentos de onda do *NIRS* permite que a radiação se propague por distâncias consideráveis dentro do meio turvo (em torno de centímetros, para o tecido biológico). Assim, é possível recuperar alguma informação de regiões *profundas* dos tecidos através da análise da intensidade espalhada, ou seja, através de uma técnica *não invasiva* ou nociva.

O conjunto de técnicas descritos em detalhes até agora, que faz o estudo das alterações na luz incidente a partir de partículas estáticas é conhecido como *Espectroscopia Óptica de Difusão (DOS)*. Entretanto, um estudo das alterações na radiação incidente promovidas por partículas em movimento também pode ser feito. A técnica que descreve propriedades dinâmicas do meio é conhecida como *Espectroscopia de Correlação de Difusão (DCS)*, e será mais aprofundada na próxima seção.

3.2 – A Espectroscopia de Correlação de Difusão

Resta para agora determinar as propriedades dinâmicas do meio em questão. Para isso, primeiramente é interessante entender o caso mais simples. Incidindo luz em um sistema cujos focos espalhadores são esparsos (densidade baixa), a coleta da intensidade espalhada em um ângulo θ com a direção do feixe incidente traz toda a informação relevante. A Figura 5 esquematiza a situação descrita.

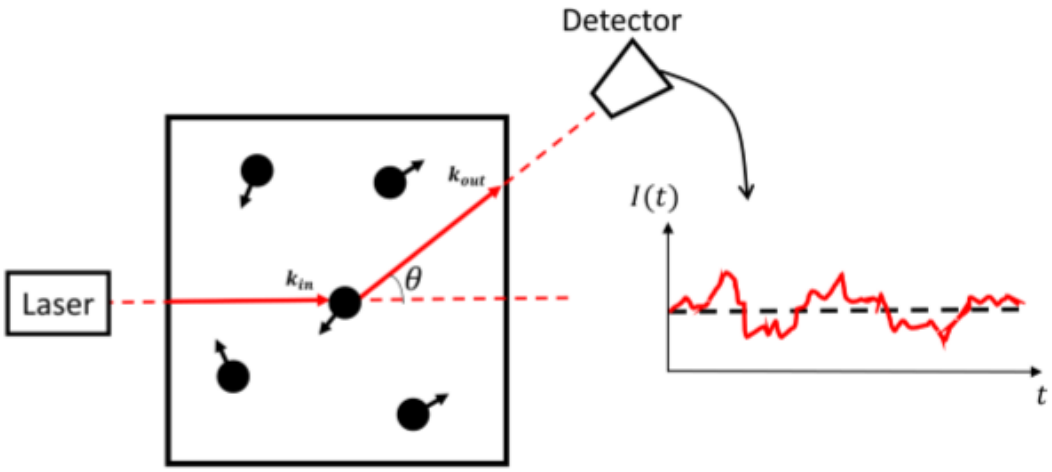

Figura 5: Representação ilustrativa de um sistema opticamente esparso. Note que a intensidade, como dito, é coletada a um ângulo θ com a direção do feixe incidente. Na figura, $\vec{k}_{in}$ é o vetor de onda incidente, $\vec{k}_{out}$ é o vetor de onda espalhada e $I(t)$ é a intensidade luminosa coletada no tempo t. Note que, como dito, a intensidade varia no tempo, o que é uma assinatura da movimentação das partículas espalhadoras. Figura retirada de [1].

O campo elétrico espalhado pela i-ésima partícula para o ângulo θ pode ser escrito como:

$$\vec{E}_i(t) = E_o F(\theta) e^{-i\omega t} e^{i\vec{k}_{in}\cdot(\vec{r}_i(t)-\vec{R}_s)} e^{i\vec{k}_{out}\cdot\vec{r}_i(t)} \hat{e},$$

onde $\hat{e}$ é a direção de polarização do campo espalhado (que pode mudar em relação à onda incidente), $F(\theta)$ é o fator de forma das partículas, E_o é a amplitude do campo incidente, ω é a frequência de oscilação do campo incidente, $\vec{k}_{in}$ e $\vec{k}_{out}$ são os vetores de onda incidente e espalhada, $\vec{R}_s$ é a posição da fonte e $\vec{r}_i(t)$ é a posição da i-ésima partícula espalhadora. O fator $F(\theta)$ é uma propriedade intrínseca de uma distribuição de cargas específica, visto que o mesmo considera a distribuição eletrônica da partícula em questão, bem como seu índice de refração e é usada na análise da

amplitude de um espalhamento elástico [10]. Note que, na expressão, se assume um campo incidente com frequência única e estacionário, já que ω e E_o independem do tempo. Como o espalhamento é elástico, já que nenhuma energia é despendida com alteração da composição ou da configuração dos entes físicos que interagem, $k_{in} = k_{out} = {2\pi n}/{\lambda}$ onde λ é o comprimento de onda do raio incidente e n é o índice de refração do meio. A amplitude, como mostra a equação, é inteiramente determinada pelo fator de forma, entretanto as fases e evoluções temporais são dadas pelas posições da partícula, da fonte, da orientação dos vetores de onda e do tempo. A equação acima pode ser reescrita como:

$$\vec{E}_i(t) = E_o F(\theta) e^{-i\omega t} e^{i(\vec{k}_{out}\cdot\vec{R}_d - \vec{k}_{in}\cdot\vec{R}_s)} e^{-\vec{q}\cdot\vec{r}_i(t)} \hat{e},$$

onde $\vec{R}_d$ é a posição do detector e $\vec{q} = \vec{k}_{out} - \vec{k}_{in}$. Como o módulo dos vetores de onda é o mesmo, o módulo de $\vec{q}$ pode ser calculado a partir de $k_{in} = k_{out} \equiv k$ através do estudo da Figura 6.

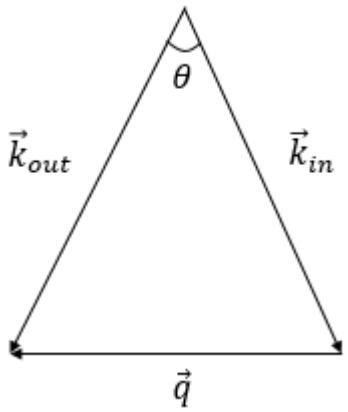

Figura 6: Triângulo isósceles base para o cálculo de q, módulo do vetor diferença entre os vetores de onda incidente e espalhado.

Usando lei dos cossenos no triângulo acima, obtém-se $q = 2k\sin({\theta}/{2})$.

Entretanto, o campo que adentra ao detector num instante de tempo é a soma de todos os campos elétricos espalhados das N partículas que estão no meio turvo. Para agora, tomemos um *ensemble* de *partículas idênticas*. É interessante relembrar que um *ensemble* é regido por um tipo específico de densidade de probabilidade, onde cada possível estado de ocupação do *espaço de fase* do sistema é ocupado por uma cópia idêntica do mesmo, caracterizado por um escalar (em geral por um valor específico de energia, em mecânica estatística), e analisa-se como as mesmas evoluem no tempo [11]. Se as partículas são idênticas:

$$\vec{E}_T(t) = \sum_{i=1}^{N} \vec{E}_i(t) = E_o F(\theta) e^{-i\omega t} e^{i\left(\vec{k}_{out}\cdot\vec{R}_d - \vec{k}_{in}\cdot\vec{R}_s\right)} \left(\sum_{i=1}^{N} e^{-\vec{q}\cdot\vec{r}_i(t)}\right)\hat{e}.$$

Pela equação obtida, é possível notar que as variações na fase do campo elétrico espalhado, para feixes incidentes fixos, num mesmo ângulo de detecção, depende somente do momento transferido e da posição de cada partícula espalhadora, que são considerados independentes. Ou seja, medindo a variação na fase do campo elétrico total espalhado, obtém-se informação sobre a dinâmica (variação das posições) das partículas no meio.

Para se obter alguma informação da expressão anterior, é usual usar a *função de correlação temporal* do campo espalhado, definida como:

$$g_1(\tau) = \frac{\langle \vec{E}_T(t)\cdot\vec{E}_T^*(t+\tau)\rangle}{\langle \vec{E}_T(t)\cdot\vec{E}_T^*(t)\rangle},$$

onde para os termos entre $\langle\ \rangle$ é feita uma média em todo o *ensemble*.

Para entender melhor a função, pense primeiro na função de correlação de $f(t) = c$, onde c é uma constante qualquer. Note que, para esta função, o numerador

sempre será idêntico ao denominador e $g_1(\tau) = 1$. Agora tome $h(t) = t$, a função monotonicamente crescente mais simples possível. Então o numerador de g_1 será sempre maior que o denominador, portanto $g_1(\tau)$ também será monotonicamente crescente. Considerações análogas são obtidas para funções monotonicamente decrescentes. Portanto, intui-se que $g_1(\tau)$ dá uma previsão de como será o comportamento da função que está se tomando a média para um salto temporal de τ.

Usando o campo elétrico obtido anteriormente na função $g_1(\tau)$, considerando que tanto o arranjo quanto as trajetórias das partículas são aleatórias e não correlacionadas, conclui-se que:

$$g_1(\tau) = e^{i\omega t} e^{-\frac{1}{6}q^2\langle \Delta r^2(\tau)\rangle},$$

onde $\langle \Delta r^2(\tau)\rangle$ representa o deslocamento quadrático médio das partículas espalhadoras.

Ou seja, medindo a correlação temporal do campo elétrico total espalhado é possível obter informações sobre a dinâmica dos constituintes do meio. No tecido biológico, então, a análise da função de correlação permite obter informação sobre a dinâmica de células vermelhas, que transportam o oxigênio e são carregadas pelo sangue. Então, em última análise, é o estudo de $g_1(\tau)$ que traz a desejada informação sobre oxigenação e fluxo sanguíneo tecidual.

Entretanto, meios turvos, bem como o tecido biológico, podem não ser opticamente esparsos. Para altas densidades de partículas espalhadoras, a luz incidida pela fonte pode interagir de forma a ser espalhada diversas vezes antes de ser detectada. Assim, o mesmo fóton pode seguir diversos caminhos que ligam fonte e detector e cada um desses caminhos irá contribuir para o campo elétrico medido.

Como as partículas estão se movendo, a distância percorrida pelo fóton em cada caminho pode variar, o que varia a intensidade medida. Tais observações estão ilustradas na Figura 7.

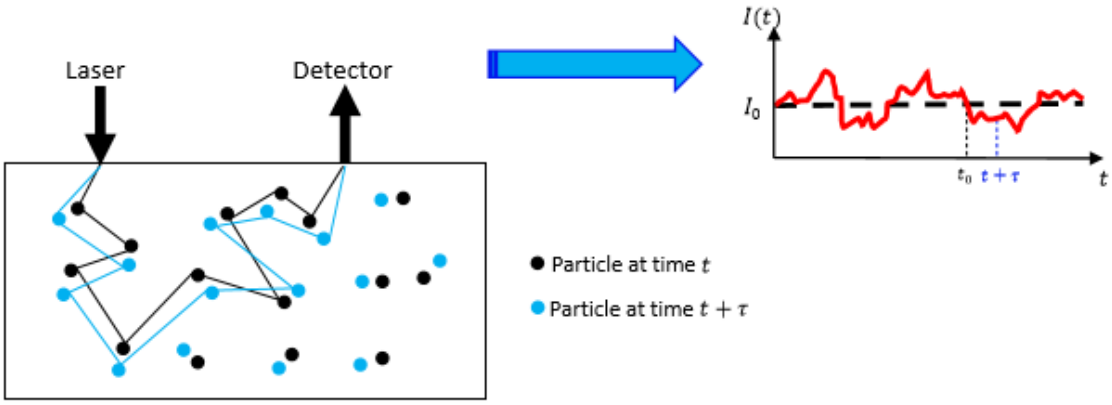

Figura 7: Na esquerda, estão ilustrados dois dos possíveis caminhos que um fóton pode seguir conforme é espalhado. A diferença no caminho é dada pela cinemática das partículas espalhadoras, o que acarreta uma variação na intensidade mensurada pelo detector ao longo do tempo. Figura retirada de [1].

Para um mesmo caminho percorrido, a intensidade do campo elétrico é atenuada e sua fase muda conforme descrito anteriormente para cada interação com uma partícula espalhadora. A função $g_1(\tau)$ resultante, para este caso, é a soma da função de correlação de cada um dos caminhos que contribuem para o campo elétrico total, ponderada pela probabilidade de que o fóton siga o caminho em questão. Novamente, em posse da função de correlação, existem deduções matemáticas (que fogem ao propósito deste texto) que mostram que é possível retirar informação sobre a movimentação das partículas através do deslocamento quadrático médio.

Embasado na discussão feita até o presente momento, para que se obtenha a informação desejada sobre o meio turvo em questão basta que se meça o campo elétrico remanescente depois da interação do feixe incidente no meio. No entanto, experimentalmente, mensurar o campo elétrico é uma tarefa difícil, a começar pelo

caráter vetorial deste ente físico. De fato, é possível medir, com o auxílio de detectores, a intensidade que é espalhada do meio.

De forma análoga à discussão feita para a função de correlação para o campo elétrico $\vec{E}_T(t)$, há uma função de correlação associada aos valores de intensidade $I(t)$. A equação que relaciona as funções de correlação é conhecida como Relação de Siegert:

$$g_2(\tau) = 1 + \beta|g_1(\tau)|^2,$$

onde $g_2(\tau) = {G_2(\tau)}/{\langle I(0)\rangle^2}$ e $g_1(\tau) = {G_1(\tau)}/{\langle I(0)\rangle}$ são as funções de auto correlação para intensidade e para campo elétrico, já normalizadas. O parâmetro β é experimental que depende dos aparatos ópticos utilizados. Por exemplo, para um laser de grande coerência, não polarizado e usando fibras mono modais, $\beta = 0{,}5$. Para esclarecer todo o processo de análise dinâmica, uma síntese está apresentada na Figura 8.

Como mostra a figura, o experimento consiste em incidir um laser de alta coerência no meio turvo em análise e coletar a luz espalhada a certa distância do local de incidência da mesma usando, por exemplo, fibras ópticas mono modais e um contador de fótons. O aparelho ligado em seguida do contador de fótons faz computacionalmente o cálculo da função $g_2(\tau)$. Fitando os pontos experimentais, obtém-se β e $\langle \Delta r^2(\tau)\rangle$.

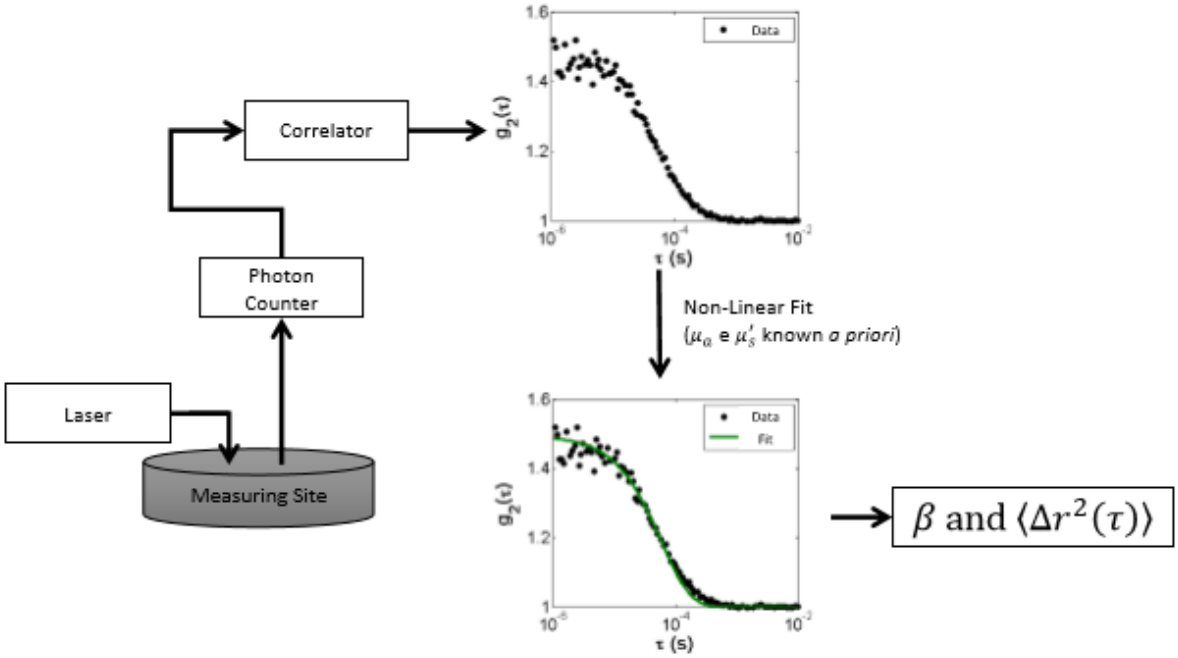

Figura 8: Esquema ilustrativo para a extração de informação sobre a cinemática das partículas espalhadoras num meio turvo, técnica que, como dito, recebe o nome de DCS. Figura retirada de [1].

Com dados experimentais, é possível dizer aproximadamente a qual movimento aleatório as partículas estão sujeitas no tecido em análise. Basicamente, é uma decisão entre o movimento Browniano e o fluxo aleatório. Como o experimento permite a determinação de $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$, compara-se os deslocamentos quadráticos médios associados a cada um dos tipos de movimento:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle_{Browniano} = 6D_B\tau;$$

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle_{Fluxo} = \langle V \rangle \tau^2.$$

Na Figura 9 está a comparação entre os pontos experimentais e os ajustes com curvas referentes a cada teoria para a cinemática das partículas.

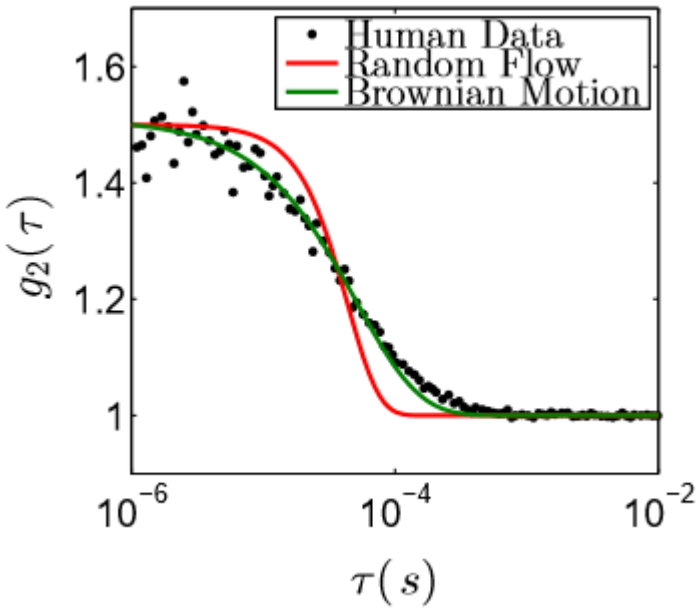

Figura 9: Ajuste dos dados experimentais através das teorias para a cinemática das partículas no meio. Note que o ajuste através do Movimento Browniano é o que melhor se enquadra aos dados experimentais. Figura retirada de [1].

Os dados mostram que em tecidos humanos o melhor ajuste é referente ao Movimento Browniano, com o detalhe que a constante D_B de difusão é ordens de grandeza maior que o de Einstein.

Definindo a grandeza α como a probabilidade que um fóton seja espalhado por uma partícula em movimento, ou seja, como a razão entre os coeficientes de espalhamento reduzidos das partículas em movimento pelo coeficiente total no regime de espalhamento múltiplo, o *Índice de Fluxo Sanguíneo*, *BFI*, é definido como $BFI = \alpha D_B$, já que, no tecido biológico, as partículas espalhadoras são as células vermelhas. Portanto, o que se mede são as variações relativas no fluxo sanguíneo, rBF, definido como:

$$rBF = \frac{BFI}{BFI_0} \times 100\% \ ,$$

onde BFI_0 é o índice de fluxo sanguíneo padrão, usado como referência. A medida da grandeza descrita através da técnica *DCS* se mostrou de acordo com as medidas feitas por técnicas já consolidadas como seguras e de grande acurácia.

Nas referências bibliográficas [1], estão descritas duas maneiras de se analisar computacionalmente um meio turvo em estudo, como o tecido biológico. Um dos modelos encara o mesmo como um meio semi-infinito (SI) e outro como uma bicamada (2L). Os estudos feitos mostraram que o primeiro método sempre subestima os valores de rBF, enquanto o segundo é mais confiável, provavelmente por considerar o caráter estratificado dos tecidos biológicos.

Levar em consideração a diferença entre os tecidos de acordo com a profundidade se faz de extrema importância, especialmente no estudo dos tecidos cerebrais, como o cortical. A técnica *DCS* se faz muito útil no estudo do cérebro, que é, talvez, a região menos compreendida pela humanidade de forma geral. Dela, todos os impulsos e ações do corpo e da maioria dos órgãos são controladas (a menos dos reflexos medulares e dos músculos com contrações involuntárias): o pensamento lógico, a competência comunicativa, o pensamento racional, a fluência verbal, a motricidade e outras funções. A célula que reage aos estímulos e propaga os impulsos nervosos possibilitando seu entendimento e sua resposta chama-se *neurônio*.

Entretanto, como sua função é extremamente importante e complexa, o neurônio não consegue se auto suprir. Para isso, existem os *gliócitos*, cuja função é nutrir e proteger os neurônios. Porém, todo esse conjunto não possui, como as células musculares, um mecanismo de reserva de O_2, energia ou glicose, sendo necessário que funcione sempre com maior rendimento possível, ou seja, somente se valendo de respirações aeróbicas. Assim, o tecido cerebral deve ser ininterruptamente abastecido de oxigênio, levado pelas hemoglobinas pela corrente sanguínea. Como a região

cerebral é fundamental para o bom estado do ser humano e seu bom funcionamento depende de um eficiente abastecimento de O_2 por meio de grandes volumes de sangue (estima-se que cerca de 25% do sangue bombeado pelo coração sirva para abastecer diretamente tecidos cerebrais), *DCS* pode cumprir um papel importante no monitoramento da região. Além disso, é possível tentar mapear qual região do tecido cerebral é responsável por qual função biológica usando a técnica para monitorar qual região está consumindo mais oxigênio de acordo com qual função está sendo exercida pelo indivíduo.

4. Aplicações de *DOS* e *DCS* em tecidos biológicos *in vivo*

Nesta seção, resta ilustrar que as técnicas *DOS* e *DCS* funcionam quando aplicados ao tecido biológico. Para isso, serão exibidos alguns dados e resultados de experimentos realizados em seres humanos.

4.1 – *DOS*

A técnica *DOS*, como já descrita no texto, é eficaz para determinação de propriedades ópticas estáticas do meio. Para a obtenção de dados e monitoramento, foram feitos experimentos que estão detalhados com maior profundidade nas referências [4].

Em primeira instância, monitorou-se uma endarterectomia de uma carótida. A endarterectomia é uma cirurgia preventiva contra a ocorrência de um AVC em pessoas com placas acumuladas em ao menos uma das duas grandes artérias em cada lado do pescoço (chamadas *carótidas* – situação de estenose). Com o passar do tempo, as placas, formadas por gordura, por exemplo, se enrijecem e estreitam as artérias, reduzindo o fluxo de sangue local, rico em oxigênio, podendo gerar um AVC. Na cirurgia, a artéria é isolada de seu entorno e, em seguida, sofre uma oclusão, reduzindo o fluxo sanguíneo local. Então, numa região posterior à oclusa, a artéria é aberta e desobstruída, a partir da remoção de suas camadas mais internas, que contém as placas. Por fim, a carótida é fechada e cessa-se a oclusão, fazendo o fluxo

sanguíneo retornar ao normal.

Assim, primeiro analisaram-se as variações hemodinâmicas nos voluntários, a fim de gerar um valor controle. Para os voluntários em questão, as variações permaneceram estáveis antes da oclusão, com saturação de oxigênio entre 65 e 68%. Durante o procedimento, a grande maioria dos voluntários apresentaram variações consideráveis nas concentrações dos dois tipos de hemoglobina: redução na concentração de HbO_2 e aumento na de Hb. Quando a oclusão foi cessada, em geral, apresentou-se um comportamento inverso. O resultado geral está apresentado na Figura 10.

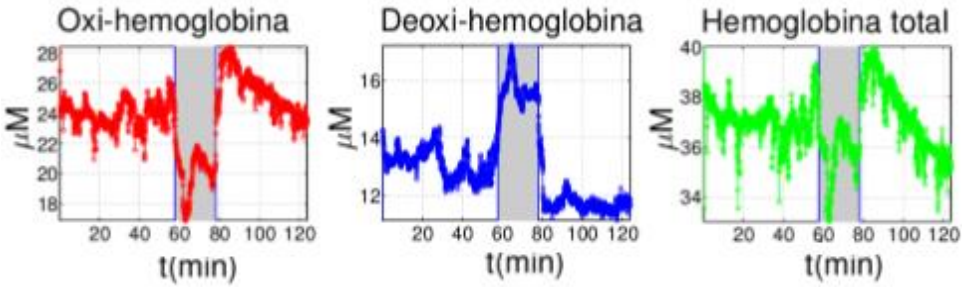

Figura 10: Resultado do monitoramento das concentrações de hemoglobina no procedimento de endarterectomia para o caso geral dos pacientes. Note, como previsto, que a concentração de HbO_2 cai durante a oclusão, representada pela faixa vertical cinza. Ao término do procedimento, os valores tendem a retornar ao estado basal. Figura retirada de [4].

Como mostra a figura anterior, a concentração de HbO_2 cai durante a oclusão, representada pela faixa vertical cinza, bem como a concentração de Hb aumenta, resultado biologicamente esperado. Após o término da desobstrução e o reabastecimento de sangue, espera-se o aumento da concentração de HbO_2, como visto pelo monitoramento. Os resultados do monitoramento do experimento é uma ilustração que *DOS* monitora as concentrações de cromóforos, ou seja, das hemoglobinas, na região de comprimento de onda escolhido.

Como mostrado no experimento citado e mais profundamente na referência

associada, a técnica *DOS* tem boa eficiência para obtenção de parâmetros ópticos estáticos em tecidos biológicos, podendo, no futuro, ser utilizada no meio clínico. Resta ilustrar dados experimentais da técnica *DCS*, também abordada no texto.

4.2 – *DCS*

A fim de corroborar a acurácia da técnica *DCS*, dois experimentos simples, cujos resultados já eram conhecidos foram feitos [1].

Primeiramente, uma pressão aproximadamente igual à sistólica (180 mmHg) foi aplicada ao braço de um paciente, interrompendo o fluxo sanguíneo local. Esperava-se, então, no antebraço, que o valor de rBF despencasse drasticamente, até que fosse nulo. Foram feitas duas oclusões de aproximadamente 30 segundos cada. Os resultados estão expostos na Figura 11.

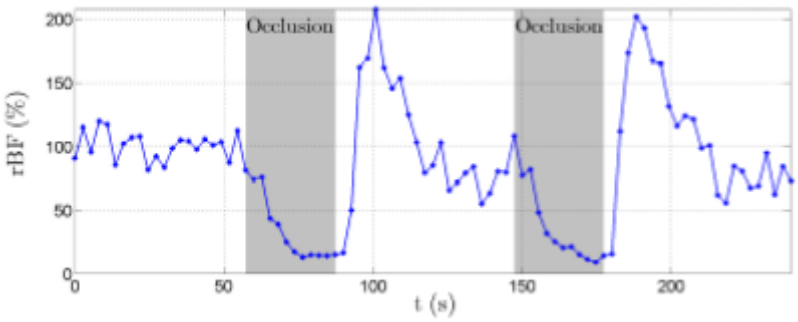

Figura 11: Medidas de rBF num experimento de oclusão do braço de aproximadamente 30 segundos. Note que, como esperado, o percentual rBF vai à zero segundos depois da oclusão, e cresce após a desobstrução do sistema circulatório local. Figura retirada de [1].

Como pode ser visto na figura, o percentual de rBF chega próximo de zero após a oclusão, como era de se esperar. Além disso, após a desobstrução, a medida

de abastecimento sanguíneo sobe o mais rápido possível. Tais resultados, por estarem em grande concordância com o que ocorre biologicamente, demonstram a eficácia da técnica *DCS*, que se mostra útil em mensurar variações no fluxo sanguíneo local.

Outro teste feito foi o da apneia. Nele, o paciente deveria prender a respiração por um período de aproximadamente 30 segundos. Com isso, a concentração de gás carbônico, CO_2, cresceria. Como o gás promove a vasodilatação em tecidos cerebrais, espera-se medir um aumento no rBF durante o tempo de apneia.

Para se obter informação da cabeça de modo geral, duas distâncias entre fonte e detector foram usadas: 1,0 e 2,5 cm. Os dois modelos, SI e 2L, foram usados para analisar os dados obtidos em cada um dos detectores. Para a menor separação, espera-se obter informação da primeira camada para o modelo de bicamadas, já que coleta fótons que não penetraram tanto no meio, enquanto, para a maior distância, intui-se que a informação recuperada é proveniente da segunda camada (tecidos corticais). Os resultados estão apresentados na Figura 12.

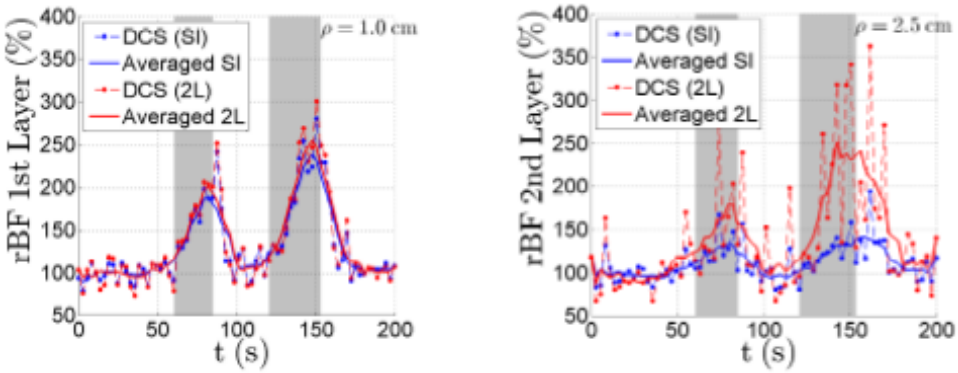

Figura 12: Dados medidos para o experimento de apneia. Na esquerda estão apresentados os dados coletados para a menor separação entre fonte e detector, onde os dados ajustados através dos modelos SI e 2L concordam. Na direita, note que o modelo SI subestima, como já dito, o valor de rBF, que foi similar pelo modelo 2L para ambas distâncias. Figura retirada de [1].

Para a distância de 1 cm, os resultados através dos modelos SI e 2L tiveram grande concordância entre eles, o que já era esperado, visto que os dados medidos por este detector não sofriam a interferência de profundidades referentes à segunda camada do modelo 2L. Para 2,5 cm, o modelo SI subestima valores de rBF quando comparado com o 2L, como já alertado anteriormente. Além disso, o modelo 2L se mostra mais confiável, já que os resultados obtidos para ambas separações entre fonte e detector são aproximadamente os mesmos, além de serem condizentes com os que já existem na literatura.

A concordância do experimento de apneia com o que ocorre biologicamente, bem como com outros resultados já encontrados na literatura, assim como o experimento de oclusão, indica que *DCS* mede com grande acurácia variações nos valores de fluxo sanguíneo local, como é proposto pela técnica, podendo ser usado no ambiente clínico

5. Conclusões e perspectivas

No trabalho, entendeu-se como a luz se propaga e quais as possíveis interações da mesma com os constituintes do meio. Frente à análise dos princípios físicos por trás de cada uma das interações, relacionou-se como obter informação sobre o meio a partir do estudo da luz espalhada, coletada no plano de incidência, através das técnicas *DOS* e *DCS*. O principal objetivo, aqui atingido, foi entender quais componentes biológicos produzem cada um dos efeitos físicos estudados e como obter informação sobre os mesmos.

No caso em que o meio é um meio turvo, o estudo pode ser aplicado para o tecido biológico, como descrito no desenvolvimento do documento. Concluiu-se que a *DCS* apresenta alta acurácia na medida de variações do fluxo sanguíneo através de duas experiências simples: a apneia e a oclusão do braço. Em ambos experimentos, a técnica foi condizente com o que se espera fisiologicamente, bem como com os dados já encontrados na literatura. Com isso, mostra-se que a técnica pode ser amplamente usada tanto em âmbitos de pesquisa quanto em áreas clínicas, juntamente com a *DOS*, a fim de obter informação completa tanto das propriedades ópticas e concentrações de partículas quanto da movimentação das mesmas.

Brevemente discutiu-se que o modelo de bicamada (2L) é mais eficaz para a determinação de variações no fluxo sanguíneo do que o de um meio semi-infinito (SI) no tecido biológico, já que considera a estratificação dos tecidos conforme a profundidade em relação a superfície. Entretanto, devem existir modelos mais sofisticados que recuperem resultados com maior precisão.

Concluiu-se também, através do monitoramento de uma endarterectomia de uma carótida, que a técnica *DOS* é de grande eficiência na obtenção de parâmetros ópticos

estáticos, já que o resultado do experimento mostrou alta concordância com o resultado biológico esperado para a grande maioria dos indivíduos estudados.

Por fim, vale retornar às perspectivas iniciais do trabalho. Usar a dupla *DOS* e *DCS* para monitoramento, avaliação e diagnósticos de pacientes pode, de maneira promissora, como mostrado no trabalho, suprir a falta de técnicas não invasivas e de baixo custo encontrada atualmente no meio clínico. Além disso, a técnica não requer transporte e realocação dos pacientes, sendo de alta praticidade e entregando resultados em tempo real, com boa resolução temporal.

O fato de campos de alta intensidade não serem usados, bem como radiação de alta intensidade e quaisquer outros artifícios físicos danosos à saúde do paciente – de fato as técnicas se valem apenas de luz próximo ao infravermelho – juntamente com a velocidade com que os resultados são obtidos para diagnóstico e monitoramento, leva a crer que, num futuro próximo, *DOS* e *DCS* assumam papéis fundamentais no meio clínico e acadêmico.

6. Bibliografia

1 – Forti , Rodrigo Menezes. *Determination of the dynamical properties in turbid media using diffuse correlation spectroscopy: applications to biological tissue*. Campinas, SP : [s.n.], 2015.

2 – Griffiths, David J. *Eletrodinâmica.* 3ª edição. Editora *Pearson Education*. 2011, 424 páginas.

3 – Salinas, Sílvio R.A. *Introdução à Física Estatística*. 2ª edição. Editora *Edusp*. 2005, 472 páginas.

4 – Cano Rodriguez, Reember. *Utilização da fase para estimativa das propriedades ópticas absolutas do tecido biológico com espectroscopia óptica de difusão*. Campinas, SP : [s.n.], 2014.

5 – Hall, Eric & Giaccia, Amato J. *Radiobiology for the Radiologist.* 6ª edição. *Lippincot Williams & Wilkins*. 2006, 576 páginas.

6 – Carvalho, Hernandes F. & Recco-Pimentel, Shirlei M. *A célula.* 3ª edição. Editora *Manole Ltda.* 2013.

7 – R. C. Mesquita and A. G. Yodh. *Diffuse optics: Fundamentals and tissue applications*. In R. Kaiser, D. S. Weirsma, and L. Fallini, editors, Proceedings of the International School of Physics "Enrico Fermi" Course CLXXIII "Nano Optics and Atomics: Transport of Light and Matter Waves, volume 173, pages 51-74, 2011.

8 – Obrig, Hellmuth & Steinbrink, Jens. *Review: Non-invasive optical imaging of stroke*. Philosophical Transactions of the Royal Society, 2011.

9 – Smith, Martin. *Review: Shedding light on the adult brain: a review of the clinical applications of nearinfrared spectroscopy*. Philosophical Transactions of the Royal Society, 2011.

10 – Kittel, Charles. *Introdução à Física do Estado Sólido.* 8ª edição. Editora *LTC*. 2006, 598 páginas.

11 – Reif, Frederick (1956). *Fundamental os Statistical and Thermal Physics.* 1ª edição. *Waveland Press*. 2009, 651 páginas.