



# CARACTERIZAÇÃO DA MUDANÇA DO COEFICIENTE DE ATENUAÇÃO ASSOCIADO AO USO DE PRESSÃO MECÂNICA E AGENTES CLAREADORES ÓPTICOS ATRAVÉS DE TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA (OCT)

*Characterization of the change in the attenuation coefficient associated with the use of mechanical pressure and optical brightening agents through optical coherence tomography (OCT)*

## RESUMO

A tomografia por coerência óptica (OCT) é uma técnica de imagem não invasiva utilizada para avaliar propriedades ópticas e estruturais de tecidos biológicos. Este estudo realizou uma revisão da literatura para estabelecer o melhor protocolo para estudo da alteração do coeficiente de atenuação da pele utilizando a técnica OCT quando utilizado diferentes níveis de compressão e a diferentes agentes clareadores ópticos (OCA). Na literatura, pressões de 4 a 8 kPa reduziram o coeficiente de atenuação, aumentando a penetração da luz no tecido. Ainda na literatura foram identificado diversos OCA, como PEG-400 e óleo mineral, com boa capacidade de modificar o coeficiente de atenuação óptica da pele, mostrando eficácia ao substituir água intersticial e modificar o índice de refração dos tecidos. Assim, o modelo experimental desenvolvido utiliza pele de porco devido à sua similaridade estrutural e funcional com a pele humana, associado a um sistema OCT modificado para aplicação de pressão, e diferentes formulações de OCA. O protocolo aqui descrito será utilizado para medição e comparação direta de diferentes métodos para modificação do coeficiente de atenuação.

**Palavras-chave:** Tomografia por coerência óptica; OCT; Pressão mecânica; Coeficiente de atenuação óptica; Agentes Clareadores Ópticos.

## ABSTRACT

Optical Coherence Tomography (OCT) is a non-invasive imaging technique used to assess the optical and structural properties of biological tissues. This study conducted a literature review to establish the best protocol for studying changes in the skin's attenuation coefficient using OCT under different compression levels and with various optical clearing agents (OCA). In the literature, pressures of 4 to 8 kPa were found to reduce the attenuation coefficient, thereby increasing light penetration into the tissue. Additionally, several OCAs, such as PEG-400 and mineral oil, were identified as effective in modifying the skin's optical attenuation coefficient by replacing interstitial water and altering the refractive index of tissues. The experimental model developed employs porcine skin due to its structural and functional similarity to human skin, combined with a modified OCT system for pressure application and various OCA formulations. The protocol described here will be used for measuring and directly comparing different methods for modifying the attenuation coefficient.

**Keywords:** Optical Coherence Tomography; OCT; Mechanical Pressure; Optical Attenuation Coefficient; Optical Clearing Agents.

**J.N.S. Oliveira**

ORCID: 0000-0002-8483-8809

Universidade Brasil, São Paulo, SP, Brasil

**M.M. Amaral \***

ORCID: 0000-0002-9962-5646

Universidade Brasil, São Paulo, SP, Brasil

*\*Autor correspondente*

*marcello.magri@universidadebrasil.edu.br*

## 1 INTRODUÇÃO

A técnica de tomografia por coerência óptica (OCT, do inglês *Optical Coherence Tomography*) tem sido utilizada como uma ferramenta de diagnóstico não invasivo baseada nas propriedades



ópticas do meio espalhadores <sup>1</sup>. Ela utiliza a interferometria de baixa coerência, que permite a obtenção de imagens tridimensionais de alta resolução de tecidos biológicos. Introduzida em 1991 <sup>2</sup>, para aquisição de imagens em seção transversal não invasivas de sistemas biológicos, e desde então, o sistema evoluiu e se tornou bem estabelecido na medicina, especialmente no campo da oftalmologia. A OCT baseia-se na propriedade de retroespalhamento dos meios para construir imagens tomográficas do interior das amostras. Na literatura, observa-se que a técnica vem se desenvolvendo com o objetivo de extrair características ópticas dos tecidos como por exemplo a técnica OCT sensível à polarização (PS-OCT <sup>3</sup>) explorando as propriedades de birrefringência dos tecidos, principalmente o colágeno, e algumas características funcionais como o fluxo sanguíneo utilizando a speckle variance OCT (SV-OCT <sup>4</sup>) e Doppler OCT <sup>5</sup>.

Utilizando as imagens OCT é possível estimar o que se conhece como coeficiente de atenuação através da aplicação da lei de Beer-Lambert sobre o sinal medido. Este parâmetro é de extrema relevância em diversas aplicações, como para diagnóstico de câncer, ou detecção de cáries. No entanto, outra área, como a fotobiomodulação, podem se beneficiar da medição do coeficiente de atenuação. Nas fototerapias (FT), a luz tem de penetrar camadas superficiais de tecido até atingir camadas alvo mais profundas. Assim, o coeficiente de atenuação óptico do tecido apresenta um grande papel neste processo.

A alteração do coeficiente de atenuação é algo de diversos estudos, pois pode beneficiar tanto técnicas de imagem como o OCT, quanto técnicas de tratamento como a FT. Na FT uma prática comum é aplicar pressão sobre a superfície do tecido irradiado para que a luz atinja camadas mais profundas de tecido. A influência da pressão sobre a alteração do coeficiente de atenuação foi estudada e demonstrou-se que a pressão mecânica reduz o coeficiente de atenuação na região do infravermelho <sup>6-8</sup>. Já para melhoria de imagem OCT, diversas abordagens utilizando o que se conhece como agentes clareadores ópticos (OCA – do inglês Optical Clearing Agentes) <sup>9</sup>. Ambas as abordagens nunca foram comparadas diretamente e nem combinadas.

Desta forma, o presente trabalho visa realizar uma revisão da literatura para se estabelecer um protocolo para estudo da alteração do coeficiente de atenuação utilizando a técnica OCT e investigar as alterações no coeficiente de atenuação da pele submetida a diferentes níveis de compressão e a diferentes OCA.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS



As plataformas PubMed e Google Scholar foram utilizadas para análise exploratória e identificação dos trabalhos que utilizam a técnica OCT, associadas ao uso de pressão mecânica para alteração do coeficiente de atenuação, e associada ao uso de OCA seguros para uso em pele humana.

Os artigos encontrados foram filtrados de acordo com a relevância dentro do tema e lidos para obtenção do melhor protocolo a ser estabelecido. Foram incluídos trabalhos de revisões, artigos experimentais e casos clínicos condizentes com a temática do estudo, escritos nos idiomas português, espanhol e inglês, publicados entre os anos de 2000 e 2024. Foram excluídos da amostra artigos referentes ao OCT associados a outros recursos adicionais que não fossem compressão e OCA para imagens de pele.

Com base nas informações obtidas, o procedimento experimental para obtenção das imagens OCT sob efeito de compressão e aplicação dos OCA foram estabelecidos. E estão apresentados na seção de resultados deste trabalho. Um teste piloto do aparato experimental é também apresentado.

### 3 RESULTADOS

#### **Pressão mecânica sobre a pele**

Na literatura, foram encontrados apenas dois trabalhos que medem a alteração do coeficiente de atenuação da pele sob o efeito de pressão mecânica exercida sobre a superfície do extrato córneo utilizando o OCT<sup>6-8</sup>.

Nesses trabalhos, os autores identificaram que a utilização de pressões da ordem de 4 a 8 kPa formam suficientes para aumentar a penetração da luz diminuindo o coeficiente de atenuação de  $1 \text{ mm}^{-1}$ . Pode-se considerar que esta é uma pressão baixa, referente a uma massa  $< 0,5 \text{ kg}$  de aplicada sobre uma área de  $25 \times 25 \text{ mm}^2$ .

Desta forma, foi estabelecido um protocolo que aplica pressões menores de 3 kg sob uma área de  $25 \times 25 \text{ mm}$ .

#### **OCA**

Zaytsev et al<sup>10</sup> utilizaram, PEG-400 e óleo mineral (OM) como OCA e ácido oleico (AO) melhorador de permeabilidade cutânea. Eles reportaram que o PEG-400 possui a desvantagem de desidratar a pele, o que pode levar a uma mudança morfológica do tecido. Wen et al<sup>11</sup> reportaram o uso de PEG-400 mas desta vez com o uso de propanodiol (1,2-propanediol) como melhorador de



permeabilidade cutânea. Guo et al <sup>12</sup> utilizaram o uma mistura de PEG-400 e frutose como OCA e tiazona como melhorador de permeabilidade cutânea. No entanto a tiazona é um ingrediente controverso para uso em pele humana, além de ser um produto de difícil comercialização no Brasil. Outros melhoradores de permeabilidade cutânea também podem ser utilizados, como o dimetilsulfóxido (DMSO) <sup>13</sup>.

Assim, foi estabelecido o uso das formulações de OCA apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Formulações de agentes clareadores ópticos

	<b>Formulação</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>1</b>	Ácido Oleico (AO)	100
<b>2</b>	PEG-400	100
<b>3</b>	PEG-400/AO	80/20
<b>4</b>	Oleo Mineral	100
<b>5</b>	PEG-400/ Propanodiol	95/5
<b>6</b>	Frutose saturada (78 wt)/ PEG-400/ Propanodiol	55/40/5

## Modelo Experimental

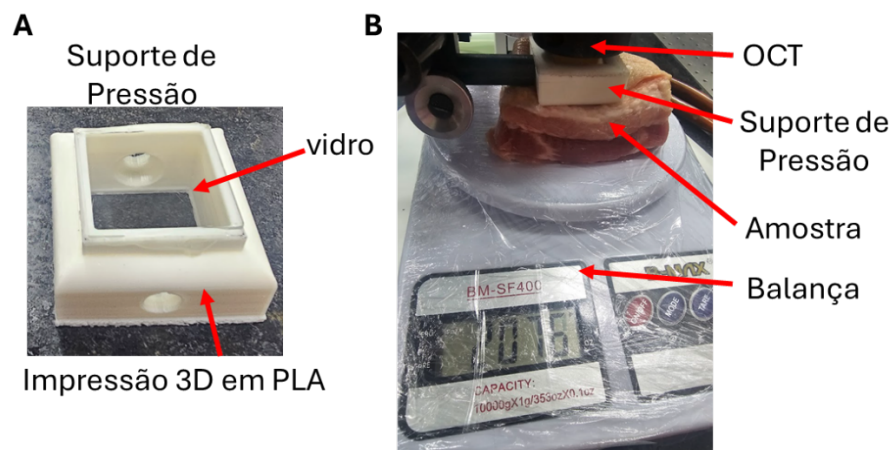
Uma forma de se aproximar da pele humana para testes de protocolos, sem a necessidade da obtenção de amostras de pele humana e pela utilização de pele de porco. A pele de porco, com sua similaridade estrutural e funcional à da pele humana, emerge como uma ferramenta valiosa em diversas áreas da pesquisa científica. Sua acessibilidade e baixo custo, podendo ser facilmente encontrada em açougues, a tornam ideal para estudos que buscam simular condições da pele humana com fidelidade e precisão <sup>14,15</sup>. A utilização da barriga de porco para simular a pele humana em experimentos científicos é uma prática comum em diversas áreas de pesquisa, como dermatologia, cirurgia plástica e engenharia de tecidos.

## Sistema OCT

Para a realização destes estudos, foi estabelecido o uso do sistema OCT (XR/2.0, Lumedica, USA) que opera na faixa de comprimento de onda central de 840 nm, e oferece resolução de ~5 µm. Para aplicação de pressão simultaneamente à aquisição das imagens OCT, o sistema de suporte foi

modificado para compor um “suporte de pressão”. Este suporte de pressão (Fig 1A), foi desenvolvido e impresso em impressora 3D utilizando filamento de PLA. A seguir uma lâmina de microscópio foi cortada e colada sobre este suporte, criando uma janela de 25 x 25 mm<sup>2</sup>, permitindo a aplicação de pressão constante sob esta área e a obtenção de imagens OCT simultaneamente. Para medição da força exercida sobre a amostra de pele, e posterior cálculo da pressão, foi utilizada uma balança posicionada sob a amostra de pele de porco (Fig 1B). A força exercida é controlada realizando-se mais ou menos pressão entre o suporte de pressão e a balança.

**Figura 1:** Modificação do suporte do sistema OCT para aplicação de pressão sobre as amostras de pele. (A) Suporte de pressão impresso em PLA com impressão 3D com uma lâmina de microscópio de 25 x 25 mm<sup>2</sup> formando uma janela para aquisição de imagem sob aplicação de pressão. (B) Aparato experimental para obtenção de imagens sob aplicação de pressão, o suporte de pressão exerce pressão sobre a amostra de pele, e a força aplicada é medida pelo uso de uma balança.



Fonte: Autoria própria

## Procedimento Experimental

Amostras de pele de porco, adquiridas em um açougue, são acondicionadas em recipientes herméticos e armazenadas sob refrigeração até o momento da realização dos experimentos. As amostras de carne de porco são cuidadosamente limpas e secas antes de serem utilizadas.

Para o experimento de **pressão mecânica**, a amostra de pele é posicionada entre o suporte com a janela de vidro e a balança. Uma força de compressão é aplicada à amostra através e aferida com a utilização da balança (Fig. 1 B).

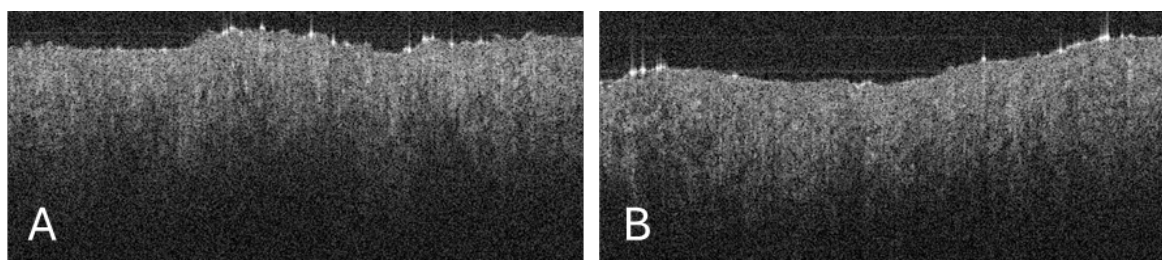
Imagens de OCT são adquiridas com a aplicação de diferentes magnitudes da força de compressão, iniciando com 3 kg e variando-se de 0,5 kg até atingir 1 kg, para valores menores que 1 kg a variação é de 0,1 kg. Para cada condição de compressão, novas imagens são imagens.

Este procedimento e o uso do suporte construído visa garantir uma pressão uniforme em toda a região de contato vidro-pele sem afetar a distribuição de pressão na região central da área de contato.

Medimos a área de contato pele-vidro ( $25 \times 25 \text{ mm}^2$ ) é possível determinar a compressão aplicada.

A Fig. 2 A e B apresenta um exemplo de imagem OCT adquirida sem aplicação de pressão e com aplicação de pressão, respectivamente.

**Figura 2:** Exemplo de imagem OCT adquirida sem (A) e com (B) utilização de pressão mecânica



Fonte: Autoria própria

Para o experimento utilizando-se **OCA**, a amostra de pele dividida em pequenas seções de  $50 \times 50 \text{ mm}^2$ . Em cada seção é aplicado um OCA (de acordo com a tabela 1), e uma leva massagem é realizada por 3 min. Após este período, o excesso de produto (caso ainda exista) é removido com o uso de papel absorvente e a amostra é posicionada sob o sistema OCT. A janela de vidro utilizada no experimento de pressão e mantida no local, possibilitando futuras comparações, no entanto sem aplicação de pressão. Imagens OCT são adquiridas com intervalos de 0, 3, 5, 7 e 10 min após o início do experimento. Isso permite o estudo da cinética do OCA.

Finalmente, o uso associado de pressão mecânica com OCA é realizado. O procedimento realizado na etapa de OCA puro é repetido e as medidas são realizadas sob a aplicação de diversos níveis de pressão.



## 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi identificado o melhor protocolo para utilização de compressão mecânica e os melhores OCA para aplicação em pele. Ainda, foi identificado que para um estudo prospectivo, o uso de modelo de pele de porco é adequado devido à sua similaridade estrutural e funcional à da pele humana, permitindo a realização de experimento mantendo um baixo custo. Neste trabalho foi ainda descrito o protocolo a ser seguido para comparação direta entre a alteração do coeficiente de atenuação obtido pelo uso da compressão mecânica e OCA sozinhos ou associados.

Ao aplicar pressão, a variação do coeficiente de atenuação óptica em função da compressão pode ser explicada por fatores como a espessura das camadas da pele, a heterogeneidade do tecido e o ângulo de incidência do feixe de luz. Essa abordagem destaca o potencial da OCT como uma ferramenta não invasiva para avaliar as propriedades ópticas e mecânicas da pele. A capacidade de medir alterações no coeficiente de atenuação em resposta à compressão abre novas possibilidades para o desenvolvimento de técnicas inovadoras de diagnóstico e monitoramento de condições cutâneas, como feridas crônicas e tumores de pele.

Já no caso dos OCA, o efeito de alteração do coeficiente de atenuação se dá devido a substituição da água do interstício pelo OCA. Essa substituição aproxima o índice de refração do tecido ao índice de refração dos lipídios que causam o espalhamento. Esse efeito reduz o espalhamento do tecido pelo efeito conhecido como index matching.

É fundamental reconhecer as limitações do modelo de pele de porco e a necessidade de validação dos resultados em estudos com tecido humano. Além disso, a influência de outros fatores, como a temperatura e a umidade, sobre o coeficiente de atenuação deve ser investigada em futuros estudos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa PROSUP de mestrado de J.N. Oliveira. Ao IPEN, que cedeu o laboratório que possibilita a realização da pesquisa, e a FAPESP (projeto nº 2017/21851-0) pelo suporte financeiro.

## CONFLITO DE INTERESSE

Os autores negam qualquer conflito de interesse.



## REFERÊNCIAS

1. Freitas AZD, Amaral MM, Raele MP. Optical Coherence Tomography: Development and Applications. Em: F. J. Duarte, organizador. *Laser Pulse Phenomena and Applications* [Internet]. IntechOpen; 2010. p. 409–32. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/laser-pulse-phenomena-and-applications/optical-coherence-tomography-development-and-applications>
2. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991;254:1178–81. DOI: 10.1126/science.1957169
3. Sakai S, Nakagawa N, Yamanari M, Miyazawa A, Yasuno Y, Matsumoto M. Relationship between dermal birefringence and the skin surface roughness of photoaged human skin. *Journal of Biomedical Optics*. 2009;14:044032. DOI: 10.1117/1.3207142
4. Mahmud MS, Cadotte DW, Vuong B, Sun C, Luk TWH, Mariampillai A, et al. Review of speckle and phase variance optical coherence tomography to visualize microvascular networks. *J Biomed Opt*. 2013;18:50901. DOI: 10.1117/1.JBO.18.5.050901
5. Latrive A, Teixeira LRCC, Gomes ASLL, Zezell DM. Characterization of skin Port-Wine Stain and Hemangioma vascular lesions using Doppler OCT. *Skin Research and Technology*. 2016;22:223–9. DOI: 10.1111/srt.12253
6. Bachour RP de S, Dominguez CT, Cardoso GC. Optical attenuation coefficient of skin under low compression. *J Opt Soc Am A, JOSAA*. 2023;40:955–60. DOI: 10.1364/JOSAA.482664
7. Souza RP de, Dominguez CT, Bachmann L, Cardoso GC. Mechanical pressure to reduce skin attenuation coefficient for infrared light. *in: Proceedings of the 2022 Conference on Lasers and Electro-Optics Pacific Rim, Technical Digest Series*. Disponível em: [https://opg.optica.org/abstract.cfm?uri=cleopr-2022-CThP17F\\_05](https://opg.optica.org/abstract.cfm?uri=cleopr-2022-CThP17F_05)
8. Su Y, Yao XS, Wei C, Wang Y, Wang H, Li Z. Determination of the Pressure Coefficient of Optical Attenuation in Different Layers of In-Vivo Human Skins With Optical Coherence Tomography. *IEEE Photonics Journal*. 2016;8:1–10. DOI: 10.1364/BOE.6.000500
9. Varaka M, Vardaki MZ, Gaitanis G, Bassukas ID, Kourkoumelis N. The Effect of Different Optical Clearing Agents on the Attenuation Coefficient and Epidermal Thickness of Human Skin Assessed by Optical Coherence Tomography. *Applied Sciences*. 2022;12:8277. DOI: 10.3390/app12168277
10. Zaytsev SM, Svenskaya YI, Lengert EV, Terentyuk GS, Bashkatov AN, Tuchin VV, et al. Optimized skin optical clearing for optical coherence tomography monitoring of encapsulated drug delivery through the hair follicles. *Journal of Biophotonics*. 2020;13:e201960020. DOI: 10.1002/jbio.201960020.





11. Wen X, Jacques S, Tuchin V, Zhu D. Enhanced optical clearing of skin in vivo and optical coherence tomography in-depth imaging. *J Biomed Opt.* 2012 Jun;17(6):066022. DOI: 10.1117/1.JBO.17.6.066022. PMID: 22734778.
12. Guo L, Shi R, Zhang C, Zhu D, Ding Z, Li P. Optical coherence tomography angiography offers comprehensive evaluation of skin optical clearing in vivo by quantifying optical properties and blood flow imaging simultaneously. *J Biomed Opt.* 2016;21:081202. DOI: 10.1117/1.JBO.21.8.081202.
13. Gallwas J, Stanchi A, Ditsch N, Schwarz T, Dannecker C, Mueller S, et al. Effect of optical clearing agents on optical coherence tomography images of cervical epithelium. *Lasers in Medical Science.* 2015;30:517–25. DOI: 10.1007/s10103-014-1674-5.
14. Khiao In M, Richardson KC, Loewa A, Hedtrich S, Kaessmeyer S, Plendl J. Histological and functional comparisons of four anatomical regions of porcine skin with human abdominal skin. *Anatomia, Histologia, Embryologia.* 2019;48:207–17. DOI: 10.1111/ahc.12425.
15. Summerfield A, Meurens F, Ricklin ME. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. *Molecular Immunology.* 2015;66:14–21. DOI: 10.1016/j.molimm.2014.10.023.