



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102016021204-9 A2

(22) Data do Depósito: 14/09/2016

(43) Data da Publicação: 03/04/2018



* B R 1 0 2 0 1 6 0 2 1 2 0 4 A

(54) **Título:** SISTEMA PARA ESTUDOS E ANÁLISES EM BIOFOTÔNICA, FOTOBIOLOGIA E FOTOMEDICINA

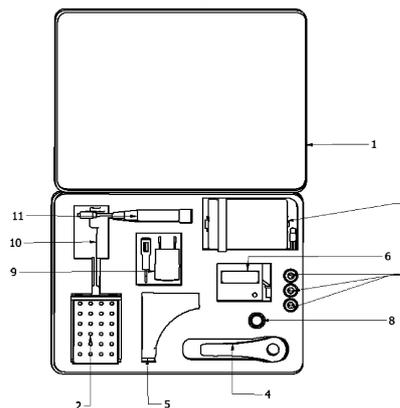
(51) **Int. Cl.:** G01N 21/64; G01N 21/01; G01N 21/03; A61N 5/06

(52) **CPC:** G01N 21/6486, G01N 2021/015, G01N 2021/0357, A61N 2005/0651

(73) **Titular(es):** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP

(72) **Inventor(es):** VANDERLEI SALVADOR BAGNATO; BRUNO PEREIRA DE OLIVEIRA; CLÓVIS GRECCO; FERNANDA MANSANO CARBINATTO

(57) **Resumo:** A presente invenção refere-se a um sistema para estudos e análises em biofotônica, fotobiologia e fotomedicina, que, com autonomia e portabilidade, permite realizar uma série de experimentos in vitro e/ou in vivo sobre a interação da luz com substratos biológicos. Entre as potenciais aplicações de técnicas ópticas possibilitadas com o uso do presente sistema, cabem citar: a detecção de lesões ocultas, a detecção precoce de lesões malignas, a delimitação de margens da lesão, o auxílio na escolha do sítio de biópsia e o monitoramento de respostas terapêuticas.



**SISTEMA PARA ESTUDOS E ANÁLISES EM BIOFOTÔNICA,
FOTOBIOLOGIA E FOTOMEDICINA**

Campo da invenção:

[001] A presente invenção se insere nos campos dos estudos e análises relacionados à biofotônica, fotobiologia e fotomedicina, especificamente, experimentos *in vitro* e/ou *in vivo* sobre a interação da luz com substratos biológicos.

Fundamentos da invenção:

[002] Grandes avanços tecnológicos ocorreram no século XX, e um deles foi a fotônica, que utiliza fótons ao invés de elétrons para transmitir, processar e armazenar informações. Na década de 1960, a invenção do laser foi algo revolucionário que criou muitas possibilidades de pesquisa e aplicações.

[003] A biofotônica tem sua origem na fusão da fotônica e da biologia, e lida com a interação da luz com a matéria biológica. Dentre os maiores impactos da biofotônica na saúde, pode-se citar o diagnóstico óptico e as fototerapias (terapias ativadas ou guiadas por luz). Apesar de grandes avanços nesta área terem surgido no século XX, a natureza usa a biofotônica como princípio básico da vida desde o começo, pois os fótons são necessários no processo da fotossíntese, tão fundamental à vida na Terra.

[004] A utilização da luz para uso nas ciências da vida está presente desde a infância das pessoas. Esta grande revolução está apenas começando e, portanto, é o momento ideal para formar cientistas e profissionais nesta área.

[005] Os lasers de alta potência ou cirúrgicos já são utilizados pela medicina e odontologia há algumas décadas, especialmente para a realização de cortes ou eliminação de

cálculos com pulsos de luz. Lasers de baixa potência em comprimentos de onda específicos podem ser usados para acelerar o processo de cicatrização de úlceras, diminuir edemas ou reduzir dores em articulações.

[006] Mais recentemente, outra revolução na óptica tem ganhado destaque: o desenvolvimento do LED (*Light Emitting Diode*) de alta potência. Os LEDs são pequenos emissores de luminosidade que têm seu funcionamento baseado na emissão de luz quando ocorre a movimentação de carga elétrica em um material semicondutor. Dependendo do material semicondutor no qual o LED é construído, pode-se conseguir uma variedade de comprimentos de onda e até mesmo a emissão de luz branca. Fontes de luz LED são tão eficientes quanto as lâmpadas fluorescentes, contudo, possuem a vantagem de serem mais práticas, terem maior duração, além de que são materiais que não possuem elementos poluentes, como o vapor de mercúrio, por exemplo. Além disso, LEDs podem ser construídos em diferentes tamanhos, podendo ser posicionados em diversos arranjos, o que lhes confere uma grande quantidade de aplicações, incluindo, aplicações na área da saúde.

[007] A formulação de diferentes comprimentos de onda da luz é capaz de atingir diferentes profundidades da pele. A energia da luz é absorvida em certas células alvo em diferentes camadas da pele. Desta forma, a luz é então convertida em calor, que danifica as células-alvo, tornando-as incapazes de desempenhar a sua função normal, promovendo a renovação celular em camadas específicas. Esta ação é limitada diretamente ao local de destino na pele, de modo que outras partes circundantes não são afetadas.

[008] Uma das técnicas terapêuticas que vem chamando muito atenção é a Terapia Fotodinâmica (TFD), uma técnica que utiliza a interação da luz, uma solução fotossensível (FS) e o oxigênio molecular (O_2) presente nas células. Quando luz em comprimento de onda adequado é utilizada, o FS é excitado para um nível de maior energia, que é transferida para o O_2 , fazendo com que este O_2 se transforme em oxigênio singlete ou transfira elétrons para moléculas do substrato, gerando moléculas altamente reativas, causando danos biológicos e provocando a morte de microrganismos ou células. A TFD tem se mostrado uma modalidade clínica promissora para o tratamento de câncer de pele, micoses, infecções bacterianas ou fúngicas, para a descontaminação de feridas, rejuvenescimento facial, descontaminação bucal e outros casos.

[009] Como é possível perceber, a biofotônica é uma área multidisciplinar e interdisciplinar, cujo avanço depende da exploração, do empenho e do conhecimento de profissionais, tanto das ciências exatas, quanto das ciências biológicas, o que torna as pesquisas na área amplas e em campo abrangente. Dentre os campos despertados pelo estudo da biofotônica, cabe citar: o desenvolvimento de novos fármacos; o desenvolvimento de novas técnicas de imagem e biossensores; os processos ópticos para diagnóstico e terapias; as fontes de luz mais eficientes e compactas; os mecanismos celulares; a análise da toxicidade de materiais fotoativáveis; os estudos clínicos utilizando sistemas de imagens ópticas; os estudos clínicos de terapia fotodinâmica para o câncer, entre outros.

[010] A biofotônica, desta forma, se aplica a

diagnóstico e tratamento de doenças, incluindo o câncer, sendo um importante avanço nas áreas da saúde. Inclusive, são previstas formas de utilização da luz para manipular biomoléculas em escalas micrométricas ou até mesmo nanométricas, possibilitando o tratamento ou o reparo de anomalias diretamente no interior da célula, em seu núcleo ou outra organela.

[011] Um parâmetro importante para a dosimetria em terapia fotodinâmica e fototerapia, é a medida da intensidade luminosa (em unidades de W/cm^2) emitida pela fonte de luz, que pode variar de acordo com a aplicação em questão.

Estado da técnica:

[012] O documento CN103789207A descreve um aparelho para experimentos celulares em terapia fotodinâmica, em que sua função é otimizar as condições de atuação do laser com um controle da base magnética e um instrumental que analisa o sinal usado para mostrar a intensidade e a saída do sinal. Para tanto, o aparelho compreende uma fonte de emissão laser, uma câmara de transmissão do laser de análise do sinal e um suporte. Muito embora o referido equipamento se destine a análises em terapia fotodinâmica, a forma com a qual utiliza os experimentos difere completamente da proposta do sistema revelado na presente invenção, especialmente porque não prevê o controle de propriedades magnéticas e um display no qual quantifica e mostra o sinal recolhido do laser emissor.

[013] O documento US201204826A cita kits e dispositivos para serem utilizados em análises, possibilitando detecção sensível e específica, ao mesmo tempo em que sua operação

é manual e seu sistema é de baixo custo e complexidade. Contudo, o kit é uma constituição de amostras para análises clínicas, industriais e ambientais, não possuindo aplicação em estudos e também não apresentando a possibilidade de montagem de vários experimentos paralelos e/ou simultâneos ocorrendo uma aplicabilidade divergente a esta referida patente, a qual tem o foco de ser um sistema (kit) educativo e um conjunto de sistemas que tem possibilidade de realizar experimentos científicos em locais sem infraestrutura básica ou mesmo em lugares com uma qualidade desejável.

[014] No documento US2013034863A é descrito um aparato experimental para a detecção de um indicativo de biomarcador em condições inflamatórias, em que faz se necessária a utilização de um tubo capilar, o que diferencia sua descrição, na íntegra, da presente invenção.

[015] O documento CA2444413 refere-se a um sistema econômico e portátil, utilizado na geração de imagens visíveis, fazendo uso de um laser para determinar fluorescência em tecidos naturais, auxiliando no diagnóstico de câncer. No entanto, o equipamento utiliza conjuntos ópticos e uma fonte de laser para construção de uma imagem de fluorescência ou autofluorescência da amostra, não sendo esse o escopo defendido na presente invenção.

[016] O documento CN105548178A descreve um tratamento analítico de fluorescência a partir de kits de diagnóstico médico. A invenção busca soluções para ir além de resultados qualitativos, buscando quantificar parâmetros desejados por um médico. Refere-se diretamente a um kit de fluorescências de diagnóstico médico que contém uma

armadilha para que a leitura da amostra ocorra. Sua configuração construtiva e aplicabilidade não têm o mesmo foco da presente invenção, especialmente pela configuração ser diferente dos equipamentos compreendidos pelo sistema da presente invenção e pelo princípio de funcionamento mencionado no documento CN105548178A ser estritamente fotoquímico.

[017] O documento MU9000609-7U2 faz referência a um aparelho em estrutura única, sendo um aparelho de mão para diagnóstico óptico por fluorescência que não apresenta característica de um KIT e sim um sistema especificamente desenvolvido para tratamento fotônico de câncer, ou ainda, controle microbiológico, de outros tipos de câncer e lesões. No entanto, é puramente um equipamento de diagnóstico óptico, não atingindo o que é objetivado no sistema presente invenção, com o qual se tem a possibilidade de propiciar uma base introdutória para iniciantes e/ou experientes em locais com ou sem estrutura laboratorial, que possui outros elementos e, inclusive, o equipamento revelado no documento MU9000609-7U2 poderia ser utilizado como um dos componentes do sistema proposto, sem no entanto, afetar a novidade do pedido ora pleiteado.

[018] No documento WO15198373A1 são proporcionadas condições apropriadas em fonte de luz, de modo a melhorar as medições em Biofotônica com o princípio baseado no infravermelho próximo em espectroscopia com um módulo incluso de foto detecção e um controle para correlacionar as unidades de aquisição. O sistema compreende, essencialmente, unidade fotodetectora, fonte de luz. No entanto, embora o referido documento relate o uso de

infravermelho próximo, a presente invenção tem seu escopo nos princípios de fotoquímica e terapia fotodinâmica, em que se emprega a utilização da luz in vitro/in vivo, diferenciando, em totalidade, das propostas das invenções comparadas.

[019] O documento MU9000609-7U2 faz referência a um dispositivo que conjuga, em um equipamento de mão, uma parte diagnóstica óptica por fluorescência e outra parte para tratamento fotônico de câncer de pele. No entanto, trata-se puramente de evidenciador óptico para análise e acompanhamento dos experimentos realizados, que poderia, em uma modalidade, ser utilizado como um dos componentes do sistema da presente invenção.

[020] O documento PI0701439-2 descreve um dispositivo utilizado em fotobiologia na ativação microbiológica e fotoquímica como agente fungicida, à base de LEDs, gerando uma uniformidade de iluminação, juntamente com monocromaticidade, permitindo utilizar placas com múltiplos poços para cultura de células. O pedido em tela distingue-se daquele documento, pois apresenta como característica construtiva o desenvolvimento de um sistema de refrigeração constituído por uma placa de alumínio desenhada de forma a oferecer troca térmica (14), conforme é esquematizada na figura 3, com o trabalho conjunto com as aberturas presentes nas paredes (15) em que as trocas térmicas são feitas por meio de convecção advindas dos efeitos turbulentos dos escoamentos do fluido (ar) pelas aberturas que ocorre de forma ortogonal, em que é somada positivamente com a troca que ocorre com o fluido (água e fluido refrigerante) dentro dos tubos confeccionados

internamente (14) e possibilitando assim uma troca por convecção não forçada em sua estrutura. Esta característica não é detalhada no documento anterior. Outro ponto a se atentar é que este sistema é projetado para um encaixe perfeito de uma placa de multipoços sendo fixada pelas paredes da estrutura do propósito da presente invenção, que reivindica um sistema autônomo que poderia, inclusive, ter o dispositivo descrito no documento PI0701439-2, como um de seus componentes.

Vantagens da invenção

[021] Objetivando solucionar as deficiências do estado da técnica, a presente invenção descreve um sistema para estudos e análises em biofotônica, fotobiologia e fotomedicina, que, com autonomia, permite realizar uma série de experimentos *in vitro* e/ou *in vivo* sobre a interação da luz com substratos biológicos, podendo ser utilizado por profissionais acadêmicos na área de ciências exatas e ciências biológicas, contribuindo para o aperfeiçoamento da educação, suprimindo a carência de equipamentos laboratoriais e práticas experimentais, recuperando a curiosidade nativa dos alunos, aflorando o seu interesse pela compreensão da natureza, estimulando a criatividade e motivando a descoberta científica. Ainda, sendo o sistema portátil e considerando a disposição simplificada de seus componentes em um único dispositivo para armazenamento e transporte, fica assegurada a proteção aos componentes opto-eletrônicos e uma veemente flexibilidade na utilização e experimentação aplicada no ensino ou mesmo pesquisas de vanguarda é observada.

Breve descrição da invenção:

[022] A presente invenção refere-se a um sistema para estudos e análises em biofotônica, fotobiologia e fotomedicina, que, com autonomia e portabilidade, permite realizar uma série de experimentos *in vitro* e/ou *in vivo* sobre a interação da luz com substratos biológicos. Entre as potenciais aplicações de técnicas ópticas possibilitadas com o uso do presente sistema, cabem citar: a detecção de lesões ocultas, a detecção precoce de lesões malignas, a delimitação de margens da lesão, o auxílio na escolha do sítio de biópsia e o monitoramento de respostas terapêuticas.

Breve descrição das figuras:

[023] Para obter total e completa visualização do objeto desta invenção, são apresentadas as figuras as quais se faz referências, conforme se segue:

[024] A Figura 1 é uma representação gráfica dos componentes do sistema da presente invenção.

[025] A figura 2 é uma representação gráfica de um dispositivo de teste em placas multipoços (2) utilizado na presente invenção.

[026] A Figura 3 é uma representação gráfica do controlador do dispositivo de teste em placas multipoços (2) utilizado na presente invenção.

[027] A Figura 4 é uma representação gráfica de um evidenciador por fluorescência (5) utilizado na presente invenção.

[028] A Figura 5 é uma representação gráfica do medidor de potência com a ponteira de fotodiodo da presente invenção.

[029] A Figura 6 é uma representação gráfica da base

universal das ponteiros LED (11) utilizada na presente invenção.

[030] A Figura 7 é uma representação gráfica da ponteira de iluminação construída de LEDs utilizada na presente invenção.

Descrição detalhada da invenção:

[031] A presente invenção refere-se a um sistema para estudos e análises em biofotônica, fotobiologia e fotomedicina, que, com autonomia e portabilidade, permite realizar uma série de experimentos *in vitro* e/ou *in vivo* sobre a interação da luz com substratos biológicos.

[032] Para tanto, o referido sistema pode ser visualizado na Figura 1 e compreende:

- uma maleta (1) de segurança e armazenagem do sistema;
- um dispositivo de teste em placas multipoços (2);
- uma fonte de energia do dispositivo de teste em placas multipoços (3);
- um evidenciador por fluorescência (4);
- uma fonte de energia do evidenciador por fluorescência (5);
- um medidor de intensidade (6) para dispositivo de teste em placas multipoços (2) e conjunto de ponteiros LED (7);
- um conjunto de ponteiros com LED (7) nos comprimentos de ondas 450nm, 600nm e 630nm;
- uma ponta de plástico para o evidenciador (8) utilizada na análise de uma área;
- um conjunto de fontes elétricas (9) para carregador do evidenciador (4) e do conjunto de ponteiros LED (7);
- um ponto de disposição dos cabos e conectores (10) do

conjunto de ponteiras LED (7) e do dispositivo de teste em placas multipoços (2);

- uma base para a conexão de ponteiras e botão de acionamento (11).

[033] O dispositivo de teste em placas multipoços (2), representado graficamente na figura 2, é utilizado principalmente em estudos *in vitro* de terapia fotodinâmica (TFD) e fototerapia. Permite estudar microrganismos, células ou substâncias fotossensíveis. É um dispositivo utilizado para a realização de testes em placas multipoços. Para tanto, o referido dispositivo de teste em placas multipoços (2) compreende:

- refletor de plástico (12), de aparência fosca de cor branca para encaminhamento da luz dos LEDs em direção à amostra em análise;

- um circuito de configuração (13), que está colocado entre um trocador de calor (14) e 24 LEDs RGB, comandando o funcionamento destes 24 LEDs de 24 poços dispostos no dispositivo de teste em placas multipoços (2);

- um trocador de calor (14), projetado com furos de escoamento circundando toda a estrutura interna de sua placa posicionada abaixo dos LEDs presentes nos multipoços (2);

- abertura de passagem de ar (15), possibilitando que haja a convecção do ar com os componentes eletrônicos;

- dois conectores para mangueira de entrada e saída de fluídos (16), na forma de engate rápido;

- adaptador de saída das ligações elétricas dos LEDs (17), com um determinado comprimento que pode variar de 30 a 60 cm;

- furos de fixação (18), que fixam a parte frontal com as laterais e a posterior do dispositivo de teste em placas multipoços (2), gerando pressão e não havendo necessidade de suporte para composição e configuração dos componentes presentes;

- placa multipoços (19), que possui preferencialmente 24 LEDs dispostos em simetria abaixo de 24 poços, os quais são utilizados nos experimentos.

[034] A constituição do dispositivo de teste em placas multipoços (2) e seu desenvolvimento partiu da necessidade de aprimoramento de características técnicas, bem como portabilidade, já que outros dispositivos com a mesma finalidade apresentavam excessivos componentes eletrônicos e sua refrigeração era feita por um sistema eletrônico chamado como *peltier*. Após o *peltier* eram adicionados aletas de refrigeração para dissipar o calor emitido pelo componente e ajudar na troca térmica por condução, sua estrutura era de alumínio no formato de uma torre com pés fixados na estrutura.

[035] Na idealização do sistema da presente invenção, o *peltier* deu lugar ao trocador de calor (14) elétrico, que é constituído de materiais condutores ou semicondutores e, através de uma corrente, gera um gradiente de temperatura entre seus lados opostos. Um destes lados emite calor e o outro recebe calor, o que proporciona a ação de resfriar quando está em contato, não permitindo o acréscimo da temperatura na amostra entre 3-5°C em relação à temperatura ambiente do experimento (calor advindo do conjunto de LEDs).

[036] A construção deste novo modelo de refrigeração,

pelo trocador de calor (14), que reduziu o tamanho e diminuiu custos para a confecção do dispositivo de teste em placas multipoços (2), fez uma reformulação no sistema de refrigeração. Primeiramente foi projetado e confeccionado um novo tipo de trocador de calor (14), neste caso, usando também a condução térmica, porém com um fluido refrigerante, que pode ser a água corrente de uma torneira, por exemplo. Para que ocorra a troca de calor pluga-se ao trocador de calor (14) conectores para mangueira de entrada e saída de fluídos (16), com água corrente ou mesmo outro sistema de circulação definido pelo utilizador.

[037] Os componentes LED do circuito de configuração (13) emitem calor na direção contrária da emissão da luz, fato este que justifica a necessidade de refrigeração do sistema. Desta forma, o procedimento de controle da temperatura contribui para não danificar os constituintes eletrônicos e não influenciar a temperatura dos experimentos realizados.

[038] Ainda, a fim de solucionar e minimizar este problema da temperatura elevada, foram feitas as aberturas de passagem de ar (15) varrendo toda a extensão lateral dos LEDs abaixo da placa multipoços (19), de forma a promover troca de calor por convecção, que pode ser natural, com a entrada do ar de um lado e saída do outro, retirando calor dos LEDs, ou, ainda, pela aplicação de correntes de ventos ortogonais à entrada de água presente na parte frontal do equipamento que pode ser fluido refrigerante ou água corrente, forçando assim uma maior retirada de calor dos LEDs.

[039] A montagem e integração das paredes laterais com

a frontal e a posterior é feita pelos parafusos fixados na junção da parte frontal com a lateral, interligando-as nos furos de fixação (18). Assim, é promovida uma pressão nas laterais do trocador, além da fixação da estrutura.

[040] As componentes eletrônicas do circuito dos LEDs, circuito de configuração (13), são controladas por duas fontes embutidas em uma caixa com um sistema de relê de liga e desliga (figura 3), que é interligada pelo adaptador de saída que varia de 30 a 60 cm em seu comprimento, contendo funcionamento em cores definidas podendo ser LEDs RGB ou de cores existente como exemplo, temos azul, vermelho, verde, branco, violeta, ultravioleta.

[041] A integração do dispositivo de teste em placas multipoços (2) com a fonte de energia do dispositivo de teste em placas multipoços (3) ocorre por meio de um controlador do dispositivo de teste em placas multipoços (2), conforme figura 3, que compreende:

- conector fêmea para transferência de energia da fonte (20);
- botões de funcionamento liga e desliga e controle da intensidade e cores (21) do dispositivo de teste em placas multipoços (2);
- caixa protetora do circuito interno para o perfeito funcionamento (22);
- entradas de ar (23), totalizando seis para refrigeração dos circuitos;
- cabo de energia de dois pinos (24).

[042] Nesta nova projeção, a separação entre a fonte de energia do dispositivo de teste em placas multipoços (3) e o dispositivo de teste em placas multipoços (2) foi

idealizada para aumento da praticidade e facilidade de trabalho.

[043] Desta forma, o controle das intensidades e das cores dos LEDs é feito via acionamento dos botões de funcionamento liga e desliga e controle da intensidade e cores (21) do dispositivo de teste em placas multipoços (2), onde, ao mesmo tempo em que controlam as intensidades por clique simples, os dois pressionados ligam e desligam o sistema.

[044] Outro ponto importante desta modificação é que se estes botões de funcionamento liga e desliga e controle da intensidade e cores (21) do dispositivo de teste em placas multipoços (2) fossem conectados nas laterais ou junto com os LEDs, causariam um desconforto óptico devido à emissão de luz. Afastando-se os botões como feito na presente invenção, aumenta-se o conforto óptico e também se garante maior segurança de trabalho, pois sendo uma altura menor, fica-se mais próximo à bancada de trabalho.

[045] Dentre a gama de possibilidades de estudos in vitro que podem ser conduzidos com este equipamento, estão:

- Inativação de microrganismos usando TFD, podendo ser testados diferentes FSs, doses de luz, intensidade de luz utilizada, tempo de irradiação, concentração de FS a ser usado e outros;

- Proliferação celular resultante da interação da luz com culturas de células;

- Investigação de soluções com moléculas fotossensíveis.

[046] Outra aplicação para o dispositivo de teste em placas multipoços (2) é em estudos com diferentes linhagens

celulares utilizando a técnica da TFD para a redução de células tumorais sem afetar as células saudáveis. Este estudo é bastante útil, uma vez que se pode determinar a seletividade da TFD com células saudáveis e células doentes. Além da seletividade, pode-se investigar a toxicidade dos FSs empregadas na TFD.

[047] O evidenciador por fluorescência (4), conforme figura 4, possibilita a visualização de imagens por fluorescência óptica. Esse equipamento consiste de um conjunto óptico (25) composto por um arranjo de LEDs, emitindo na região do azul do espectro eletromagnético, e por um conjunto de filtros ópticos que permite a visualização da fluorescência. Todo este conjunto forma uma peça de mão (27), que possibilita a observação direta da fluorescência no visor (30) que mostra a cor que está sendo medida e a intensidade de emissão dos poços em questão, tendo uma parte para conectar uma fonte elétrica para carregar energia (26).

[048] O evidenciador é um equipamento que pode auxiliar no diagnóstico seguro e não invasivo de diversos tipos de câncer e se faz necessário para que a pessoa que está realizando o aprendizado e os experimentos, possa realizar o acompanhamento e análise dos resultados obtidos.

[049] Uma vantagem do diagnóstico óptico é a possibilidade de resposta rápida, pois esse método é capaz de evidenciar, através da coleta *in situ*, diferenças entre o tecido sadio e o tecido tumoral, sendo que o tecido tumoral apresenta a fluorescência em um tom mais escuro que o tecido sadio. Outra vantagem, é que as técnicas ópticas proporcionam resultados de diagnósticos independentes da

habilidade e experiência do avaliador.

[050] Outras aplicações deste dispositivo, por exemplo, são o auxílio no diagnóstico de lesões neoplásicas e pré-malignas, como no diagnóstico do câncer de pele, na detecção do câncer bucal e outras patologias odontológicas, tais como, cáries incipientes, placa bacteriana, herpes labial, mucosite, aftas, existência de micro trincas nos dentes, retração gengival e desmineralização do esmalte dental.

[051] O diagnóstico por fluorescência leva em consideração a informação dos fluoróforos endógenos presentes no sítio da lesão, o que pode ser insuficiente para o diagnóstico. Uma alternativa é a utilização de marcadores fluorescentes, como por exemplo, o ácido aminolevulínico (ALA) e seus derivados, que são precursores na biossíntese do FS, Protoporfirina IX (PpIX). A PpIX acumula-se preferencialmente em regiões lesionadas, podendo ser evidenciada através da sua intensa fluorescência na região do vermelho.

[052] O processo óptico é composto por lentes e filtros que direcionam a luz de forma a possibilitar uma análise da fluorescência emitida pelo local, conforme foi descrito anteriormente, em que ocorre a emissão de uma fonte de luz em um determinado comprimento de onda e o tecido é absorvido e reflete outro comprimento de onda, de modo a possibilitar a realização de uma análise.

[053] A alimentação da parte do mencionado evidenciador se faz por uma bateria de Li-Ion recarregável, fonte de energia do evidenciador por fluorescência (5).

[054] Para controle do evidenciador por fluorescência

(4), atua o medidor de potência com a ponteira de fotodiodo, conforme Figura 5, o qual compreende:

- botão liga/desliga (28);
- conector fêmea que se liga na fonte (29);
- visor eletrônico para a quantificação dos resultados (30);
- proteção e ponta direcional (31), para a leitura da intensidade via um fotodiodo utilizado para leitura do dispositivo de teste em placas multipoços (2), com uma ligação por cabo para o circuito contido dentro da fonte que fornece a tensão elétrica necessária para o funcionamento dos constituintes eletrônicos presentes, uma fonte de energia do evidenciador por fluorescência (5).

[055] Para tanto, iniciou-se o projeto com um fotodiodo (leitor de intensidade), e um circuito eletrônico que transforma a variação de corrente do dispositivo de teste em placas multipoços (2) em uma escala de intensidade luminosa. A proteção e ponta direcional (31) é a capa protetora do fotodiodo, tal como um orifício circular, que permite a entrada da luz. Seu tamanho é exatamente a distância de alcance dos fundos das placas de multipoços (19). Como a curva de calibração está nessa distância fixa, é possível aferir a medida de intensidade de luz na ponta da ponteira que emite luz vermelha e azul, conforme figura 7, em que se coloca a ponteira junto à frente da proteção e ponta direcional (31), afim de medir a intensidade que será impressa no visor quantificador dos resultados (30).

[056] A Figura 6 representa a base para a conexão de ponteiras e botão de acionamento (11), com detalhes de seus componentes, sendo que a referida base compreende:

- conector macho de funcionamento (32);
- botão liga/desliga (33);
- estrutura fixa para o manuseio da ponteira (34);
- cabo para a conexão a fonte universal (35);
- conector padrão para fontes portátil (36).

[057] Devido à necessidade de 3 tipos de emissão de luz, sendo duas frequências na faixa do vermelho (630nm e 660 nm) e uma frequência na faixa do azul (450 nm), e a limitação de espaço dentro da maleta, é prevista uma base que tem a capacidade de ligar os três tipos de emissores, e que a sua fonte de conexão com a fonte de energia tenha a possibilidade de ser usada nos outros constituintes do sistema, um conector presente no cabo da conexão universal (fonte que será ligada na tomada para o fornecimento de energia), cabo para a conexão a fonte universal (35). As fontes foram acertadas em um compartimento próprio dentro da maleta, conjunto de fontes elétricas (9).

[058] Para a parte de emissão de luz foi construído a seguinte conjunto de ponteiras com LED (7), acopláveis em uma estrutura metálica, como é demonstrada na Figura 7, compreendendo:

- capa proteção para os LEDs das ponteiras (37) gerando a possibilidade de contato com as superfícies;
- estrutura para a passagem da conexão elétrica e rigidez nas medidas (38);
- conexão fêmea para fixação na fonte universal (39), descrita na figura 7 acima.

[059] As ponteiras de emissão colocadas na maleta são constituídas por três diferentes frequências de emissão, uma azul com o comprimento de onda de 450nm, e as outras

duas na faixa de comprimento de onda vermelho, sendo que as frequências são 630nm e 660 nm.

[060] No desenvolvimento da estrutura de fixação dos LEDs com a passagem dos fios elétricos interna à estrutura permitindo a rigidez necessária para as medidas (38), e afim de facilitar a passagem dos fios elétricos que os ligam, elaborou-se um furo em forma de cone na ponta da estrutura (de forma interna), para assim facilitar a montagem das pontas (37), e assim facilitar a construção e fixação dos componentes luminosos.

[061] A necessidade desta rígida estrutura é advinda do fato de esta ponteira de iluminação melhorar a fixação pontual para emissão da luz nos experimentos *in vivo* e experimentos *in vitro*, em que a utilização da ponteira ocorre da seguinte forma: quando desejar a utilização de uma determinada frequência de cor, conecta-se a fonte (39) e, seguidamente, a fonte universal (35).

[062] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Sistema para estudos e análises em biofotônica, fotobiologia e fotomedicina **caracterizado** pelo fato de ser portátil e realizar experimentos *in vitro* e ou *in vivo* sobre a interação da luz com substratos biológicos, compreendendo uma maleta (1) de segurança e armazenagem do sistema, com um dispositivo de teste em placas multipoços (2), uma fonte de energia do dispositivo de teste em placas multipoços (3), um evidenciador por fluorescência (4), uma fonte de energia do evidenciador por fluorescência (5), um medidor de intensidade (6) do dispositivo de teste em placas multipoços (2), um conjunto de ponteiros LED (7) nos comprimentos de ondas 450nm, 600nm e 630nm, uma ponta de plástico para o evidenciador (8) de análise de área, um conjunto de fontes elétricas (9) do carregador do evidenciador (4) e das ponteiros de LED (7), um ponto de disposição dos cabos e conectores (10) do conjunto de ponteiros com LED (7) e do dispositivo de teste em placas multipoços (2) e uma base para a conexão de ponteiros e botão de acionamento (11).

2. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o dispositivo de teste em placas multipoços (2) compreender um refletor de plástico (12); um circuito de configuração (13); um trocador de calor (14); uma abertura de passagem de ar (15); conectores para mangueira de entrada e saída de fluidos (16); um adaptador de saída das ligações elétricas dos LEDs (17); furos de fixação (18) e placas multipoços (19).

3. Sistema, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de o dispositivo de teste em placas

multi-poços (2) possibilitar estudos *in vitro* tais como a inativação de microrganismos usando terapia fotodinâmica, sendo compatível com testes de diferentes soluções fotossensíveis, doses e intensidades de luz, tempo de irradiação, concentração de FS, proliferação celular resultante da interação da luz com culturas de células, investigação de soluções com moléculas fotossensíveis, estudos com diferentes linhagens celulares utilizando a técnica da terapia fotodinâmica para a redução de células tumorais sem afetar as células saudáveis, seletividade e toxicidade das soluções fotossensíveis empregadas na terapia fotodinâmica.

4. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de o refletor de plástico (12) ter aparência fosca, ser na cor branca e encaminhar a luz dos LEDs em direção à amostra em estudo.

5. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de o circuito de configuração (13) ser disposto entre o trocador de calor (14) e os LEDs RGB para o funcionamento dos 24 LEDs dos 24 poços da placa multi-poços (19).

6. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de o trocador de calor (14) ser elétrico, constituído em materiais condutores ou semicondutores e projetado com furos de escoamento circundando toda a estrutura do dispositivo de teste em placas multi-poços (2), em que gera uma corrente que produz um gradiente de temperatura entre suas duas laterais opostas e enquanto um destes lados emite calor, o outro lado recebe calor de tal modo a proporcionar a ação de

resfriar.

7. Sistema, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de o trocador de calor (14) usar a condução térmica com um fluido refrigerante tal como a água corrente de uma torneira, em que no procedimento de troca de calor, pluga-se o trocador de calor (14) aos conectores para mangueira de entrada e saída de fluidos (16) com água corrente ou opcionalmente outro sistema de circulação disponível.

8. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de a abertura de passagem de ar (15) passar por toda a extensão lateral dos LEDs abaixo da placa multipoços (19) e ser para a convecção do ar com os componentes eletrônicos.

9. Sistema, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de a convecção ser natural, com a entrada do ar de um lado e saída do lado oposto ou, opcionalmente, pela aplicação de correntes de ventos ortogonais à entrada de água.

10. Sistema, de acordo com a reivindicação 2 ou 7, **caracterizado** pelo fato de os conectores para mangueira de entrada e saída de fluidos (16) terem a forma preferencial de engate rápido.

11. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de o adaptador de saída das ligações elétricas dos LEDs (17) ter o comprimento preferencial de aproximadamente 30 cm.

12. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de os furos de fixação (18) fixarem a parte frontal com as laterais e a posterior do

dispositivo de teste em placas multipoços (2) por meio de parafusos.

13. Sistema, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de a placa multipoços (19) possuir preferencialmente 24 LEDs dispostos em simetria abaixo de 24 poços, os quais são utilizados nos experimentos.

14. Sistema, de acordo com a reivindicação 2 ou 13, **caracterizado** pelo fato de as componentes eletrônicas do circuito dos LEDs serem controladas por um controlador, compreendendo duas fontes embutidas em uma caixa com um sistema de relê de liga e desliga apresentando funcionamento em cores definidas.

15. Sistema, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pelo fato de o controlador controlar a interação do dispositivo de teste em placas multipoços (2) e a fonte de energia do dispositivo de teste em placas multipoços (3).

16. Sistema, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de o controlador compreender um conector fêmea de transferência de energia da fonte (20); botões de funcionamento liga e desliga e controle da intensidade e cores (21) dos LEDs do dispositivo de teste em placas multipoços (2); uma caixa protetora do circuito interno (22); seis entradas de ar (23) de refrigeração dos circuitos; um cabo de energia de dois pinos (24).

17. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o evidenciador por fluorescência (4) possibilitar a observação direta da fluorescência em um visor, sendo um conjunto óptico (25) compreendendo um arranjo de LEDs emitindo luz na região do azul do espectro

eletromagnético, e um conjunto de filtros ópticos que permitem a visualização da fluorescência, acessíveis em peça única preferencialmente de mão (27), com uma parte para conector uma fonte elétrica para carregar energia (26).

18. Sistema, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado** pelo fato de o evidenciador por fluorescência (4) evidenciar, através da coleta *in situ*, diferenças entre o tecido sadio e o tecido tumoral, auxiliar no diagnóstico de lesões neoplásicas e pré-malignas tais como no diagnóstico do câncer de pele, detecção do câncer bucal e outras patologias odontológicas, tais como cáries incipientes, placa bacteriana, herpes labial, mucosite, aftas, existência de micro trincas nos dentes, retração gengival e desmineralização do esmalte dental, sem que se dependa da habilidade e experiência do avaliador.

19. Sistema, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado** pelo fato de o evidenciador por fluorescência (4) considerar a informação dos fluoróforos endógenos presentes no sítio da lesão e, opcionalmente, associar-se ao uso de marcadores fluorescentes tais como o ácido aminolevulínico (ALA) e seus derivados precursores na biossíntese do FS, Protoporfirina IX (PpIX).

20. Sistema, de acordo com a reivindicação 19, **caracterizado** pelo fato de a fonte de energia do evidenciador por fluorescência (5) compreender uma bateria de Li-Ion recarregável.

21. Sistema, de acordo com a reivindicação 20, **caracterizado** pelo fato de o evidenciador por fluorescência (4) ser controlado por medidor de potência com a ponteira

de fotodiodo.

22. Sistema, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de o medidor de potência com a ponteira de fotodiodo compreender um botão liga/desliga (28); um conector fêmea ligado à fonte (29); um visor eletrônico quantificador dos resultados (30); uma proteção e ponta direcional (31) de leitura da intensidade via fotodiodo do dispositivo de teste em placas multipóços (2), com uma ligação por cabo de alimentação para o circuito eletrônico.

23. Sistema, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de o circuito eletrônico transformar a variação de corrente do dispositivo de teste em placas multipóços (2) em uma escala de intensidade luminosa.

24. Sistema, de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de a proteção e ponta direcional (31) ser a capa protetora do fotodiodo, na forma de um orifício circular permissor de entrada da luz, com tamanho igual à distância de alcance dos fundos da placa multipóços (19), capaz de aferir a medida de intensidade de luz na ponta da ponteira que emite luz vermelha e azul, sendo essa intensidade impressa no visor quantificador dos resultados (30).

25. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a base para a conexão de ponteiras e botão de acionamento (11) compreender um conector macho de funcionamento (32); um botão liga/desliga (33); uma estrutura fixa para o manuseio da ponteira (34); um cabo para a conexão a fonte universal (35) e um conector

padrão para fontes portátil (36).

26. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o conjunto de ponteiras com LED (7) compreender uma capa de proteção para os LEDs das ponteiras (37) de contato com as superfícies; uma estrutura para a passagem da conexão elétrica e rigidez nas medidas (38) e uma conexão fêmea para fixação na fonte universal (39).

27. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a ponteira (37) acoplar-se ao LED de determinada frequência de cor, conectando-se à fonte (39) e, seguidamente, à fonte universal (35).

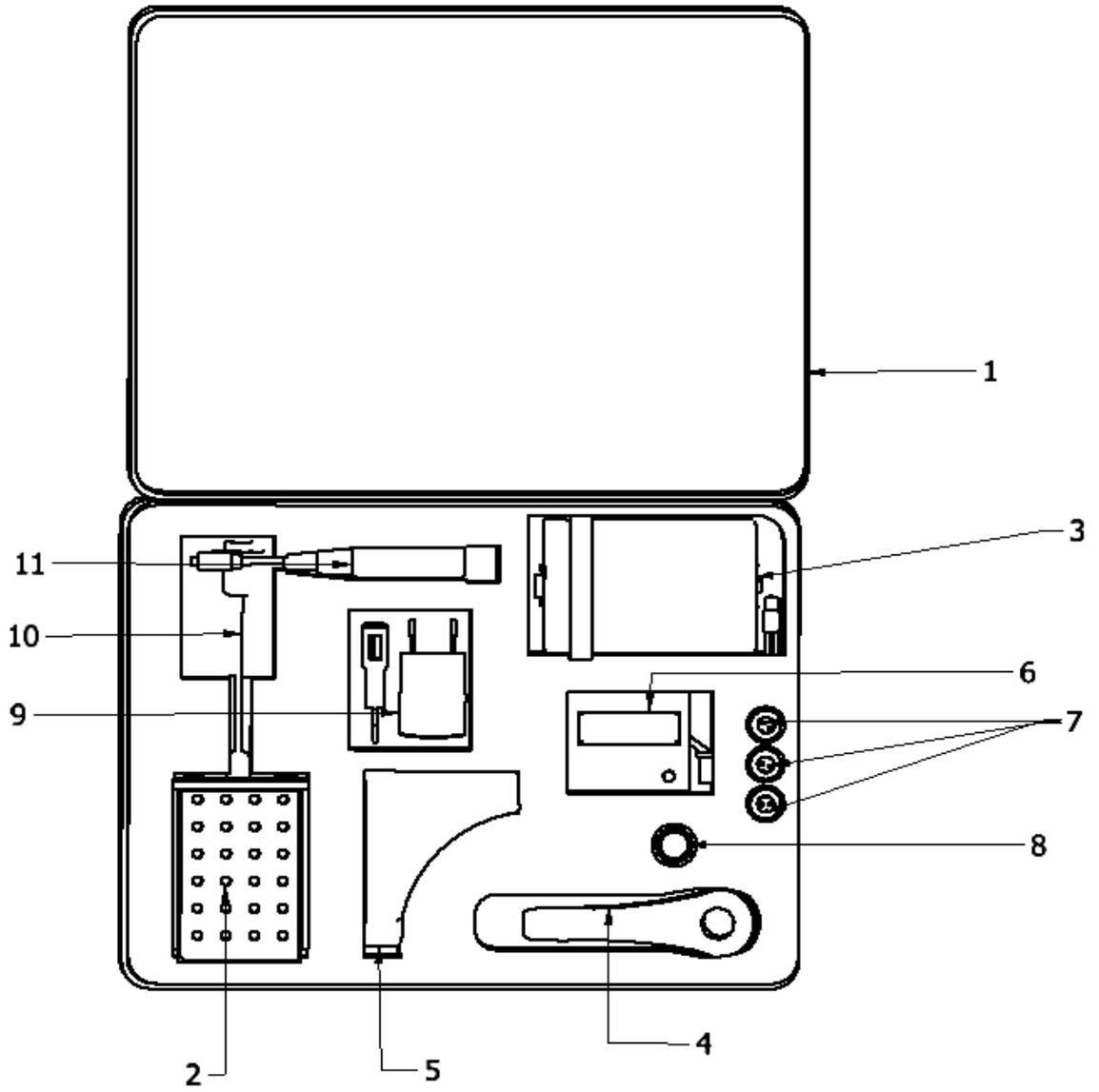


Figura 1

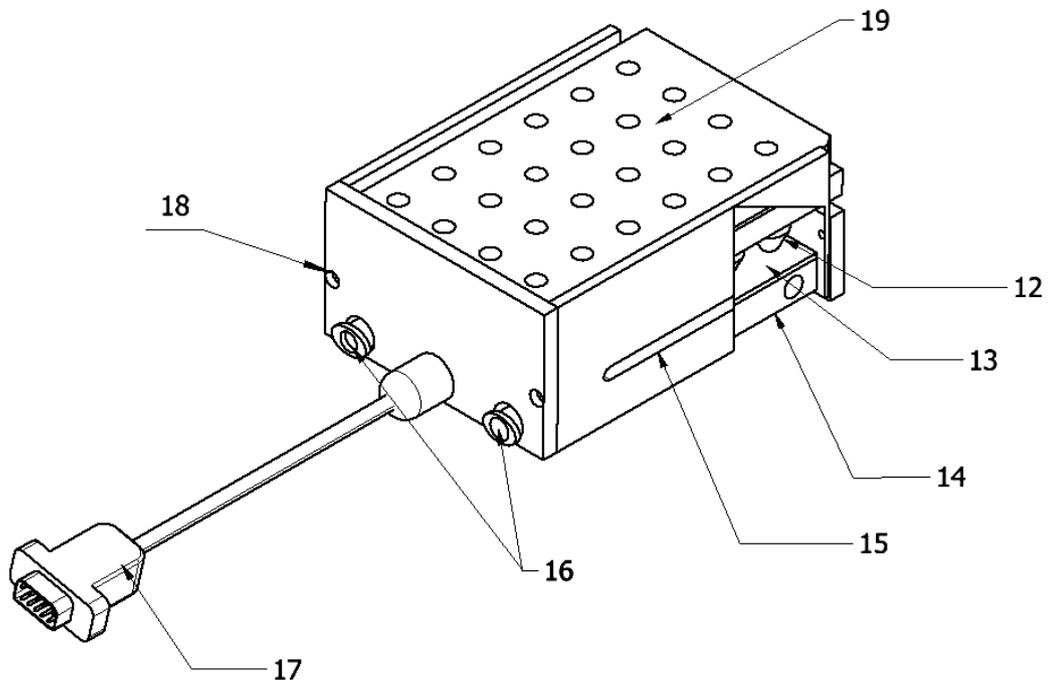


Figura 2

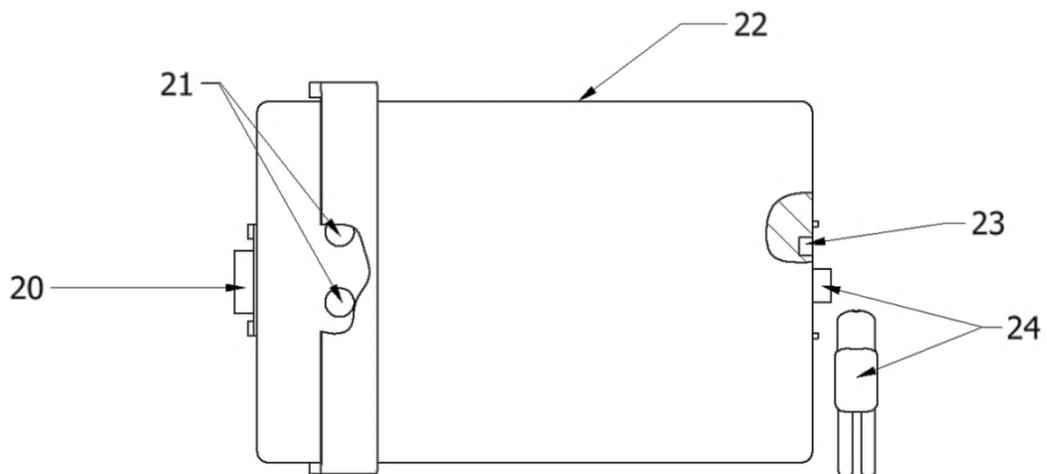


Figura 3

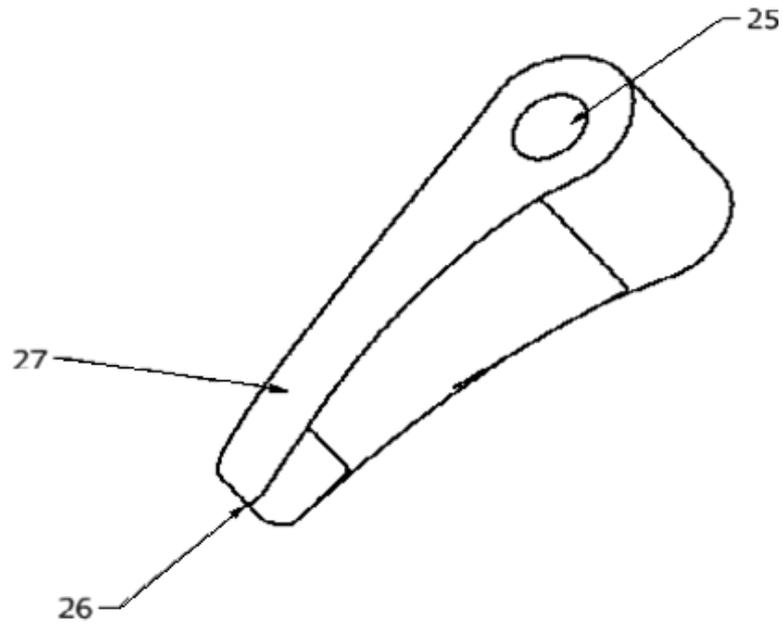


Figura 4

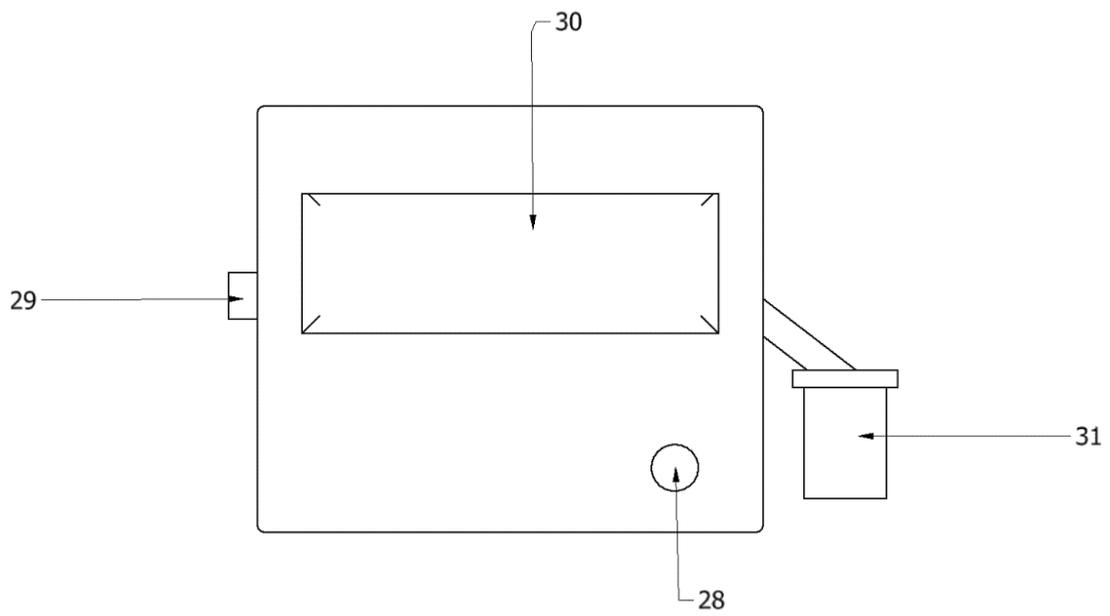


Figura 5

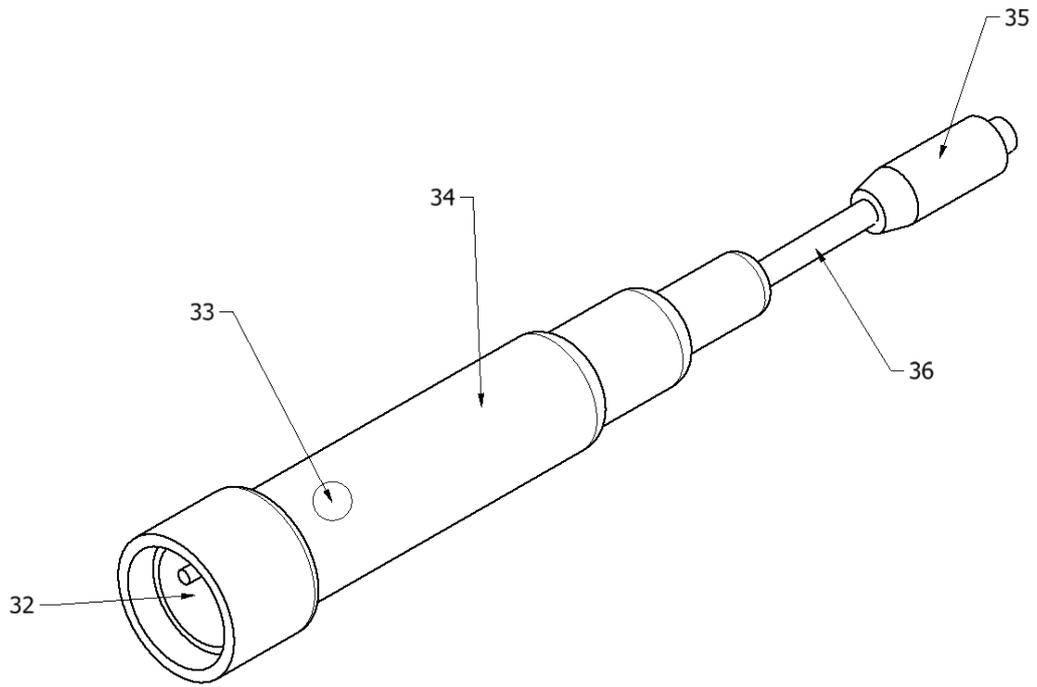


Figura 6

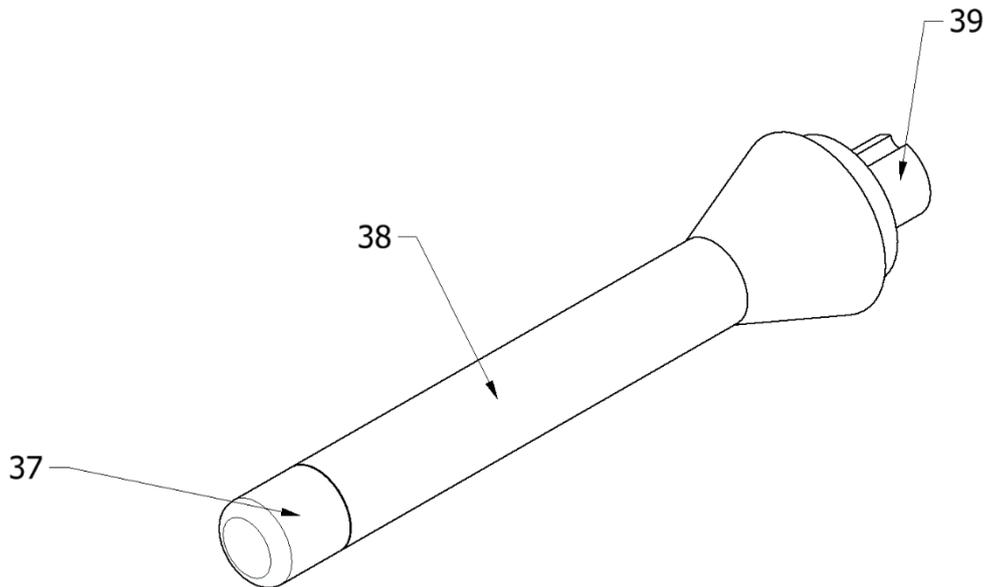


Figura 7

Resumo**SISTEMA PARA ESTUDOS E ANÁLISES EM BIOFOTÔNICA,
FOTOBIOLOGIA E FOTOMEDICINA**

A presente invenção refere-se a um sistema para estudos e análises em biofotônica, fotobiologia e fotomedicina, que, com autonomia e portabilidade, permite realizar uma série de experimentos in vitro e/ou in vivo sobre a interação da luz com substratos biológicos. Entre as potenciais aplicações de técnicas ópticas possibilitadas com o uso do presente sistema, cabem citar: a detecção de lesões ocultas, a detecção precoce de lesões malignas, a delimitação de margens da lesão, o auxílio na escolha do sítio de biópsia e o monitoramento de respostas terapêuticas.