



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE FÍSICA
CURSO DE FÍSICA BACHARELADO



**Investigação de Distorções Espectrais Causadas por Tecidos
Biológicos utilizando o Software *Virtual Tissue Simulator***

Airton Cardoso Vasconcelos

Maceió - AL

2024

AIRTON CARDOSO VASCONCELOS

**Investigação de Distorções Espectrais Causadas por Tecidos
Biológicos utilizando o Software *Virtual Tissue Simulator***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Física.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Ferreira da Silva.

Maceió - AL

2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

V331i Vasconcelos, Airton Cardoso.
Investigação de distorções espectrais causadas por tecidos biológicos utilizando o Software *Virtual Tissue Simulator* / Airton Cardoso Vasconcelos. – 2023.
49 f. : il.

Orientador: Wagner Ferreira da Silva.
Monografia (Trabalho de conclusão de curso em física : bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Física. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 44-49.

1. Nanotermometria. 2. Tecidos biológicos - Distorções espectrais. 3. Terras raras. I. Título.

CDU: 536.51:546.65



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE FÍSICA**

Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso do aluno AIRTON CARDOSO VASCONCELOS, matrícula 19110300, intitulado Investigação de Distorções Espectrais Causadas por Tecidos Biológicos utilizando o Software Virtual Tissue Simulator.

Às **13:30** horas do dia **vinte e sete de fevereiro de dois mil e vinte e quatro**, foi instalada a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso a qual se submeteu o aluno **AIRTON CARDOSO VASCONCELOS** do Curso de Física Bacharelado. A banca foi composta pelos: **Prof. Dr. Wagner Ferreira da Silva (Orientador do trabalho, IF-UFAL), Prof. Dr. Samuel Teixeira de Souza (IF-UFAL) e o Prof. Dr. Francisco de Assis Martins Gomes Rego Filho (IFAL)**. Os membros desta banca avaliaram o referido trabalho e conferiram-lhe a seguinte menção APROVADO, atribuindo ao mesmo, respectivamente, as notas 9,0 (NOVE); 9,0 (NOVE); 9,0 (NOVE), computando assim média 9,0 (NOVE) e autorizando os trâmites legais. Por oportuno, tendo em vista a melhoria da qualidade do trabalho, a banca sugere a tomada das seguintes providências:

Estando todos de acordo, lavrou-se a presente Ata.

Maceió, 27 de fevereiro de 2024.

1º Examinador: _____

Documento assinado digitalmente

2º Examinador:  FRANCISCO DE ASSIS MARTINS GOMES REGO F

Data: 04/03/2024 15:18:33-0300
Verifique em <https://validar.it6.gov.br>

3º Examinador: _____

Documento assinado digitalmente

 WAGNER FERREIRA DA SILVA
Data: 08/03/2024 16:47:52-0300
Verifique em <https://validar.it6.gov.br>

Documento assinado digitalmente

 SAMUEL TEIXEIRA DE SOUZA
Data: 08/03/2024 16:26:44-0300
Verifique em <https://validar.it6.gov.br>

Visto da Coordenação: _____

Documento assinado digitalmente

 VINICIUS MANZONI VIEIRA
Data: 11/03/2024 08:37:33-0300
Verifique em <https://validar.it6.gov.br>

AIRTON CARDOSO VASCONCELOS

Investigação de Distorções Espectrais Causadas por Tecidos Biológicos utilizando o Software *Virtual Tissue Simulator*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Física.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Ferreira da Silva.

Data: 27 de fevereiro de 2024.

Nota: ____9____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. WAGNER FERREIRA DA SILVA – IF/UFAL
(Orientador)

Prof. DR. FRANCISCO DE ASSIS MARTINS GOMES REGO FILHO – IFAL
(Membro externo)

Prof. Dr. SAMUEL TEIXEIRA DE SOUZA – IF/UFAL
(Membro interno)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, fonte de sabedoria que me guiou durante toda esta jornada acadêmica. Sua graça e orientação foram fundamentais para que eu alcançasse este momento tão significativo em minha vida.

À minha família, expresso minha profunda gratidão. Seu apoio, incentivo constante e amor incondicional foram pilares essenciais que sustentaram meu caminho até aqui. Em especial, meu pai e minha mãe desempenharam um papel crucial, inspirando-me e motivando-me a perseguir meus sonhos com determinação.

Ao meu orientador de TCC, Prof. Dr. Wagner Ferreira da Silva, quero expressar minha sincera apreciação. Sua orientação experiente, paciência e apoio foram indispensáveis para o desenvolvimento deste trabalho. Suas contribuições críticas foram essenciais para o aprimoramento deste projeto, e sou imensamente grato por sua dedicação e comprometimento ao longo deste processo.

Minha gratidão estende-se também aos meus colegas Miqueias, Jordan, Badú, Elo, Rayssa, Igor, Messias, Laís, Mariana, Ramses, assim como a Mickael, que de alguma forma contribuíram para esta conquista. Este momento não seria possível sem o suporte e colaboração de cada um de vocês.

RESUMO

O estudo sobre nanopartículas luminescentes tem proporcionado significativos avanços no campo da biomedicina. Através da utilização dessas nanopartículas tem sido possível realizar estudos em tecidos biológicos, visando melhorias em tratamentos, diagnósticos e outras aplicações. Em particular, essas nanopartículas estão sendo utilizadas para medir a temperatura de tecidos, através dos chamados nanotermômetros. Contudo, distorções espectrais causadas por tecidos biológicos podem levar a erros na medida da temperatura local. Portanto, neste trabalho, tivemos como objetivo quantificar os possíveis erros na medida de temperatura nos seguintes tecidos biológicos: pele, fígado, tecido cerebral e tecido mamário. Para isso, foi variada a concentração de H₂O e gordura destes tecidos, utilizando o software *Virtual Tissue Simulator*. Como nanotermômetro luminescentes foram utilizadas as nanopartículas de TiO₂ dopadas com íons de Nd³⁺ (TiO₂:Nd³⁺). As temperaturas foram estimadas a partir das razões das emissões destas nanopartículas em torno de 895 e 1067 nm. Como um dos resultados, obtivemos que os erros na medida da temperatura, causados pelas distorções espectrais, podem ser superiores a 4°C. Portanto, este trabalho enfatiza os cuidados que se devem ter em medidas de temperaturas em sistemas biológicos, bem como, pretende mostrar a importância de se desenvolver técnicas experimentais para contornar estes problemas.

Palavras-chave: Nanotermometria. Distorções Espectrais. Terras raras.

ABSTRACT

The study of luminescent nanoparticles has provided significant advances in the field of biomedicine. Through the use of these nanoparticles, it has been possible to carry out studies on biological tissues, aiming to improve therapies, diagnostics and other applications. In particular, these nanoparticles are being used to measure tissue temperature, using the so-called nanothermometers. However, spectral distortions caused by biological tissues can lead to errors in measuring the local temperature. Therefore, in this study, we aimed to quantify possible errors in the temperature measurement in the following biological tissues: skin, liver, brain tissue and breast tissue. To do this, the concentration of H₂O and fat in these tissues was varied, using the Virtual Tissue Simulator software. TiO₂ nanoparticles doped with Nd³⁺ ions (TiO₂:Nd³⁺) were used as luminescent nanothermometers. The temperatures were estimated based on the emission ratios of these nanoparticles at around 895 and 1067 nm. As one of the results, we obtained that errors in the temperature measurement, caused by spectral distortions, can be greater than 4°C. Therefore, this study emphasizes the care that must be taken when measuring temperatures in biological systems, as well as demonstrating the importance of developing experimental techniques to overcome these problems.

Keywords: Nanothermometry. Spectral Distortions. Rare Earths.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1. Nanotermometria e suas aplicações.....	12
2.2. Alguns tipos de nanotermômetros	15
2.2.1. Nanopartículas dopadas com íons terra raras	16
2.2.2. Os pontos quânticos	19
2.3. Distorções espectrais causadas por tecidos biológicos	21
2.4. Funcionamento de um termômetro luminescente.....	23
2.5. Os íons de Nd^{3+}	26
3. METODOLOGIA.....	29
3.1. Descrição do software utilizado para obter as curvas de absorção.....	29
3.2. Descrição de como foram obtidos os espectros distorcidos.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

A temperatura desempenha um papel central em diversas áreas do conhecimento, sendo fundamental para compreender fenômenos físicos e químicos, além de influenciar processos biológicos e industriais [1]. Na física, controlar a temperatura é essencial para entender propriedades de materiais. Na biologia e medicina, a temperatura regula reações metabólicas e é crucial para diagnósticos e tratamentos. Na indústria, é determinante para processos de produção e conservação de produtos.

No campo da saúde, o uso da temperatura está especialmente voltado para a biomedicina, onde é empregada com o propósito de realizar diagnósticos e tratamento de doenças em pacientes [2]. No entanto, em algumas situações, os equipamentos atualmente utilizados na medição da temperatura frequentemente apresentam limitações significativas. Isso pode resultar em diagnósticos menos precisos e tratamentos mais invasivos para os pacientes, muitas vezes sem garantia de resolução do caso. Um exemplo disso são as medições de temperatura feitas por câmeras térmicas, que se restringem essencialmente à superfície do corpo, incapazes de medir a temperatura interna de órgãos, por exemplo. Portanto, é crucial avançar no desenvolvimento de tecnologias que permitam medições mais precisas e menos invasivas da temperatura interna do corpo, em contraste com métodos como o uso de termopares.

Particularmente, no contexto das medidas de temperatura em escalas submicrométricas, observamos um considerável avanço científico no desenvolvimento de nanopartículas capazes de atuar como nanotermômetros. A nanotermometria é uma área que tem experimentado notáveis progressos, permitindo medições precisas de temperatura em escalas submicrométricas. Isso viabiliza o estudo detalhado de sistemas biológicos, materiais e dispositivos em nível celular. A medição precisa da temperatura desempenha um papel crucial no diagnóstico precoce de doenças [3,4]. Variações na temperatura corporal podem indicar processos inflamatórios, infecciosos ou outras condições médicas [5]. Portanto, detectar essas alterações precocemente permite intervenções médicas mais eficientes, melhorando as chances de um tratamento mais eficaz, como no caso do tratamento do câncer.

Embora o uso de nanotermômetros para medir a temperatura a nível celular seja extremamente promissor, as distorções espectrais induzidas por tecidos biológicos podem

impactar significativamente suas medições [6]. Os nanotermômetros luminescentes (NTLs), dispositivos que emitem luz com base na temperatura local, enfrentam desafios quando aplicados *in vivo* devido às interações com o tecido por conta das diferentes substâncias que compõem no tecido, como por exemplo, água e gordura. Mesmo dentro da segunda janela biológica comumente utilizada (1000–1370 nm), ocorrem distorções espectrais que afetam a confiabilidade das leituras térmicas dos NTLs. Uma solução promissora reside em mudar a faixa de operação dos nanotermômetros para a terceira janela biológica (1550–1850 nm). Experimentos recentes com nanopartículas de CaF₂ tri-dopadas com itérbio, érbio e túlio demonstram mínima distorção espectral nesta faixa, permitindo uma termometria de luminescência mais confiável [7]. Outra abordagem atual para evitar o problema das distorções espectrais causadas por tecidos biológicos consiste no uso do tempo de vida da luminescência como indicador de temperatura, uma vez que ele não é afetado por distorções espectrais que podem ocorrer devido à interação da radiação com os tecidos biológicos [8].

Diante dos motivos apresentados, o tema das distorções espectrais causadas por tecidos biológicos emerge como extremamente atual e crucial para o desenvolvimento de nanotermômetros luminescentes eficazes na medição da temperatura a nível celular. Neste trabalho, nosso objetivo foi investigar como as distorções espectrais podem afetar a medição precisa da temperatura, utilizando o Software *Virtual Tissue Simulator*. A partir dele, examinamos as distorções espectrais nas emissões dos íons de Nd³⁺ em nanopartículas (NPs) de TiO₂ (TiO₂:Nd³⁺) em diferentes tipos de tecidos, como pele, matéria branca do cérebro, tecido mamário pré-menopausa e fígado. Em cada um desses tecidos, os valores das concentrações de água e gordura foram variados para criar várias curvas de absorção. A partir disso, foi possível calcular o erro na medição da temperatura dentro dos tecidos em relação ao espectro não distorcido das nanopartículas de TiO₂:Nd³⁺. Em suma, esses erros de medição permitiram analisar os desvios de temperatura decorrentes da modificação das concentrações de água e gordura nos tecidos que foram analisados.

Este trabalho está dividido em quatro partes: fundamentação teórica, metodologia, resultados e considerações finais. Na fundamentação teórica, serão abordadas as características dos íons de Nd³⁺, falaremos sobre sensibilidade térmica relativa, conceitos básicos sobre nanopartículas e nanotermometria, além de exemplos de nanotermômetros luminescentes na área biomédica. Também serão discutidas as distorções espectrais nos tecidos biológicos em resposta a variações nas concentrações dos componentes teciduais.

Na metodologia, será detalhado o uso do Software *Virtual Tissue Simulator* e o procedimento que foi utilizado para obter as curvas de absorção nos tecidos considerados. Além disso, será descrito como, a partir desses dados, foram geradas as curvas de espectros distorcidos. Por fim, será discutido como as curvas distorcidas foram empregadas para determinar a temperatura, bem como a comparação dos valores obtidos com aqueles dos espectros não distorcidos. No capítulo seguinte, discutiremos os resultados obtidos para cada tecido em relação às variações nas concentrações de água e gordura. Por fim, nas conclusões e considerações finais, será sumarizado os principais resultados aqui obtidos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo, abordaremos diversos tópicos relacionados à nanotermometria e suas aplicações. Primeiramente, discutiremos os princípios fundamentais da nanotermometria, bem como os tipos de nanotermômetros mais comumente utilizados na prática. Em seguida, analisaremos as distorções espectrais induzidas pelos tecidos biológicos, destacando os desafios que surgem ao medir a temperatura em nível celular. Também exploraremos as propriedades luminescentes dos íons de Nd^{3+} , frequentemente empregados em nanotermômetros luminescentes, e esclareceremos o conceito de sensibilidade térmica relativa. Ao abordar esses tópicos de maneira integrada, buscamos fornecer uma compreensão abrangente do campo da nanotermometria e sua importância nas aplicações biomédicas e científicas, destacando também como as distorções espectrais podem levar a medições equivocadas da temperatura local.

2.1. Nanotermometria e suas aplicações

A nanotecnologia representa um avanço tecnológico significativo, contribuindo para o aprimoramento de equipamentos em pesquisas científicas, indústrias, tratamento médico, entre outros. Nesse contexto, as nanopartículas desempenham um papel crucial [9,10]. Por exemplo, na biomedicina elas têm possibilitado o desenvolvimento de novas abordagens em imagens médicas, terapias e diagnósticos [4,11]. Dentre os diversos tipos de nanopartículas atualmente desenvolvidas [12,13], temos as nanopartículas luminescentes [14,15], que emitem luz quando excitadas por uma fonte de energia, como as dopadas com íons terra-raras [16] e os pontos quânticos [17].

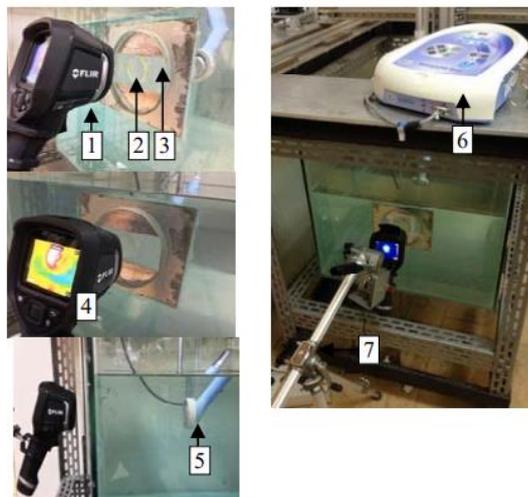
O avanço tecnológico ocorrido nos últimos anos, na síntese de nanopartículas luminescentes, abriu caminho para o desenvolvimento promissor de técnicas inovadoras de detecção térmica em escalas submicrométricas, como evidenciado por estudos recentes desenvolvidos na área da nanotermometria [18]. Uma das principais vantagens da nanotermometria é ser uma técnica minimamente invasiva e que possibilita o seu uso na nanomedicina [19], como para o diagnóstico precoce de diversas doenças [20], incluindo câncer e problemas articulares [21]. Essa abordagem representa uma alternativa mais vantajosa em comparação com a termometria por contato. Neste contexto, o interesse dos pesquisadores desta

área concentra-se atualmente no aprimoramento das propriedades luminescentes deste tipo de nanopartículas, como brilhos mais intensos e maiores sensibilidades térmicas relativas.

Antes de avançarmos para a próxima seção, onde apresentaremos alguns exemplos de nanotermômetros, é crucial destacar a diferença entre uma imagem formada por uma câmera térmica e uma gerada por nanopartículas luminescentes.

As imagens capturadas por câmeras térmicas possuem sensibilidade à radiação infravermelha, a qual pode variar dependendo do sensor utilizado. Para que o sensor possa quantificar a radiação na região desejada, vários parâmetros devem ser considerados, como a emissão do alvo, a distância entre o sensor e o alvo, a temperatura ambiente, entre outros. Uma de suas aplicações é na mastologia, para realizar a termografia das mamas [22]. Outro exemplo do uso das câmeras térmicas é sua aplicação em conjunto com o ultrassom na fisioterapia para o tratamento de tecidos biológicos, promovendo a regeneração do tecido por meio de efeitos térmicos. A técnica consiste na propagação de feixes ultrassônicos no meio, que por sua vez sofre uma diminuição da amplitude da onda devido ao fenômeno de atenuação, absorção e espalhamento, resultando em um processo térmico. Na Figura 1, é apresentado o uso da câmera térmica para realizar um mapeamento térmico em um tanque onde está incidindo um feixe de ultrassom. Esse mapeamento é realizado com o auxílio de uma câmera térmica e de um meio absorvente de resina epóxi [23]. Outro exemplo de material utilizado são os *phantoms* [24], que possuem algumas propriedades semelhantes aos tecidos biológicos.

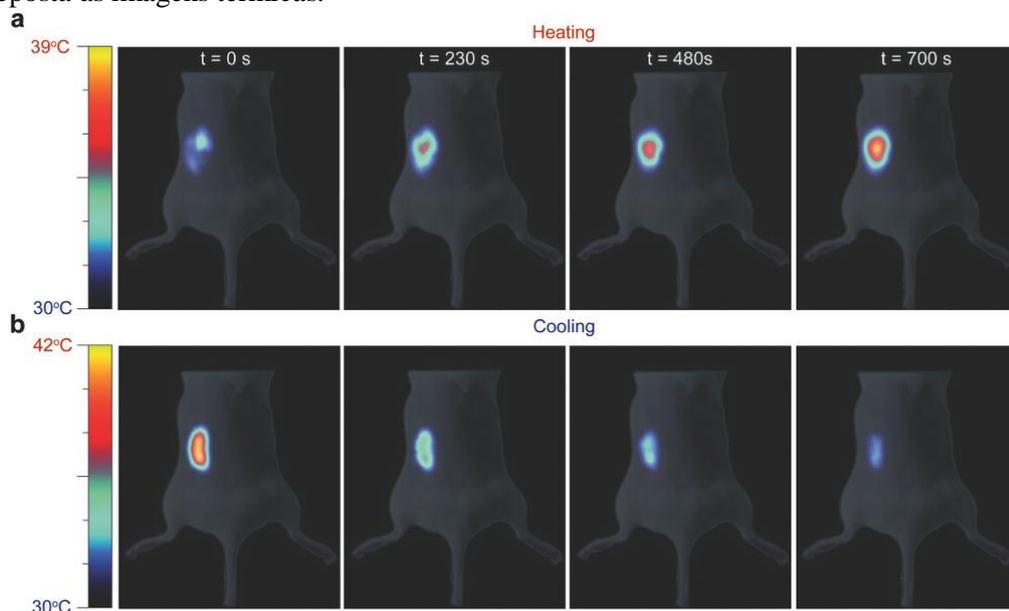
Figura 1: Arranjo experimental mostrando: (1) Câmera térmica, (2) meio absorvedor de epóxi, (3) janela acústica do tanque, (4) imagem térmica gerada, (5) transdutor, (6) UST, (7) tripé.



Fonte: Referência [23].

No caso de nanopartículas luminescentes, a geração da imagem se dá pela luminescência, que ocorre a partir da absorção de energia por meio de uma fonte, como um laser. Esses componentes podem transformar essa energia em radiação, emitindo fótons nos espectros visível, infravermelho e ultravioleta. Em geral, a obtenção das imagens térmicas é realizada com baixas intensidades de excitação, para minimizar os efeitos colaterais quando a radiação laser é aplicada à região em tratamento ou investigação [25]. Um exemplo concreto de uma imagem térmica, formada por nanopartículas dopadas com os íons Er^{3+} , Yb^{3+} e Tm^{3+} , é apresentado na Figura 2 [26]. A imagem térmica obtida pouco antes de iniciar o procedimento de aquecimento fornece uma temperatura subcutânea média próxima a $33\text{ }^{\circ}\text{C}$, em muito boa concordância com a temperatura basal do rato. Além disso, a imagem térmica obtida imediatamente após o procedimento de aquecimento com o laser de 808 nm (ou seja, no início do procedimento de relaxamento) fornece uma temperatura subcutânea média próxima de $42\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 2: Imagens térmicas obtidas dividindo as imagens referente as luminescências em 1000 e 1200 nm durante (a) processos de aquecimento e (b) de relaxamento. Uma imagem óptica do rato anestesiado foi sobreposta as imagens térmicas.



Fonte: Referência [26].

Após apresentarmos alguns exemplos de imagens térmicas feitas por câmeras térmicas e nanopartículas luminescentes, passaremos à próxima seção para discutir especificamente sobre alguns tipos de nanotermômetros e suas principais aplicações.

2.2. Alguns tipos de nanotermômetros

Inicialmente, vamos apresentar alguns tipos de nanopartículas luminescentes. Em seguida, iremos abordar especificamente as aplicações que envolvem a nanotermometria através do uso dessas nanopartículas. As nanopartículas luminescentes desempenham um papel crucial em vários campos, desde imagens biomédicas até optoeletrônica. Abaixo, destacaremos alguns dos principais tipos de nanopartículas luminescentes atualmente relatados na literatura:

- **Nanopartículas de Luminescência Persistente:** Este tipo de nanopartícula emite luminescência mesmo após a fonte de excitação ser removida. Elas são vantajosas para imagens ópticas *in vivo* devido à sua natureza livre de autofluorescência, alta sensibilidade e múltiplas fontes de excitação (luz UV, LED, laser NIR, raios X e radiofármacos). Essas nanopartículas podem ser funcionalizadas para terapias teranósticas do câncer, incluindo cirurgia guiada por fluorescência, terapia fototérmica, terapia fotodinâmica, entre outras [27].
- **Nanopartículas de sílica:** As nanopartículas à base de sílica são transparentes à luz, tornando-as matrizes ideais para materiais luminescentes [28]. Elas apresentam boa estabilidade química e térmica, tornando-as adequadas para diversas aplicações, como no caso da nanotermometria [29].
- **Pontos Quânticos (Quantum dots - QDs):** São nanocristais semicondutores com propriedades ópticas exclusivas dependentes do tamanho. Um dos aspectos mais interessantes dos QDs é sua aplicação em dispositivos emissores de luz, como os LEDs QD. Os QDs podem ser incorporados em monitores para melhorar a pureza das cores, o brilho e a eficiência energética em comparação com as tecnologias tradicionais. Além disso, suas propriedades de emissão ajustáveis os tornam valiosos em imagens biológicas e aplicações de detecção [30,31].
- **Nanopartículas de conversão ascendente (upconversion):** Este tipo de nanopartícula converte fótons de baixa energia (geralmente no infravermelho próximo) em emissões de maior energia (luz visível). Eles encontram aplicações em bioimagem, administração de medicamentos e terapia fotodinâmica, dentre outras [13,32].

Outro tipo de nanopartículas luminescentes são aquelas dopadas com íons de terras raras (nanopartículas de conversão ascendente também podem ser dopadas com íons de terras raras), como as utilizadas em nosso trabalho. Portanto, abordaremos essas nanopartículas com um pouco mais de detalhes. Vale a pena falar um pouco mais também dos pontos quânticos (*quantum dots* - QDs). Assim, nas duas subseções seguintes iremos falar um pouco mais destes dois exemplos de nanopartículas luminescentes.

2.2.1. Nanopartículas dopadas com íons terra raras

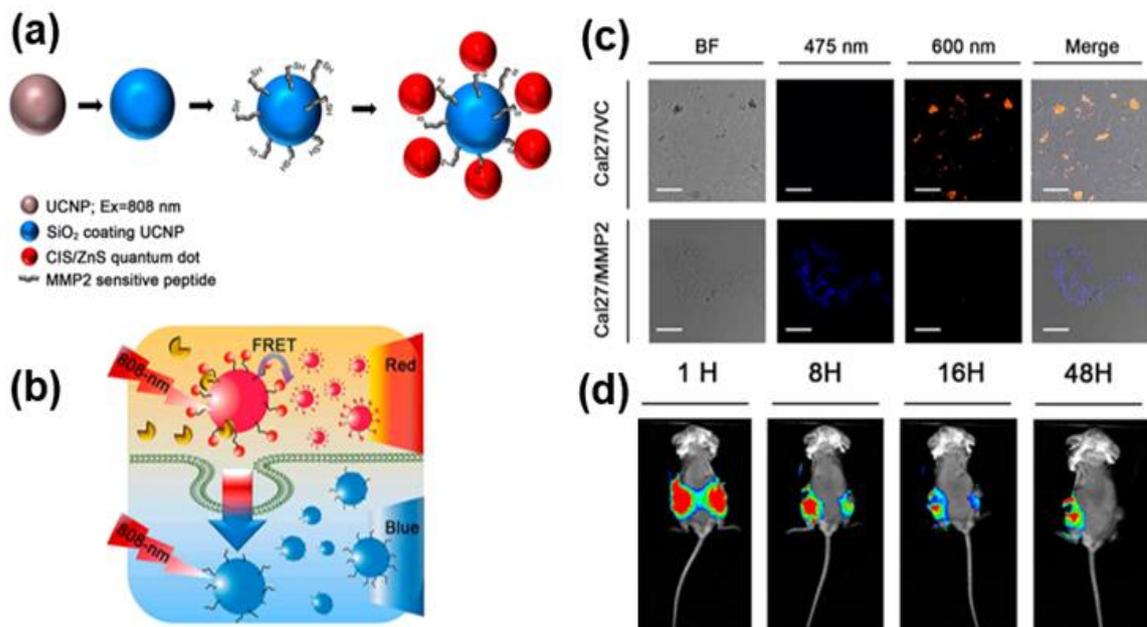
Os elementos de terras raras (ETR) compreendem um grupo de 17 metais, abrangendo o escândio (Sc, número atômico 21), o ítrio (Y, número atômico 39) e os lantanídeos (La-Lu, números atômicos 57-71). A luminescência em íons trivalentes de terras raras (RE^{3+}) origina-se principalmente de transições eletrônicas com paridade proibida dentro do nível 4f [33]. Essa característica singular concede aos RE^{3+} propriedades ópticas fascinantes, que são pouco influenciadas pela matriz hospedeira, devido ao efeito de blindagem da camada 4f. Os íons RE^{3+} exibem configurações eletrônicas distintas $[Xe]4f^n$ ($n = 0-14$), possuindo numerosos níveis de energia. Essa multiplicidade de níveis energéticos resulta em uma gama de emissões radiativas, abrangendo uma ampla faixa espectral, do ultravioleta (UV) ao infravermelho próximo (NIR) [34–36]. Neste trabalho, especificamente, utilizamos os íons de Nd^{3+} . Abordaremos detalhadamente sobre ele nas próximas seções.

Um exemplo dessas nanopartículas luminescentes são as nanoestruturas semicondutoras dopadas com terras raras. A dopagem com impurezas serve como um método para alterar as características dos materiais. A introdução de íons de terras raras em nanomateriais permite ajustar morfologias, tamanhos, fases cristalográficas e configurações eletrônicas de nanomateriais inorgânicos [37].

Dentre os diferentes usos deste tipo de nanoestrutura, podemos citar o seu uso como biossensores [38]. Chan et al. publicaram um estudo no qual discutiram o desenvolvimento de uma nanoestrutura para detectar células de câncer oral [38]. O estudo envolveu a síntese de uma nanopartícula (NP) de conversão ascendente de energia (upconversion - UC), designada como UCNP. Além disso, eles usaram um peptídeo sensível a MMP2 e um QD de $CuInS_2/ZnS$ (CIS/ZnS QD). A UCNP consistia de uma nanopartícula de $NaYF_4$ do tipo núcleo-casca

codopada com os íons de Yb, Tm e Nd (NaYF₄:Tm/Yb@NaYF₄:Nd/Yb). Essa nanopartícula exibe múltiplas emissões em comprimentos de onda UV/azul-visível quando excitada por um laser de 808 nm. Através de um processo de transferência de energia (*fluorescence resonance energy transfer* - FRET), o QD de CIS/ZnS exibe fluorescência vermelha. Essas duas nanoestruturas foram então conectadas por um peptídeo sensível a MMP2, formando um novo biossensor de MMP2 denominado pelos autores de UCNP@p-QD, conforme ilustrado na Figura 3a. Sob irradiação de 808 nm, a UCNP@p-QD em um meio extracelular emite fluorescência vermelha. Por outro lado, na presença de MMP2, a UCNP@p-QD exibe fluorescência azul, como mostrado na Figura 3b.

Figura 3. (a) Desenho esquemático mostrando a estratégia de fabricação da UCNP@p-QD. A UCNP foi revestida com SiO₂ e ligada com peptídeos sensíveis a MMP2. Os CIS/ZnS- QDs foram conjugados aos peptídeos da UCNP. (b) Ilustração esquemática indicando a mudança de FRET da UCNP@p-QD na presença de MMP2. (c) Os experimentos da sensibilidade das nanopartículas UCNP@p-QD foram realizadas usando Cal27/VC e Cal27/MMP2. A figura mostra que devido a ausência/presença de MMP2 a emissão será em 600 nm/475 nm. (d) Experimento também foram realizados em tumor num camundongo. A barra de escala representa 50 μm. Por injeção intratumoral, a UCNP@p-QD foi administrada em tumores induzidos por Cal27/VC (lado esquerdo dos camundongos) e Cal27/MMP2 (lado direito dos camundongos). AS imagens foram obtidas após os seguintes tempos de incubação: 1 h, 8 h, 16 h e 48 h sob irradiação de 808 nm.



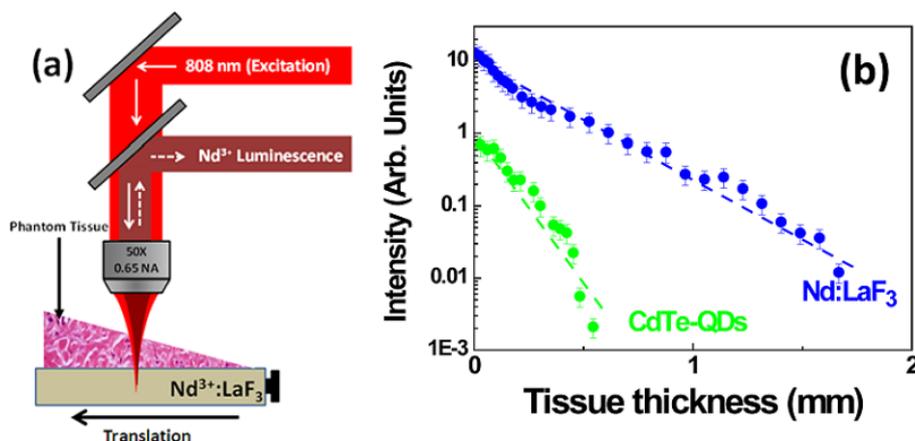
Fonte: Adaptado de ref. [38].

No referido artigo, publicado por Chan et al. [38], os autores investigaram *in vivo* a sensibilidade das UCNP@p-QD ao MMP2, ou seja, se elas eram capazes de detectar a presença

de MMP2. Para isso, eles usaram células que possuem MMP2 (Cal27/MMP2) e suas células de controle correspondentes (Cal27/VC). Como resultado, eles obtiveram que devido aos processos de transferência de energia (FRET) houve diferentes cores emitidas a depender da ausência/presença do MMP2. No caso, quando o MMP2 não estava presente as emissões em vermelhas (600 nm) e na presença de MMP2 elas eram azuis (475 nm), conforme ilustrado na Figura 3c. Para capturar imagens *in vivo*, os autores administraram UCNP@p-QD via injeção intratumoral em tumores induzidos em Cal27/VC (lado esquerdo dos camundongos) e Cal27/MMP2 (lado direito dos camundongos), conforme ilustrado na Figura 3d. Posteriormente, imagens foram adquiridas após 1 h, 8 h, 16 h e 48 h sob irradiação em 808 nm. Conforme pode ser visto na Figura 3d, é evidente que a fluorescência induzida por FRET diminuiu significativamente ao longo do tempo nos tumores induzidos por Cal27/MMP2 (1H a 48H). Em outras palavras, as UCNP@p-QDs foram degradadas pelo MMP2.

Outra característica importante das nanopartículas luminescentes, como já destacamos anteriormente, é sua capacidade de medir a temperatura dentro de tecidos, não se limitando apenas à superfície. Um exemplo disso é o trabalho de Rocha U. et al., que desenvolveram nanopartículas do tipo núcleo/casca de LaF₃ dopadas com neodímio (LaF₃:Nd³⁺) [39]. Um dos resultados obtidos foi a demonstração da detecção da luminescência em profundidades de penetração no tecido biológico de vários milímetros, conforme mostrado na Figura 4. Além disso, observou-se que essas nanopartículas possuem uma boa sensibilidade térmica, podendo, portanto, ser utilizadas como nanotermômetros luminescentes para detecção térmica dentro de tecidos biológicos. Embora neste trabalho que citamos os autores tenham usado um *Phantom Tissue*, ou seja, não era de fato um tecido biológico, há na literatura diversos trabalhos deste grupo de pesquisa mostrando experimentos *in vivo* e *in vitro* [6]. Na Figura 4 os autores comparam a penetração de profundidade do sinal emitido das nanopartículas de LaF₃:Nd³⁺ com as de CdTe-QDs, contudo, não iremos nos aprofundar nessa comparação, iremos aqui apenas comentar que, como se poder ver na Figura 4b, a profundidade de penetração obtida com as nanopartículas de LaF₃:Nd³⁺ é maior do que com as de CdTe-QDS.

Figura 4. (a) Diagrama esquemático mostrando o procedimento experimental para determinar a profundidade de penetração das NPs de $\text{LaF}_3:\text{Nd}^{3+}$. No experimento foi usado um *Phantom Tissue* para “imitar” o tecido cutâneo humano *in vitro*. O *Phantom Tissue*, em forma triangular, foi colocado entre a lente objetiva e a cubeta com as NPs de $\text{LaF}_3:\text{Nd}^{3+}$. A espessura real do tecido entre a lente objetiva e as NPs de $\text{LaF}_3:\text{Nd}^{3+}$ foi continuamente variada, para isso, o sistema "cubeta-tecido" foi movido ao longo de uma direção perpendicular à propagação do feixe laser (conforme indicado pela seta). (b) Intensidade da luminescência das NPs de $\text{LaF}_3:\text{Nd}^{3+}$ em função da espessura do tecido. Os comprimentos de onda de excitação e emissão foram 808 e 885 nm, respectivamente.



Fonte: Referência [39].

2.2.2. Os pontos quânticos

As nanoestruturas semicondutoras luminescentes, frequentemente referidas como pontos quânticos (*quantum dots* - QDs) ou nanocristais semicondutores, constituem um campo de estudo fascinante e em rápido avanço, sendo extremamente importante na nanotecnologia [40–42]. O tamanho deste tipo de partícula geralmente varia de 1 a 100 nanômetros. Sua pequena escala, e os efeitos quânticos resultantes, lhes conferem propriedades únicas. Eles possuem características que se situam entre metais e não-metais. Alterar o tamanho destas nanopartículas resulta em alterações significativas em suas características eletrônicas e ópticas [43].

Uma das aplicações dos QDs é na nanotermometria, uma vez que sua luminescência apresenta alta dependência com a temperatura, podendo ocorrer tanto mudanças na emissão quanto no deslocamento do pico. Dessa forma, os QDs podem ser usados para medir a temperatura com base na intensidade emitida ou no deslocamento espectral induzido [44–46]. Uma vantagem adicional é a capacidade de serem excitados por dois fótons na região do

infravermelho próximo, o que permite maior profundidade de penetração em tecidos biológicos, porém, a sua detecção pode ser problemática [47].

Os QDs são amplamente empregados na formação de imagens de fluorescência [48], graças à síntese de nanocristais semicondutores com tamanhos específicos, que influenciam na cor emitida, como já discutido anteriormente. Um exemplo notável é o caso de QDs de CdSe, ilustrado na Figura 5, onde se vê que eles podem ser excitados tanto por um fóton (cima) como por dois fótons (embaixo). Eles são considerados um dos primeiros nanotermômetros baseados em nanocristais semicondutores, sendo muito útil para obtenção de imagens fluorescentes excitadas por multifótons [49].

Figura 5: Foto de nanopartículas de CdSe-QDs/PBs sob excitação óptica de um fóton (cima) e dois fótons (embaixo), respectivamente, obtidas em temperatura ambiente.

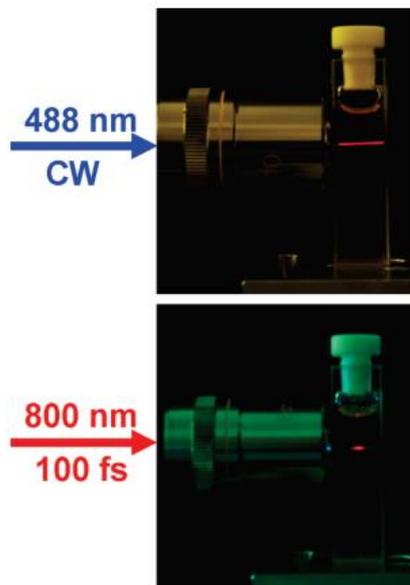


Figura 3: Referência [49].

Para concluir esta seção, uma última observação importante é que, no caso dos nanotermômetros para aplicações biológicas, é imprescindível que operem (sejam excitados e emitam) no infravermelho, dentro das regiões espectrais conhecidas como "janelas biológicas" dos tecidos humanos [50,51]. Essas janelas correspondem a comprimentos de onda nos quais os tecidos apresentam transparência parcial. Essa faixa é caracterizada por autofluorescência desprezível e grande penetração de luz nos tecidos [52]. Isso é imprescindível para minimizar as distorções espectrais que são causadas pelos tecidos biológicos, como iremos discutir na próxima seção.

2.3. Distorções espectrais causadas por tecidos biológicos

A espectroscopia emerge como uma ferramenta indispensável na biomedicina, como discutido nas seções anteriores. Por meio dela, é possível estudar como a radiação eletromagnética interage com a matéria, como por exemplo, um tecido biológico. Uma medida importante é investigar como um material absorve essa radiação. Basicamente, essa análise consiste em determinar quanto da radiação incidente no material foi absorvida. No entanto, realizar essas medidas em sistemas biológicos não é trivial, devido à complexidade dos tecidos biológicos. É de extrema importância ter um entendimento detalhado das propriedades dos tecidos para interpretar adequadamente o espectro obtido, pois os componentes do tecido não apenas absorvem a radiação incidente, mas também podem espalhá-la. Para obter um espectro de absorção confiável, é necessário que o sistema apresente apenas o efeito da absorção, o que requer uma amostra opticamente homogênea, o que não é possível no caso dos tecidos biológicos.

O exemplo da complexidade da realização de espectroscopia em tecidos biológicos é evidente nos tecidos tireoidianos, os quais apresentam uma monocamada de células epiteliais envolvendo o coloide. Essa configuração resulta em diferenças ópticas que se manifestam em um espectro no infravermelho com efeitos de espalhamento. Consequentemente, podem surgir bandas assimétricas com dados de absorbância negativos, além de um deslocamento do pico para determinados comprimentos de onda [53].

Nos tratamentos clínicos, a observação das distorções espectrais em tecidos é essencial para avaliar a eficácia dos procedimentos que envolvem medidas relacionadas à luminescência, como no caso das imagens e termometria luminescente discutidas nas seções anteriores. As distorções espectrais causadas nos materiais ($I_{det}(\lambda)$) podem ser descritas pela seguinte equação [54]:

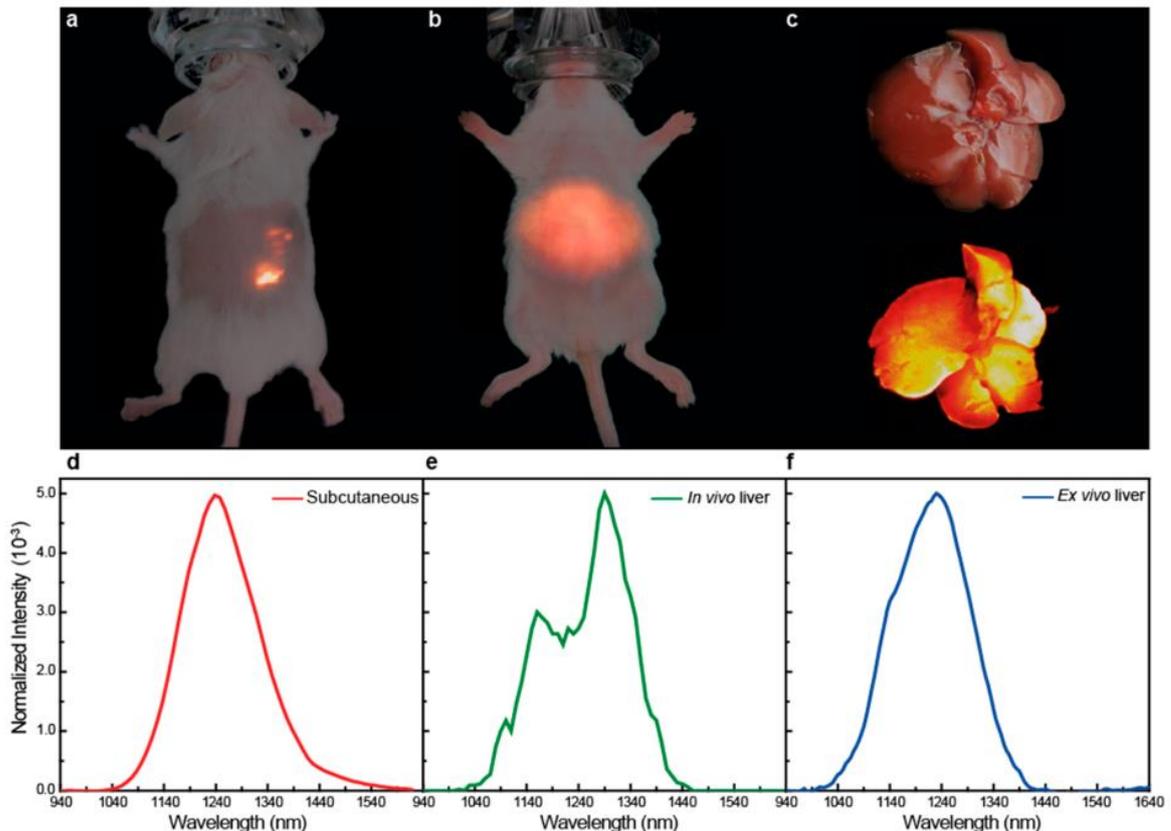
$$I_{det}(\lambda) = I_o(\lambda) e^{-g(\lambda,L)-L\left[\sum_i \varepsilon_i(\lambda) \times DPF(\lambda)\right]} \quad (1)$$

Na qual, $I_o(\lambda)$ é a intensidade do sinal incidente no material, no nosso caso, a intensidade da nanopartícula na ausência do tecido; L é a espessura do material; a função $g(\lambda, L)$ dependente da geometria do tecido, e considera as perdas de intensidade luminosa causadas pelo espalhamento; o coeficiente de extinção molar ε_i refere-se ao i -ésimo cromóforo presente no

tecido; $DPF(\lambda)$ é um fator de comprimento de trajetória diferencial. Alguns pensavam no passado que os sinais detectados e emitidos eram determinados apenas por uma constante de proporcionalidade entre o sinal original e aquele detectado. No entanto, essa afirmação é falsa, pois o coeficiente de extinção de um tecido não é independente do comprimento de onda.

Um exemplo das distorções espectrais que podem ocorrer em tecidos biológicos foi obtido por Shen et al. [54], conforme mostrado na Figura 6. Neste estudo, os autores demonstraram que o espectro de emissão de nanopartículas Ag_2S era distinto quando medido de forma subcutânea (Figura 6d), no fígado de ratos *in vivo* (Figura 6e) e em medidas *ex vivo* (Figura 6f).

Figura 6: Variações espectrais das emissões de nanopartículas de Ag_2S sob diferentes condições. Imagem de luminescência gerada nanopartículas de Ag_2S após (a) uma injeção subcutânea em um camundongo, (b) uma injeção retro-orbital em um camundongo vivo, e (c) sacrificando o camundongo e isolando o fígado (condições *ex vivo*). Espectros de emissão de (d) injeção subcutânea, (e) injeção retro-orbital, e (f) do fígado isolado após injeção retro-orbital. As imagens ópticas do camundongo e do fígado foram incluídas (ou sobrepostas) nos painéis a, b e c para uma melhor visualização.



Fonte: Referência [54].

Neste trabalho, não foi necessário determinar os parâmetros dos tecidos biológicos para então usar a Equação 1, visto que, a partir do software utilizado, que descreveremos no próximo capítulo, já tínhamos as curvas de absorção dos tecidos de interesse. Assim, em vez de aplicar a Equação 1, utilizamos a Lei de Lambert-Beer [55]. Essa lei descreve o processo pelo qual uma radiação incidente de intensidade inicial I_0 , ao atingir uma amostra, tem parte dela absorvida. A intensidade transmitida, representada por $I(\lambda)$, será menor que a intensidade incidente, percorrendo um caminho óptico de tamanho L . A expressão matemática da Lei de Lambert-Beer é dada por:

$$I(\lambda) = I_0 e^{-\alpha(\lambda)L}. \quad (2)$$

Na qual, $\alpha(\lambda)$ é o coeficiente de absorção óptica do material, o qual está relacionado com a características do material e possui dependência com o comprimento de onda. Para deixar claro, esse $\alpha(\lambda)$ é diferente das variáveis presentes na exponencial da Equação 1, podendo ter mais ou menos fatores. Uma vez que já descrevemos como as distorções espectrais ocorrem nos tecidos biológicos, passaremos à próxima seção para descrever como a temperatura local é determinada nos nanotermômetros luminescentes. Isso nos permitirá entender como as distorções espectrais podem causar medições equivocadas da temperatura local.

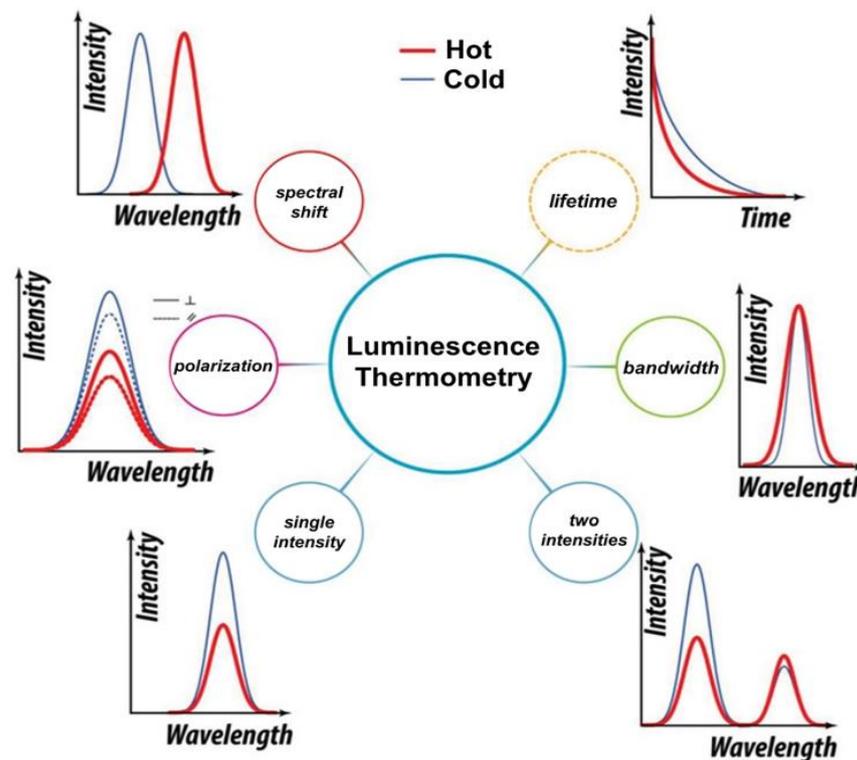
2.4. Funcionamento de um termômetro luminescente

Nesta seção, vamos nos concentrar principalmente na determinação da temperatura a partir das emissões obtidas em nanopartículas dopadas com íons de terras raras. No entanto, antes disso, faremos um comentário geral sobre a termometria luminescente e algumas possibilidades para medir a temperatura local usando nanotermômetros luminescentes.

No século XX, vários pesquisadores começaram a trabalhar na termometria luminescente e observaram uma supressão da luminescência com o aumento da temperatura, o que proporcionou a sua utilização como uma técnica não intrusiva para monitorar a temperatura de corpos[56]. Com o passar dos anos, esse tópico foi reconhecido como tendo um enorme potencial para medição de temperatura, como exemplificado pelo trabalho realizado de NPs de híbridos orgânicos-inorgânicos de Eu^{3+} para detecção e imagem de temperaturas fisiológicas[57].

A Figura 7 apresenta uma representação esquemática dos efeitos que podem ocorrer em um espectro de emissão de um nanotermômetro, como resultado de variações na temperatura. Conforme ilustrado na figura, a forma do espectro em temperaturas baixas (curva azul) é diferente do espectro em altas temperaturas (curva vermelha). As possíveis mudanças no espectro que podem ocorrer à medida que há mudanças na temperatura incluem: deslocamento espectral, polarização, intensidade, tempo de vida, largura de banda e forma da banda [58]. No caso do nosso trabalho, a temperatura local foi estimada a partir da razão das intensidades de dois picos de emissão característicos dos íons de Nd^{3+} , ou seja, a partir de uma mudança na forma da banda de emissão. Vamos detalhar isso mais adiante.

Figura 7: Representação esquemática dos possíveis efeitos nas características de emissão dos nanotermômetros luminescentes causados pelo aumento da temperatura. A curva vermelha representa uma temperatura baixa e a curva azul uma temperatura mais alta.



Fonte: Referência [58].

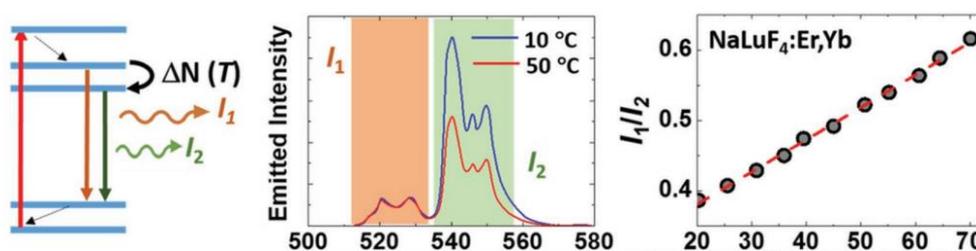
O parâmetro amplamente utilizado para qualificar um nanotermômetro de luminescência é a sensibilidade térmica relativa, que é definida pela expressão [30,58]:

$$S_r = \frac{1}{\Delta} \left| \frac{\partial \Delta}{\partial T} \right| \quad (3)$$

Na qual, Δ é o parâmetro termométrico, por exemplo, a razão de intensidade entre duas emissões dos nanotermômetros luminescentes. S_r normalmente é expresso em unidades de % por Kelvin ($\% \text{K}^{-1}$).

No caso de nanotermômetros baseados em íons de terras raras, uma das possibilidades é utilizar a razão entre duas emissões provenientes de níveis de energia que estejam relativamente próximos. Dessa forma, quando a temperatura muda, pode ocorrer uma troca de população entre esses dois níveis via multifônons; quando isso é possível de ocorrer, é dito que esses níveis estão termicamente acoplados [59]. Um exemplo são os nanotermômetros dopados com íons de Er^{3+} , onde as emissões características deste íon no verde são termicamente acopladas [60,61]. Como pode ser visto na Figura 8, a medida em que a temperatura é variada de 10°C para 50°C , ocorre uma mudança na forma da banda de emissão do Er^{3+} , no comprimento de onda em torno de 540 nm [61]. A figura também mostra que a razão entre as emissões (I_1/I_2) em função da temperatura possui um comportamento praticamente linear dentro da região de temperatura investigada.

Figura 8: Detecção térmica baseada na redistribuição populacional induzida pela temperatura de níveis de energia de íons de Er^{3+} . A coluna da esquerda, do centro e da direita correspondem, respectivamente, ao diagrama esquemático dos níveis de energia envolvidos, os espectros de emissão em 10°C e 50°C , e a razão das emissões investigadas em função da temperatura.



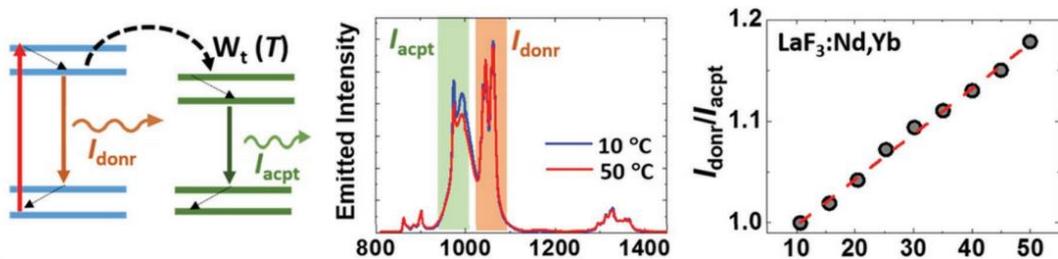
Fonte: Referência [61].

Outra possibilidade ocorre quando uma nanopartícula é codopada com mais de um íon de terras raras (TRs), permitindo a transferência de energia entre eles. Quando essa nanopartícula é excitada por um comprimento de onda específico, o fóton de excitação é absorvido por um dos íons TRs. Esse íon, chamado de doador, pode então transferir a energia para o segundo íon TE (aceitador), os quais podem liberar a energia recebida na forma de luminescência. Esse processo de transferência de energia depende da concentração dos íons

TRs e da sobreposição dos espectros de emissão do doador com as bandas de absorção do aceitador. A eficiência da transferência de energia depende diretamente da distância entre o íon doador e aceitador, da densidade de fônons envolvidos no processo, entre outros parâmetros. As formas de linha variam devido a transferência de energia, que varia por conta da densidade de fônons. Em suma, o processo de transferência de energia entre os íons de TRs em uma nanopartícula está intrinsecamente relacionado com a temperatura.

Um exemplo prático de um nanotermômetro feito a partir da emissão de dois íons de TRs está mostrada na Figura 9. Os resultados mostrados nessa figura correspondem as emissões de nanopartículas de LaF_3 codopadas com Nd^{3+} e Yb^{3+} , onde o espectro de luminescência infravermelho foi obtido por excitação óptica dos íons de Nd^{3+} , e possui bandas de emissão geradas pelos íons de Nd^{3+} e Yb^{3+} [61].

Figura 9: Nanotermômetros baseado na razão de emissão dos íons de Nd^{3+} e Yb^{3+} . A coluna da esquerda, do centro e da direita são, respectivamente, o diagrama esquemático dos níveis de energia envolvidos, os espectros de emissão em 10°C e 50°C , e a razão das emissões investigadas em função da temperatura.



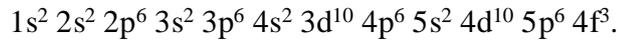
Fonte: Referência [61].

A seguir, abordaremos de forma mais específica o espectro de emissão dos íons de Nd^{3+} , que foram os íons de TRs utilizados neste estudo.

2.5. Os íons de Nd^{3+}

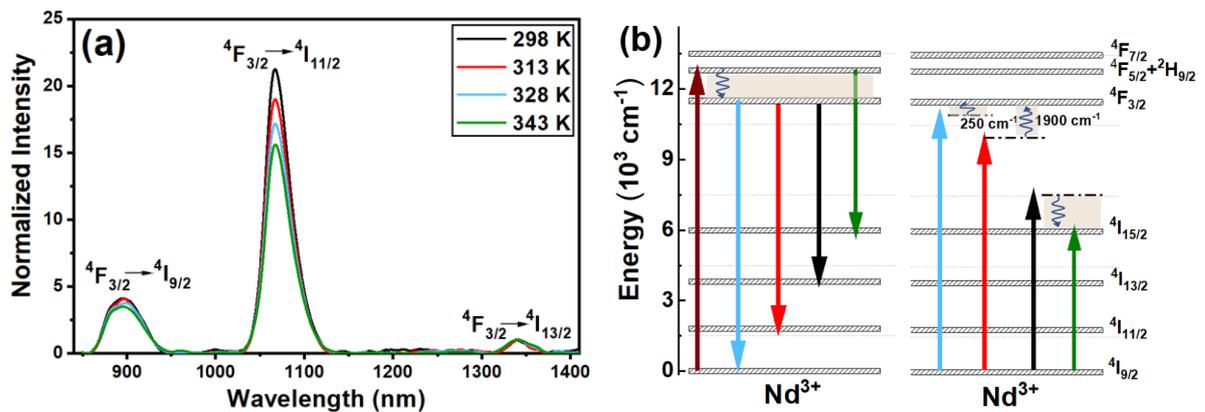
Como mencionado em seções anteriores, os íons de neodímio trivalentes (Nd^{3+}) pertencem ao grupo dos elementos TRs e exibem emissões características no infravermelho quando excitados a 808 nm [62–64]. Eles têm sido amplamente utilizados em várias aplicações,

como na construção de lasers e em nanotermometria. Eles possuem a seguinte configuração eletrônica:



Nessa configuração, a camada 4f não é totalmente preenchida, o que faz com que as transições eletrônicas possíveis entre estes níveis gerem espectros de absorção e emissão característicos. Adicionalmente, a pouca interação dos elétrons da camada 4f com o meio externo, que estão devidamente blindados pelos elétrons das camadas externas, resulta em níveis de energia bem definidos. A Figura 10a mostra o espectro característico dos íons de Nd^{3+} sob excitação a 808 nm, enquanto a Figura 10b apresenta um desenho esquemático dos principais níveis destes íons [65].

Figura 10: Espectros de emissão normalizados de nanocristais de TiO_2 dopados com íons de Nd^{3+} ($\text{TiO}_2:\text{Nd}^{3+}$) em quatro temperaturas diferentes (298, 313, 328 e 343 K), sob excitação em 808 nm. Os espectros foram normalizados para o pico em torno de 1340 nm. A variação da intensidade de emissão com o aumento da temperatura pode ser observada nas emissões em torno de 1060 nm e 1340 nm, correspondendo às transições ${}^4\text{F}_{3/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{11/2}$ e ${}^4\text{F}_{3/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{9/2}$, respectivamente. (b) Diagrama simplificado dos níveis de energia para os nanocristais de $\text{TiO}_2:\text{Nd}^{3+}$ sob excitação em 808 nm, apresentando os possíveis processos de relação cruzada (RC).



Fonte: Referência [65].

Conforme pode ser visto na Figura 10b, os íons de Nd^{3+} , a partir do nível ${}^4\text{F}_{3/2}$ (estado metaestável), ocorrem transições eletrônicas para os estados ${}^4\text{I}_{9/2}$, ${}^4\text{I}_{11/2}$, ${}^4\text{I}_{13/2}$ e ${}^4\text{I}_{15/2}$. Essas transições resultam em emissões em torno de 890, 1060, 1330 e 1550 nm, respectivamente. Contudo, vale ressaltar que outras transições podem ocorrer nos estados ${}^4\text{F}_{5/2}$ e ${}^4\text{F}_{7/2}$. Uma característica importante é que os estados metaestáveis dos íons de Nd^{3+} possuem um tempo de vida relativamente longo, o que permite que os elétrons permaneçam em seus estados de energia por um período maior quando comparado com outros níveis de energia, antes de voltarem para

o estado fundamental. Essas características particulares dos íons de Nd^{3+} os tornam adequados para serem utilizados para o desenvolvimento de lasers [66].

No trabalho referente a referência [65], foram utilizados a razão das emissões dos íons de Nd^{3+} para determinar a temperatura. No caso, foi utilizada a razão entre as emissões em 1060 nm e 1340 nm ($I_{1060 \text{ nm}}/I_{1340 \text{ nm}}$), que correspondem as transições ${}^4F_{3/2} \rightarrow {}^4I_{11/2}$ e ${}^4F_{3/2} \rightarrow {}^4I_{13/2}$, respectivamente, conforme esquematizado na Figura 10b. Os detalhes sobre a matriz hospedeira, no caso o TiO_2 , e sobre a sensibilidade térmica relativa dessas nanopartículas podem ser obtidas na referência [65]. A Tabela 1 destaca várias nanoestruturas que usam o Nd^{3+} para nanotermometria, com seus respectivos valores máximos de sensibilidade térmica relativa. Em nosso trabalho, usamos também estas NPs de $\text{TiO}_2:\text{Nd}^{3+}$, conforme iremos detalhar no próximo capítulo.

Tabela 1: Valor máximo da sensibilidade térmica relativa (S_r) para nanocristais dopados com Nd^{3+} usando a técnica de razão de intensidade de fluorescência (RIF). A tabela inclui os intervalos de operação espectral correspondentes.

sistema	Comprimento de onda (nm)	Região de operação (nm)	Valor máximo S_r (% K^{-1})	Ref.
$\text{TiO}_2:10\text{Nd}^{3+}$	808	1000–1400	0,86	[65]
$\text{CaF}_2:\text{Nd}^{3+},\text{Gd}^{3+}$	573	850-1100	0,12	[67]
$\text{LaF}_3:\text{Nd}$	808	850–930	0,26	[68]
$\text{YVO}_4:\text{Nd}$	808	1063	0,25	[69]
$\text{YAG}:\text{Nd}$	808	940	0,15	[70]
$\text{NaYF}_4:\text{Nd}$	830	870	0,12	[71]

3. METODOLOGIA

Neste capítulo, descreveremos como o software *Virtual Tissue Simulator* foi utilizado para obter as curvas de absorção, bem como os espectros distorcidos correspondentes foram calculados.

3.1. Descrição do software utilizado para obter as curvas de absorção

Em nosso trabalho, utilizamos o software *Virtual Tissue Simulator* (VTS) para obter curvas de absorção dos tecidos de interesse. Este simulador oferece cinco opções: *Forward Solver*, *Fluence*, *Inverse Solver Panel*, *Spectral Panel*, *Monte Carlo Solver Panel*. A seção que foi utilizada para a obtenção das curvas de absorção é o *Spectral Panel*, pois é nessa parte que estão disponíveis as curvas de absorção dos tecidos desejados e seus respectivos parâmetros.

Na opção “*Spectral Panel*”, as únicas opções que foram modificadas para obter as curvas de absorção foram: *Tissue Types*, *Absorber Concentrations* e *Wavelength Range*. A Figura 11 mostra o painel do Software VTS referente a estas opções.

Esse software possui diversas características que serão mostradas abaixo:

- Projeção e distribuição de ferramentas de software de código aberto de fácil utilização com interfaces gráficas de usuário que simulem a propagação e distribuição de radiação óptica em células e tecidos.
- Possui recursos educacionais que oferecem a base apropriada para o uso adequado dessas ferramentas computacionais.
- Desenvolve modelos computacionais aprimorados para simular e projetar modalidades de diagnósticos, imagem e terapia térmica.

Figura 11: Painel espectral do VTS para obtenção das curvas de absorção de diferentes tecidos.

The image shows a software interface for VTS (Virtual Tissue Spectroscopy) with several sections:

- Tissue Types:** A list of tissue types including Skin, BrainWhiteMatter, BrainGrayMatter, BreastPreMenopause, BreastPostMenopause, Liver, IntralipidPhantom, and Custom. 'Skin' is selected.
- Absorber Concentrations:** Input fields for Hb [μM]: 28,4; HbO2 [μM]: 22,4; H2O [vol. frac.]: 0,7; Fat [vol. frac.]: 0; Melanin [vol. frac.]: 0,0051. A 'Reset Values' button is present.
- Blood Concentration:** Input fields for Total Hb [μM]: 50,8; Blood volume [vol. frac.]: 0,0218; StO2 [frac.]: 0,441.
- Scatterer Type:** Radio buttons for Power Law [A*λ^(-b)] (selected), Intralipid [vol. frac.], and Mie Particle. Below are input fields for A = 1,2 and b = 1,42 (A = μs' at 1000nm).
- Single-λ Calculator:** Input field for At λ [nm]: 650. An 'Update' button shows μ_a [1/mm] = 0,168 and μ_s' [1/mm] = 2,21.
- Wavelength Range:** Input fields for Begin [nm]: 650, End [nm]: 1000, and Number: 36. Two buttons are present: 'Plot μ_a Spectrum' and 'Plot μ_s' Spectrum'.

Fonte: Autor, 2024.

Inicialmente, em *Tissue Types*, foram selecionados os tipos de tecidos, incluindo a pele, matéria branca do cérebro, tecido mamário pré-menopausa e do fígado. Em seguida, na opção *Wavelength Range* foi possível mudar a região espectral de interesse, que foi escolhida de 850 nm a 1150 nm. Quantidade pontos escolhida foi de 601, que correspondia a quantidade de pontos dos espectros de emissão das NPs de TiO₂:Nd³⁺. Posteriormente, em *Absorber Concentrations*, foram modificadas as concentrações de água e gordura para os diferentes tecidos mencionados anteriormente. Por fim, as curvas de absorção foram plotadas em “*Plot μ_a Spectrum*”.

3.2. Descrição de como foram obtidos os espectros distorcidos.

Os dados das curvas de absorção obtidos a partir do software VTS foram exportados para o aplicativo Origin com o objetivo de gerar curvas dos espectros distorcidos para os diferentes tecidos. As curvas dos espectros distorcidos foram calculadas a partir da Equação 2, onde o α representa os dados exportados das curvas de absorção do VTS. Posteriormente, procedeu-se à plotagem da curva do espectro não distorcido das NPs de TiO₂:Nd³⁺ junto com as curvas dos espectros distorcidos. Vale ressaltar aqui que não realizamos a aquisição dos espectros de emissão das NPs de TiO₂:Nd³⁺, eles foram obtidos a partir dos experimentos realizados por Silva et al [72].

O passo seguinte foi utilizar os espectros mostrados na Figura 10a para obter as intensidades das emissões em 895 nm e 1067 nm para as diferentes temperaturas estudadas. Os valores obtidos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Dados da temperatura e dos valores de intensidade para as emissões em 895 e 1067 nm para as NPs de $\text{TiO}_2:\text{Nd}^{3+}$.

Temperatura (°C)	I ₁ (895 nm)	I ₂ (1067 nm)
30	4,11185	21,24070
45	4,04723	18,98605
60	3,70543	17,15833
75	3,47837	15,59890

Fonte: Autor, 2024.

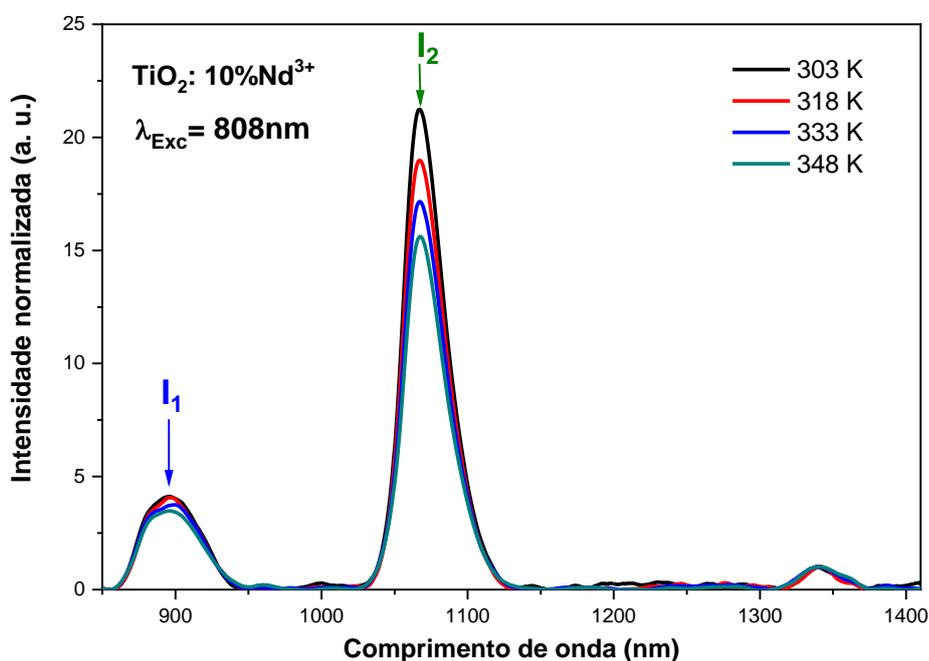
A partir dos valores apresentados na Tabela 2 calculou-se a razão entre a maior intensidade (1067 nm) e a menor intensidade (895 nm). Utilizando esses valores da razão, foi realizado um ajuste polinomial em função da temperatura. Esse ajuste polinomial foi empregado para obter valores de temperatura correspondentes as diferentes razões de intensidades. Como a temperatura mais baixa utilizada nos experimentos da referência [65] era 30°C, realizamos uma extrapolação numérica na curva da razão das intensidades em função da temperatura para obter valores de temperatura no intervalo de 20°C a 80°C. Isso foi feito por meio de um programa em Python, utilizando a equação obtida a partir do ajuste polinomial, que será mostrado no próximo capítulo. Em seguida, calculamos a razão das intensidades das curvas dos espectros distorcidos, para os mesmos comprimentos de onda mencionados anteriormente (895 nm e 1067 nm). Esse cálculo foi realizado para cada um dos tecidos de interesse, levando em conta suas concentrações de água e gordura modificadas. Com base nisso, determinamos a temperatura medida a partir da razão das intensidades desses picos de emissão, cujos valores serão apresentados no próximo capítulo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como já falado nos capítulos anteriores, foram utilizados espectros de emissão de nanopartículas de TiO_2 (dióxido de titânio) dopadas com Nd^{3+} [72]. Ele foi selecionado devido às suas diversas possibilidades de excitação na primeira janela biológica (650 a 950 nm) e suas emissões na segunda janela biológica (1000 a 1380 nm). Portanto, inicialmente, seria um espectro com poucas distorções espectrais, o que permitiria verificar a confiabilidade da medição da temperatura local usando este tipo de nanotermômetro em aplicações biológicas.

Na Figura 12, apresentamos os espectros de emissão, normalizados pela emissão em torno de 1340 nm, para diferentes temperaturas em Kelvin (303 K, 318 K, 333 K e 348 K). Contudo, em nossas análises usamos apenas os espectros obtidos em temperatura ambiente (303 K), por já serem o suficiente para o propósito do nosso trabalho. Na figura é indicado também os picos que foram utilizados para o cálculo da razão das emissões em 895 nm (I_1) e 1067 nm (I_2).

Figura 12: Espectros de emissão normalizados das nanopartículas de $\text{TiO}_2:\text{Nd}^{3+}$ em diferentes temperaturas: 303 K, 318 K, 333 K e 348 K, sob excitação em 808 nm.

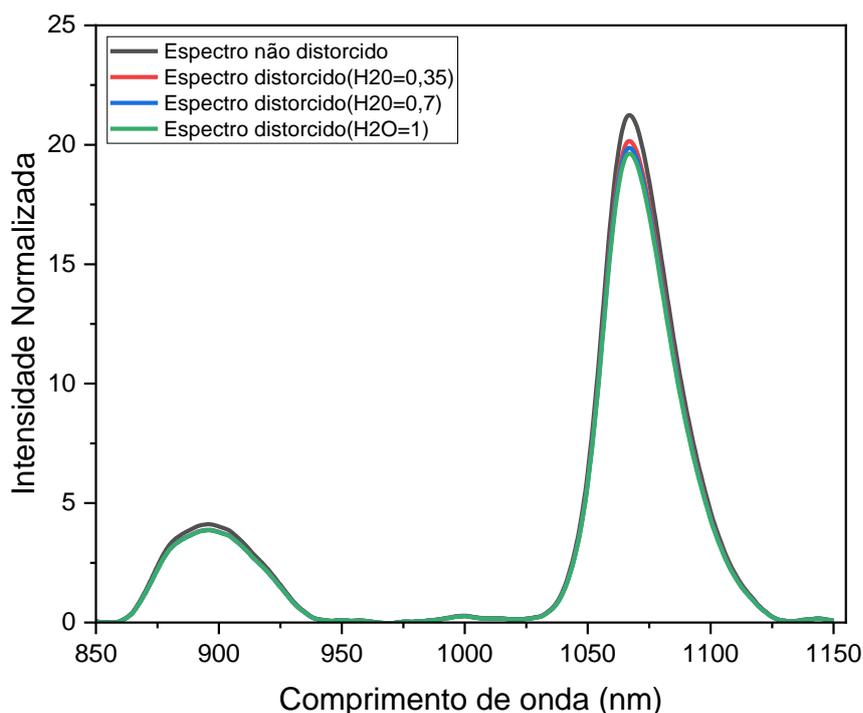


Fonte: Referência [72].

Inicialmente, investigamos as distorções espectrais causadas pela pele, o resultado é mostrado na Figura 13. Nessa figura temos a curva do espectro não distorcido em 303 K, juntamente com as curvas dos espectros distorcidos. Como falado em capítulos anteriores, essas

curvas distorcidas foram obtidas a partir da lei de Lambert-Beer (Equação 2), considerando a variação da concentração de H₂O (0,35; 0,7 e 1,0 em vol. frac.) e as respectivas curvas de absorção da pele obtidas no software VTS.

Figura 13: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de H₂O da pele (0,35; 0,7 e 1,0 em vol. frac.).



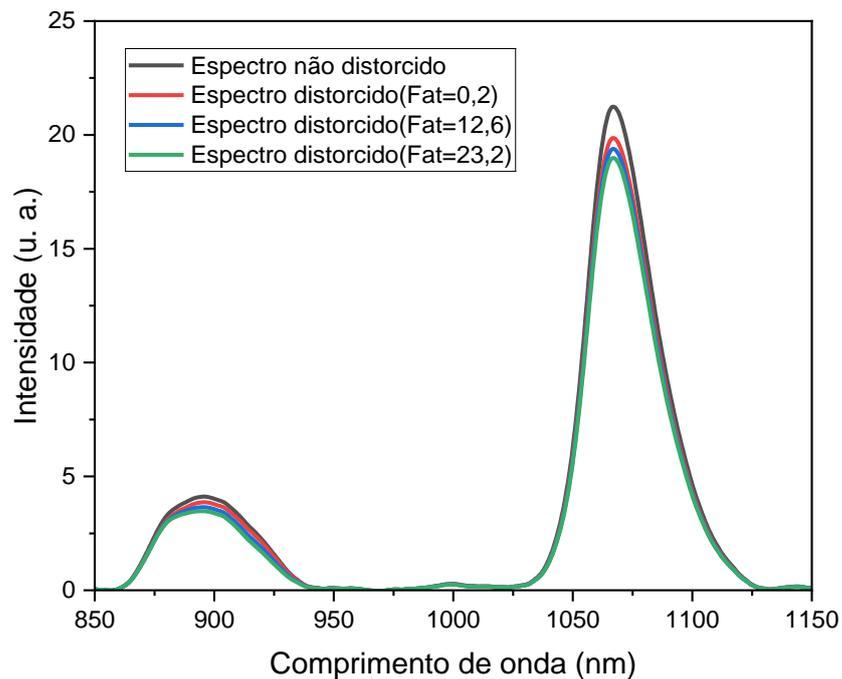
Fonte: Autor, 2024.

A partir da Figura 13, observa-se que, ao realizar mudanças na concentração de H₂O o pico em torno de 1067 nm é o que sofre a maior alteração, no caso, vemos uma redução considerável em sua intensidade. Este resultado implica que essa distorção espectral resulta numa medida equivocada da temperatura local, caso essa distorção fosse desconsiderada. Isso ocorre devido ao fato de que nos nanotermômetros luminescentes, baseados na razão entre picos de emissão, a temperatura é determinada a partir da comparação do valor obtido na razão das emissões com uma curva previamente definida de razão de intensidade versus temperatura, como discutido nos capítulos anteriores. A partir deste primeiro resultado, podemos então destacar que embora as emissões do Nd³⁺ estejam nas chamadas janelas biológicas, as distorções espectrais causadas por tecidos biológicos não podem ser ignoradas.

Em seguida, foi analisada a distorção espectral causada pela pele quando a concentração de gordura (fat) foi variada, o resultado se encontra na Figura 14. A concentração de gordura

considerada padrão no software VTS é de 0,2 (em vol. frac.). Assim, além do valor padrão (0,2) usamos também os valores de concentração de gordura de 12,6 e 23,2. Foi possível obter uma distinção notável nas curvas dos espectros de emissão distorcidos apenas quando houve uma grande variação do parâmetro (gordura). Ao comparar os resultados obtidos na Figura 13 e Figura 14, podemos afirmar que, na pele, a variação na concentração de água apresenta uma maior influência na distorção espectral, quando comparada à concentração de gordura.

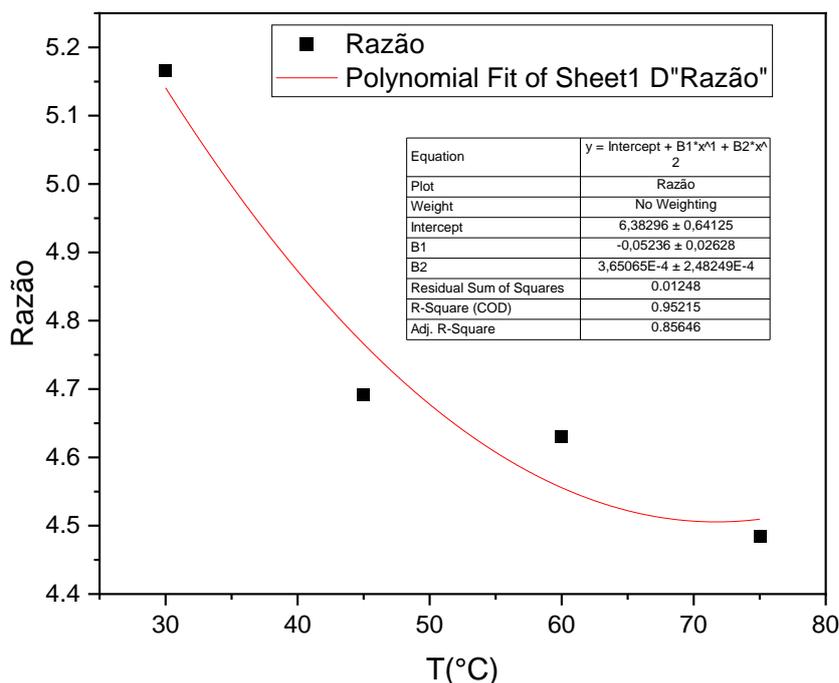
Figura 14: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de gordura da pele (0,2; 12,6 e 23,2 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

Com o propósito de analisar quais seriam as temperaturas medidas a partir dos espectros distorcidos, em cada uma das situações acima, calculamos para cada caso a razão das emissões em 895 nm (I_1) e 1067 nm (I_2), como já descrito anteriormente na metodologia. Após isso, geramos um gráfico da razão das emissões em função da temperatura. Posteriormente, aplicamos um ajuste polinomial para obter os valores dessa razão entre as intensidades para diferentes temperaturas, a partir dos dados obtidos no espectro não distorcido, como é mostrado na Figura 15.

Figura 15: Razão das emissões em função da temperatura a partir dos dados obtidos no espectro não distorcido. A curva vermelha é um ajuste polinomial.



Fonte: Autor, 2024.

Como falado na metodologia, foi necessário obter valores da razão das intensidades para temperaturas abaixo daquelas reportadas na referência [65]. Para isso, usamos um ajuste polinomial nos dados da Figura 15 (curva vermelha), onde obtivemos a seguinte equação para a razão das emissões em função da temperatura (T):

$$R(T) = 6,3830 - 0,0524 \times T + (3,6507 \times 10^{-4}) \times T^2. \quad (3)$$

A partir dessa equação, foi possível determinar qual seria a temperatura medida a partir dos espectros distorcidos mostrados na Figura 13 e 14. Esses resultados são apresentados nas Tabela 3, onde também está incluído o cálculo do desvio padrão:

$$Desvio = \frac{|T(real) - T(medida)|}{T(real)} \times 100\%. \quad (4)$$

Na tabela 3 é possível observar alguns valores de desvio percentual são relativamente altos. Por exemplo, para uma concentração de H₂O igual a 1,0 (em vol. frac.) o desvio percentual foi de 8,89%. Em outras palavras, embora o tecido (pele) estivesse a uma temperatura de 29,12 (°C), o nanotermômetro indicaria, de forma equivocada, que a

temperatura era de 31,71 (°C). Em tratamentos, como aqueles baseados em hipermetria, tal imprecisão sem dúvida impactaria na eficácia do tratamento. Além disso, a partir da Tabela 3, vemos que para uma concentração de gordura na pele de 23,6 (vol. frac.) o desvio entre a temperatura real do tecido e aquela medida pelo nanotermômetro chegaria a 29,67%. Em resumo, vemos aqui que em um experimento de nanotermometria na pele, se durante uma medida de temperatura ocorrer uma mudança na contração de H₂O da pele isso levará a uma medida equivocada da temperatura local. Além disso, em regiões da pele, onde a concentração de gordura fosse diferente, isso também levaria a uma medida equivocada da temperatura local.

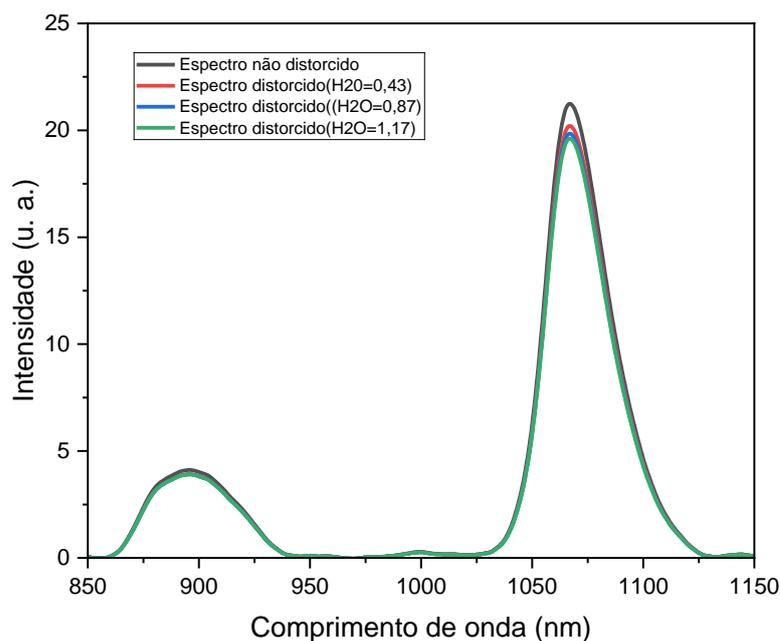
Tabela 3: Dados das temperaturas obtidas a partir do espectro real (não distorcido) e do espectro distorcido pela pele quando foi variada a concentração de H₂O e gordura. O valor padrão utilizado no software VTS, dos respectivos parâmetros, está indicado ao lado do valor correspondente. A temperatura de 29,12 (°C) do tecido significa a sua temperatura real, ou seja, ainda não sofreu alterações na concentração de água ou gordura.

Pele	T(°C)	Desvio
Sem variar concentração	29,12	-
H2O=0,35	27,98	3,91%
H2O=0,70 (padrão)	29,96	2,88%
H2O=1,00	31,71	8,89%
Gordura=0,2 (padrão)	29,90	2,68%
Gordura=12,6	24,68	15,25%
Gordura=23,2	20,48	29,67%

Fonte: Autor, 2024.

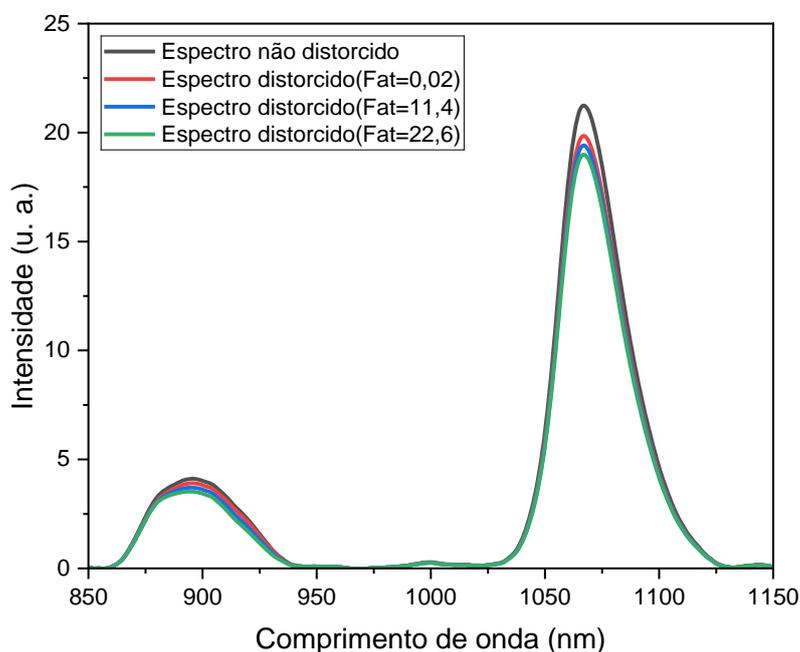
Em seguida, analisamos os erros de temperatura que poderiam ocorrer em experimentos de nanotermometria feitos no fígado, quando houvesse mudanças na concentração de H₂O (0,43; 0,87 e 1,17 em vol. frac.) e gordura (0,02; 11,4 e 22,6 em vol. frac.), os espectros distorcidos estão mostrados nas Figuras 16 e 17, respectivamente. Vemos novamente aqui que as maiores distorções ocorrem no pico com emissão em torno de 1067 nm. Houve uma variação considerável na intensidade do pico em torno de 895 nm apenas quando foi variada a concentração de gordura do fígado, conforme mostrado na Figura 17.

Figura 16: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de H₂O do fígado (0,43; 0,87 e 1,17 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

Figura 17: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de gordura do fígado (0,02; 11,4 e 22,3 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

A Tabela 4 mostra as temperaturas que seriam obtidos caso estes nanotermômetros luminescentes fossem utilizados para medir a temperatura do fígado, considerando mudanças na concentração de H₂O (0,43; 0,87 e 1,17 em vol. frac.) e gordura (0,02; 11,4 e 22,6 em vol. frac.).

frac.). Como resultado, vemos que para variações da concentração de H₂O foi obtido um desvio na medida da temperatura local relativamente grande, no caso, foi obtido um desvio de 16,31% para uma concentração de H₂O igual a 1,17 (em vol. frac.). Este resultado indica que o fígado estaria numa temperatura de 29,12 °C, mas o nanotermômetro indicaria, de forma equivocada, a temperatura de 33,87%, isso corresponde a uma diferença de 4,75°C, o que é uma diferença bastante elevada, considerando a importância da precisão na medida da temperatura neste tipo de experimento. Com relação aos resultados referente a variação de gordura, vemos da Tabela 4 que os desvios no valor da temperatura também foram elevados, chegando a 22,66% para uma concentração de gordura de 22,6 (em vol. frac.). Contudo, vale ressaltar que é preciso investigar na literatura se um valor tão alto de gordura pode de fato ocorrer no fígado.

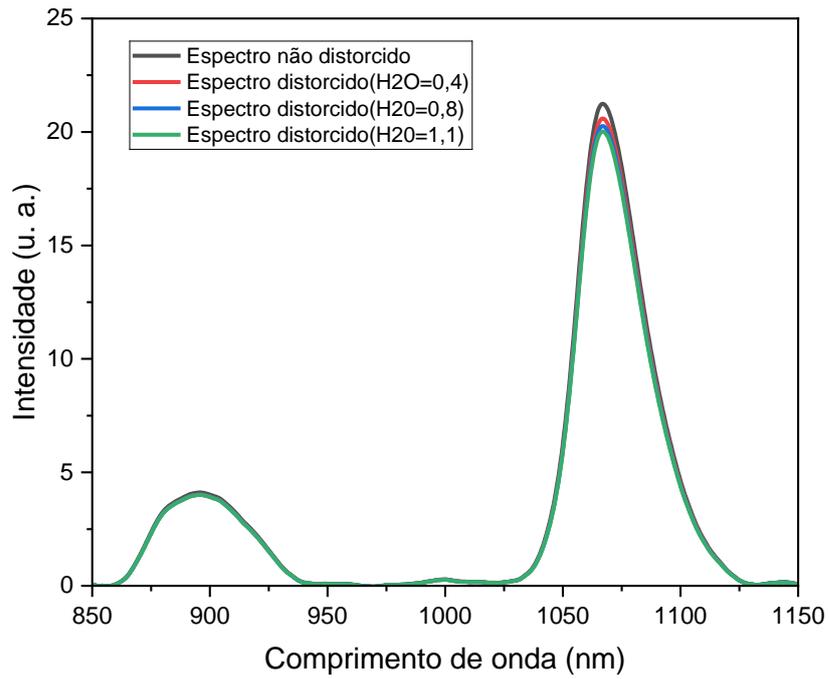
Tabela 4: Dados das temperaturas obtidas a partir do espectro real (não distorcido) e do espectro distorcido pelo fígado quando foi variada a concentração de H₂O e gordura. O valor padrão utilizado no software VTS, dos respectivos parâmetros, está indicado ao lado do valor correspondente. A temperatura de 29,12 (°C) do tecido significa a sua temperatura real, ou seja, ainda não sofreu alterações na concentração de água ou gordura.

Fígado	T(°C)	Desvio
Sem variar concentração	29,12	-
H2O=0,43	29,42	1,03%
H2O=0,87 (padrão)	32,07	10,13%
H2O=1,17	33,87	16,31%
Gordura=0,02 (padrão)	32,07	10,13%
Gordura=11,4	27,08	7,01%
Gordura=22,6	22,52	22,66%

Fonte: Autor, 2024.

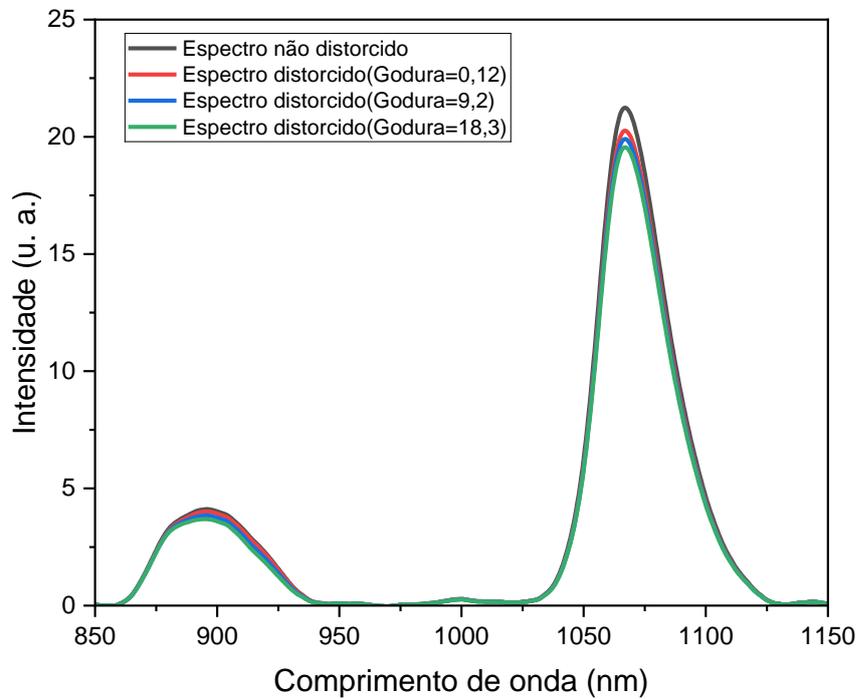
Em seguida, analisamos os erros de temperatura que poderiam ocorrer em experimentos de nanotermometria feitos no tecido cerebral, quando houvesse mudanças na concentração de H₂O (0,4; 0,8 e 1,1 em vol. frac.) e gordura (0,12; 9,2 e 18,3 em vol. frac.), os respectivos espectros distorcidos estão mostrados nas Figuras 18 e 19. Mais uma vez, as maiores distorções espectrais ocorreram no pico com emissão em torno de 1067 nm. Além disso, houve uma variação considerável na intensidade do pico em torno de 895 nm apenas quando foi variada a concentração de H₂O, conforme mostrado na Figura 18. Este comportamento foi diferente do que havíamos visto no caso do fígado, onde a variação da concentração de H₂O praticamente não teve influência no pico com emissão em torno de 895 nm.

Figura 18: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de H₂O do tecido cerebral (0,4; 0,8 e 1,1 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

Figura 19: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de gordura do tecido cerebral (0,12; 9,2 e 18,3 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

A Tabela 5 mostra as temperaturas que seriam obtidas caso estes nanotermômetros luminescentes fossem utilizados para medir a temperatura do tecido cerebral, considerando mudanças na concentração de H₂O (0,4; 0,8 e 1,1 em vol. frac.) e gordura (0,12; 9,2 e 18,3 em vol. frac.). Os resultados indicam que para variações da concentração de H₂O foi obtido um desvio percentual máximo igual a 19,61% na medida da temperatura local, referente a concentração de H₂O de 1,1 (em vol. frac.). Este valor de 1,1 é apenas um pouco acima daquele considerado como padrão pelo Software VTS, que é de 0,8. Assim, vemos que houve aqui um grande desvio percentual, ou seja, isso levaria a um grande erro na temperatura real do tecido cerebral. Com relação aos resultados referente a variação de gordura no tecido cerebral, a partir da Tabela 5, vemos que os desvios no valor da temperatura foram inferiores àqueles relacionados as mudanças na concentração de H₂O. No caso, foi obtido um desvio percentual máximo de 14,01%, referente a uma concentração de gordura de 18,3 (em vol. frac.). Isso provavelmente deve estar relacionado ao fato de que o tecido cerebral talvez tenha pouca gordura, fazendo com que isso não seja um parâmetro que cause tantas distorções no espectro.

Tabela 5: Dados das temperaturas obtidas a partir do espectro real (não distorcido) e do espectro distorcido pelo tecido cerebral (*Brain White Matter*) quando foi variada a concentração de H₂O e gordura. O valor padrão utilizado no software VTS, dos respectivos parâmetros, está indicado ao lado do valor correspondente. A temperatura de 29,12 (°C) do tecido significa a sua temperatura real, ou seja, ainda não sofreu alterações na concentração de água ou gordura.

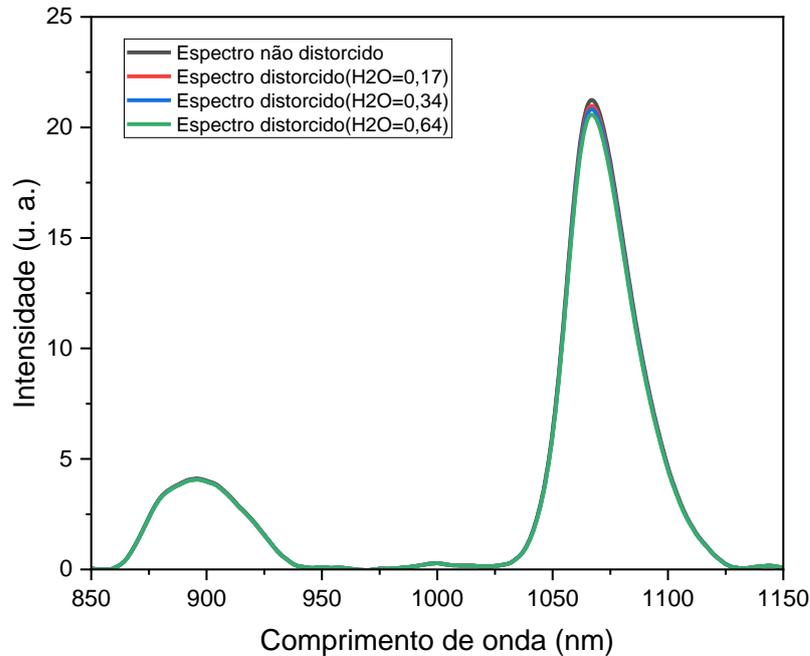
Matéria branca do cérebro	T(°C)	Desvio
Sem variar concentração	29,12	-
H ₂ O=0,4	30,57	4,98%
H ₂ O=0,8 (padrão)	32,97	13,22%
H ₂ O=1,1	34,83	19,61%
Gordura=0,12 (padrão)	32,97	13,22%
Gordura=9,2	28,88	0,82%
Gordura=18,3	25,04	14,01%

Fonte: Autor, 2024.

Por fim, foi analisado os erros de temperatura que poderiam ocorrer em experimentos de nanotermometria feitos no tecido mamário (*Breast Pre Menopause*), quando houvesse mudanças na concentração de H₂O (0,17; 0,34 e 0,64 em vol. frac.) e gordura (0,41; 15,8 e 26,4 em vol. frac.), os respectivos espectros distorcidos estão mostrados nas Figuras 20 e 21. Para este caso, vemos que quando houve mudanças na concentração de H₂O ocorreram poucas distorções espectrais, como visto na Figura 20. Já no caso da variação da concentração de gordura, houve

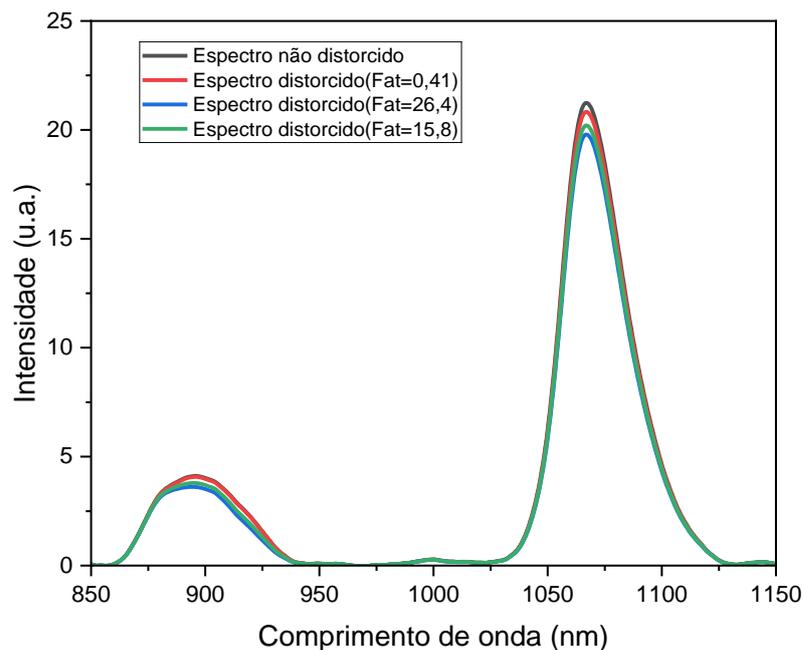
uma distorção espectral considerável, tanto no pico em torno de 895 nm como em 1067 nm. Talvez porque o tecido mamário tenha bastante concentração de gordura, gerando, portanto, mais distorções espectrais relacionadas a este parâmetro.

Figura 20: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de H₂O do tecido mamário (0,17; 0,34 e 0,64 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

Figura 21: Curvas dos espectros distorcidos e não distorcidos com alteração na concentração de gordura do tecido mamário (0,41; 15,8 e 26,4 em vol. frac.).



Fonte: Autor, 2024.

Vamos analisar agora as temperaturas que seriam obtidas caso estes nanotermômetros luminescentes fossem utilizados para medir a temperatura do tecido mamário, considerando mudanças na concentração de H₂O (0,4; 0,8 e 1,1 em vol. frac.) e gordura (0,12; 9,2 e 18,3 em vol. frac.). Os resultados estão mostrados na Tabela 6 e indicam que, para variações da concentração de H₂O, tivemos um desvio percentual na temperatura de 11,57%, para o maior valor da concentração de H₂O que foi utilizado, que foi de 0,64 (praticamente o dobro do valor padrão usado no software VTS). Isso corresponde a uma temperatura de 32,49 °C, enquanto que, a temperatura real do tecido seria de 29,12 °C. Vemos novamente que embora o desvio não parece tão grande, contudo, isso levaria a um erro na medição da temperatura de 3,37 °C. Com relação aos resultados referente a variação de gordura no tecido mamário, a partir da Tabela 6, vemos que houve um grande desvio percentual, no caso, foi obtido um desvio de 31,11% na medida da temperatura referente a uma concentração de 26,4 (em vol. frac.).

Tabela 6: Dados das temperaturas obtidas a partir do espectro real (não distorcido) e do espectro distorcido pelo tecido mamário (*Breast Pre Menopause*) quando foi variada a concentração de H₂O e gordura. O valor padrão utilizado no software VTS, dos respectivos parâmetros, está indicado ao lado do valor correspondente. A temperatura de 29,12 (°C) do tecido significa a sua temperatura real, ou seja, ainda não sofreu alterações na concentração de água ou gordura.

Pré menopausa mamária	T(°C)	Desvio
Sem variar concentração	29,12	-
H ₂ O=0,17	29,66	1,85%
H ₂ O=0,34 (padrão)	30,69	5,39%
H ₂ O=0,64	32,49	11,57%
Gordura=0,41 (padrão)	30,69	5,39%
Gordura=15,8	24,2	16,90%
Gordura=26,4	20,06	31,11%

Fonte: Autor, 2024.

5. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, apresentamos as possibilidades do uso de nanopartículas luminescentes para a realização de medições de temperatura em diagnósticos e tratamentos clínicos. Discutimos a importância das excitações e emissões, deste tipo de nanopartículas, ocorrerem dentro das regiões espectrais conhecidas como janelas biológicas. No entanto, demonstramos aqui que, embora isso minimize as distorções espectrais causadas pelos tecidos biológicos, o uso de nanotermômetros luminescentes pode resultar em grandes erros na medição da temperatura local.

Através da análise dos possíveis erros nas medidas de temperatura em tecidos biológicos, utilizando o software *Virtual Tissue Simulator* para obter as curvas de absorção de diversos tecidos (pele, fígado, cérebro e mama), vimos que estes erros podem ser relativamente grandes. Para isso, analisamos os espectros distorcidos das emissões de nanopartículas de $\text{TiO}_2:\text{Nd}^{3+}$ ao variar as concentrações de H_2O e gordura nos tecidos. Como resultado, observamos que essas variações podem resultar em erros na medição da temperatura de mais de 4°C em algumas situações, o que representa um valor significativo, considerando que erros desta ordem são muito elevados quando pensamos em sistemas biológicos e tratamentos à base de hipertermia.

Portanto, o estudo aqui desenvolvido destaca a complexidade das interações entre os tecidos biológicos e as emissões de nanotermômetros luminescentes, proporcionando uma compreensão mais abrangente das limitações e possibilidades dessas técnicas em contextos clínicos. Por fim, esperamos que este trabalho possa estimular o desenvolvimento de técnicas que possam corrigir as distorções espectrais causadas pelos tecidos biológicos, como por exemplo, através do uso de inteligência artificial para corrigir estas distorções.

REFERÊNCIAS

1. D. Jaque and F. Vetrone, "Luminescence nanothermometry," *Nanoscale* **4**(15), 4301–4326 (2012).
2. X. Wang, O. S. Wolfbeis, and R. J. Meier, "Luminescent probes and sensors for temperature.," *Chem Soc Rev* **42**(19), (2013).
3. D. Jaque and F. Vetrone, "Luminescence nanothermometry," *Nanoscale* **4**(15), 4301–4326 (2012).
4. B. del Rosal, E. Ximendes, U. Rocha, and D. Jaque, "In Vivo Luminescence Nanothermometry: from Materials to Applications," *Adv Opt Mater* **5**(1), (2017).
5. E. C. Ximendes, U. Rocha, B. del Rosal, A. Vaquero, F. Sanz-Rodríguez, L. Monge, F. Ren, F. Vetrone, D. Ma, J. García-Solé, C. Jacinto, D. Jaque, and N. Fernández, "In Vivo Ischemia Detection by Luminescent Nanothermometers," *Adv Healthc Mater* **6**(4), 1601195 (2017).
6. Y. Shen, J. Lifante, N. Fernández, D. Jaque, and E. Ximendes, "In Vivo Spectral Distortions of Infrared Luminescent Nanothermometers Compromise Their Reliability," *ACS Nano* **14**(4), 4122–4133 (2020).
7. A. C. C. Soares, T. O. Sales, E. C. Ximendes, D. Jaque, and C. Jacinto, "Lanthanide doped nanoparticles for reliable and precise luminescence nanothermometry in the third biological window," *Nanoscale Adv* **5**(14), 3664–3670 (2023).
8. G. López-Peña, K. Hamraoui, K. Horchani-Naifer, C. Gerke, D. H. Ortgies, E. Martín Rodríguez, G. Chen, D. Jaque, and J. Rubio Retama, "Lanthanide doped nanoheaters with reliable and absolute temperature feedback," *Physica B Condens Matter* **631**, 413652 (2022).
9. C. Y. Wu, "Nanoparticles and the environment," *J Air Waste Manage Assoc* **55**(6), 708–746 (2005).
10. J. R. Lakowicz, I. Gryczynski, Z. Gryczynski, and C. J. Murphy, "Luminescence spectral properties of CdS nanoparticles," *Journal of Physical Chemistry B* **103**(36), 7613–7620 (1999).
11. J. Zhou, L. Rao, G. Yu, T. R. Cook, X. Chen, and F. Huang, "Supramolecular cancer nanotheranostics," *Chem Soc Rev* **50**(4), 2839–2891 (2021).
12. M. A. Dheyab, A. A. Aziz, P. M. Khaniabadi, M. S. Jameel, N. Oladzadabbasabadi, A. A. Rahman, F. S. Braim, and B. Mehrdel, "Gold nanoparticles-based photothermal therapy for breast cancer," *Photodiagnosis Photodyn Ther* **42**, 103312 (2023).

13. A. Gnach, T. Lipinski, A. Bednarkiewicz, J. Rybka, and J. A. Capobianco, "Upconverting nanoparticles: Assessing the toxicity," *Chem Soc Rev* **44**(6), 1561–1584 (2015).
14. S. Wang, S. Westcott, and W. Chen, "Nanoparticle luminescence thermometry," *Journal of Physical Chemistry B* **106**(43), 11203–11209 (2002).
15. S. Jiang, M. K. Gnanasammandhan, and Y. Zhang, "Optical imaging-guided cancer therapy with fluorescent nanoparticles," *J R Soc Interface* **7**(42), 3–18 (2009).
16. H. Dong, S. R. Du, X. Y. Zheng, G. M. Lyu, L. D. Sun, L. D. Li, P. Z. Zhang, C. Zhang, and C. H. Yan, "Lanthanide Nanoparticles: From Design toward Bioimaging and Therapy," *Chem Rev* **115**(19), 10725–10815 (2015).
17. A. E. Albers, E. M. Chan, P. M. McBride, C. M. Ajo-Franklin, B. E. Cohen, and B. A. Helms, "Dual-emitting quantum dot/quantum rod-based nanothermometers with enhanced response and sensitivity in live cells," *J Am Chem Soc* **134**(23), 9565–9568 (2012).
18. E. C. Ximendes, W. Q. Santos, U. Rocha, U. K. Kagola, F. Sanz-Rodríguez, N. Fernández, A. D. S. Gouveia-Neto, D. Bravo, A. M. Domingo, B. Del Rosal, C. D. S. Brites, L. D. Carlos, D. Jaque, and C. Jacinto, "Unveiling in Vivo Subcutaneous Thermal Dynamics by Infrared Luminescent Nanothermometers," *Nano Lett* **16**(3), 1695–1703 (2016).
19. A. Bednarkiewicz, L. Marciniak, L. D. Carlos, and D. Jaque, "Standardizing luminescence nanothermometry for biomedical applications," *Nanoscale* **12**(27), 14405–14421 (2020).
20. C. J. Diederich, "Thermal ablation and high-temperature thermal therapy: Overview of technology and clinical implementation," in *International Journal of Hyperthermia* (2005), **21**(8), pp. 745–753.
21. A. J. Collins, E. F. J. Ring, J. A. Cosh, and P. A. Bacon, *Quantitation of Thermography in Arthritis Using Multi-Isothermal Analysis I. The Thermographic Index* (1974), **33**.
22. R. Resmini, A. Conci, T. B. Borchardt, R. de C. F. de Lima, A. A. Montenegro, and C. A. Pantaleão, "Diagnóstico precoce de doenças mamárias usando imagens térmicas e aprendizado de máquina," *Revista Eletrônica do Alto Vale do Itajaí* **1**(1), 55–67 (2012).
23. T. P. Omena, R. M. Costa, M. A. Von Krüger, W. C. A. Pereira, and W. Gómez, "Mapeamento térmico de um transdutor ultrassônico fisioterapêutico com câmera infravermelha," (2014).
24. J. Francisco, S. C. Júnior, M. P. Chalco, F. Silva, and C. Júnior, "Padrão de aquecimento por ultrassom terapêutico em phantom bicamada utilizando câmera infravermelha," (2012).

25. U. Rocha Silva, "Nanopartículas multifuncionais de fluoreto de lantânio dopadas com Nd³⁺ como agentes de contrastes e terapêuticos," (2016).
26. E. C. Ximendes, U. Rocha, T. O. Sales, N. Fernández, F. Sanz-Rodríguez, I. R. Martín, C. Jacinto, and D. Jaque, "In Vivo Subcutaneous Thermal Video Recording by Supersensitive Infrared Nanothermometers," *Adv Funct Mater* **27**(38), (2017).
27. N. Liu, X. Chen, X. Sun, X. Sun, and J. Shi, "Persistent luminescence nanoparticles for cancer theranostics application," *J Nanobiotechnology* **19**(1), 113 (2021).
28. L. Li, W. Wang, J. Tang, Y. Wang, J. Liu, L. Huang, Y. Wang, F. Guo, J. Wang, W. Shen, and L. A. Belfiore, "Classification, Synthesis, and Application of Luminescent Silica Nanoparticles: a Review," *Nanoscale Res Lett* **14**(1), 190 (2019).
29. J. Wang, A. Jiang, J. Wang, B. Song, and Y. He, "Dual-emission fluorescent silicon nanoparticle-based nanothermometer for ratiometric detection of intracellular temperature in living cells," *Faraday Discuss* **222**, 122–134 (2020).
30. J. F. Silva, J. Maria de Oliveira, W. F. Silva, A. C. Costa Soares, U. Rocha, N. Oliveira Dantas, E. Alves da Silva Filho, M. Duzzioni, A. Helmut Rulf Cofré, O. Wagner de Castro, L. Anhezini, A. Christine Almeida Silva, and C. Jacinto, "Supersensitive nanothermometer based on CdSe/Cd_xSe_{1-x} magic-sized quantum dots with in vivo low toxicity," *Chem Eng Sci* **264**, 118153 (2022).
31. L. M. Maestro, C. Jacinto, U. R. Silva, F. Vetrone, J. A. Capobianco, D. Jaque, and J. G. Solé, "CdTe Quantum Dots as Nanothermometers: Towards Highly Sensitive Thermal Imaging," *Small* **7**(13), 1774–1778 (2011).
32. F. Wang, R. Deng, and X. Liu, "Preparation of core-shell NaGdF₄ nanoparticles doped with luminescent lanthanide ions to be used as upconversion-based probes," *Nat Protoc* **9**(7), (2014).
33. L. U. Khan and Z. U. Khan, "Rare Earth Luminescence: Electronic Spectroscopy and Applications," in *Handbook of Materials Characterization* (Springer International Publishing, 2018), pp. 345–404.
34. H. Zhang and H. Zhang, "Special Issue: Rare earth luminescent materials," *Light Sci Appl* **11**(1), 260 (2022).
35. K. Binnemans, "Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials," *Chem Rev* **109**(9), 4283–4374 (2009).
36. J.-C. G. Bünzli and C. Piguet, "Taking advantage of luminescent lanthanide ions," *Chem Soc Rev* **34**(12), 1048 (2005).
37. B. Zheng, J. Fan, B. Chen, X. Qin, J. Wang, F. Wang, R. Deng, and X. Liu, "Rare-Earth Doping in Nanostructured Inorganic Materials," *Chem Rev* **122**(6), 5519–5603 (2022).

38. Y.-C. Chan, M.-H. Chan, C.-W. Chen, R.-S. Liu, M. Hsiao, and D. P. Tsai, "Near-Infrared-Activated Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based Nanocomposite to Sense MMP2-Overexpressing Oral Cancer Cells," *ACS Omega* **3**(2), 1627–1634 (2018).
39. U. Rocha, C. Jacinto Da Silva, W. Ferreira Silva, I. Guedes, A. Benayas, L. Martínez Maestro, M. Acosta Elias, E. Bovero, F. C. J. M. Van Veggel, J. A. García Solé, and D. Jaque, "Subtissue thermal sensing based on neodymium-doped LaF₃ nanoparticles," *ACS Nano* **7**(2), (2013).
40. W. Chen, J. Z. Zhang, and A. G. Joly, "Optical Properties and Potential Applications of Doped Semiconductor Nanoparticles," *J Nanosci Nanotechnol* **4**(8), 919–947 (2004).
41. I. Kang, J. Yang, W. Lee, E.-Y. Seo, and D. H. Lee, "Delineating development trends of nanotechnology in the semiconductor industry: Focusing on the relationship between science and technology by employing structural topic model," *Technol Soc* **74**, 102326 (2023).
42. A. P. Tiwari and S. S. Rohiwal, "Synthesis and Bioconjugation of Hybrid Nanostructures for Biomedical Applications," in *Hybrid Nanostructures for Cancer Theranostics* (Elsevier, 2019), pp. 17–41.
43. O. D. Neikov and N. A. Yefimov, "Nanopowders," in *Handbook of Non-Ferrous Metal Powders* (Elsevier, 2019), pp. 271–311.
44. S. Li, K. Zhang, J. M. Yang, L. Lin, and H. Yang, "Single quantum dots as local temperature markers," *Nano Lett* **7**(10), 3102–3105 (2007).
45. J. C. Kim, H. Rho, L. M. Smith, H. E. Jackson, S. Lee, M. Dobrowolska, and J. K. Furdyna, "Temperature-dependent micro-photoluminescence of individual CdSe self-assembled quantum dots," *Appl Phys Lett* **75**(2), 214–216 (1999).
46. H. C. Y. Yu, S. G. Leon-Saval, A. Argyros, and G. W. Barton, *Temperature Effects on Emission of Quantum Dots Embedded in Polymethylmethacrylate* (2010).
47. D. R. Larson, W. R. Zipfel, R. M. Williams, S. W. Clark, M. P. Bruchez, F. W. Wise, and W. W. Webb, "Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo," *Science* (1979) **300**(5624), 1434–1436 (2003).
48. X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, and S. Weiss, *Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics* (2005).
49. L. M. Maestro, E. M. Rodríguez, F. S. Rodríguez, M. C. I. De La Cruz, A. Juarranz, R. Naccache, F. Vetrone, D. Jaque, J. A. Capobianco, and J. G. Solé, "CdSe quantum dots for two-photon fluorescence thermal imaging," *Nano Lett* **10**(12), 5109–5115 (2010).

50. A. M. Smith, M. C. Mancini, and S. Nie, "Second window for in vivo imaging," *Nat Nanotechnol* **4**(11), 710–711 (2009).
51. L. M. Maestro, P. Haro-González, B. del Rosal, J. Ramiro, A. J. Caamaño, E. Carrasco, A. Juarranz, F. Sanz-Rodríguez, J. G. Solé, and D. Jaque, "Heating efficiency of multi-walled carbon nanotubes in the first and second biological windows," *Nanoscale* **5**(17), 7882 (2013).
52. A. Skripka, D. Mendez-Gonzalez, R. Marin, E. Ximendes, B. del Rosal, D. Jaque, and P. Rodríguez-Sevilla, "Near infrared bioimaging and biosensing with semiconductor and rare-earth nanoparticles: recent developments in multifunctional nanomaterials," *Nanoscale Adv* **3**(22), 6310–6329 (2021).
53. Thiago Martini Pereira, "Análise das diferenças bioquímicas nos tecidos e lesões tireoidianas por imageamento espectral obtidos por espectroscopia no infravermelho (FTIR)," (2013).
54. Y. Shen, J. Lifante, N. Fernández, D. Jaque, and E. Ximendes, "In Vivo Spectral Distortions of Infrared Luminescent Nanothermometers Compromise Their Reliability," *ACS Nano* **14**(4), 4122–4133 (2020).
55. G. R. Lima and L. Mota, *Proposta de Um Experimento de Baixo Custo Para Análises Ópticas de Fluidos Utilizando a Lei de Lambert-Beer* (2023).
56. D. E. Lisboa, C. De Ciências, C. D. S. Brites, and L. D. Carlos, *Usando a Luz Para Medir Temperatura* (2022).
57. H. Peng, M. I. J. Stich, J. Yu, L. N. Sun, L. H. Fischer, and O. S. Wolfbeis, "Luminescent europium(III) nanoparticles for sensing and imaging of temperature in the physiological range," *Advanced Materials* **22**(6), 716–719 (2010).
58. C. D. S. Brites, S. Balabhadra, and L. D. Carlos, "Lanthanide-Based Thermometers: At the Cutting-Edge of Luminescence Thermometry," *Adv Opt Mater* **7**(5), 1801239 (2019).
59. H. Suo, X. Zhao, Z. Zhang, Y. Wang, J. Sun, M. Jin, and C. Guo, "Rational Design of Ratiometric Luminescence Thermometry Based on Thermally Coupled Levels for Bioapplications," *Laser Photon Rev* **15**(1), 1–25 (2021).
60. G. Xiang, Q. Xia, X. Liu, and X. Wang, "Optical thermometry based on the thermally coupled energy levels of Er³⁺ in upconversion materials," *Dalton Transactions* **49**(47), 17115–17120 (2020).
61. B. del Rosal, E. Ximendes, U. Rocha, and D. Jaque, "In Vivo Luminescence Nanothermometry: from Materials to Applications," *Adv Opt Mater* **5**(1), (2017).

62. S. Balabhadra, M. L. Debasu, C. D. S. Brites, L. A. O. Nunes, O. L. Malta, J. Rocha, M. Bettinelli, and L. D. Carlos, "Boosting the sensitivity of Nd³⁺-based luminescent nanothermometers," *Nanoscale* **7**(41), 17261–17267 (2015).
63. S. J. M. Carreño, "Laser aleatório, conversão ascendente de frequência e autoconversão de frequência em nanocristais de Nd_x Y_{1.0-x} Al₃ (BO₃)₄," (2016).
64. J. Naiara and D. L. Lopes, *Estudos Das Propriedades Físicas de Nanocristais de TiO₂ Dopados Com Íons Nd³⁺* (2022).
65. W. S. Silva, A. C. A. Silva, U. Rocha, N. O. Dantas, W. F. Silva, and C. Jacinto, "Nd³⁺ doped TiO₂ nanocrystals as self-referenced optical nanothermometer operating within the biological windows," *Sens Actuators A Phys* **317**, 112445 (2021).
66. A. Ikesue, "Polycrystalline Nd:YAG ceramics lasers," *Opt Mater (Amst)* **19**(1), 183–187 (2002).
67. P. Cortelletti, C. Facciotti, I. X. Cantarelli, P. Canton, M. Quintanilla, F. Vetrone, A. Speghini, and M. Pedroni, "Nd³⁺ activated CaF₂ NPs as colloidal nanothermometers in the biological window," *Opt Mater (Amst)* **68**, 29–34 (2017).
68. E. Carrasco, B. Del Rosal, F. Sanz-Rodríguez, Á. J. De La Fuente, P. H. Gonzalez, U. Rocha, K. U. Kumar, C. Jacinto, J. G. Solé, and D. Jaque, "Intratumoral thermal reading during photo-thermal therapy by multifunctional fluorescent nanoparticles," *Adv Funct Mater* **25**(4), (2015).
69. I. E. Kolesnikov, E. V. Golyeva, A. A. Kalinichev, M. A. Kurochkin, E. Lähderanta, and M. D. Mikhailov, "Nd³⁺ single doped YVO₄ nanoparticles for sub-tissue heating and thermal sensing in the second biological window," *Sens Actuators B Chem* **243**, 338–345 (2017).
70. A. Benayas, B. Del Rosal, A. Pérez-Delgado, K. Santacruz-Gómez, D. Jaque, G. A. Hirata, and F. Vetrone, "Nd:YAG Near-Infrared Luminescent Nanothermometers," *Adv Opt Mater* **3**(5), (2015).
71. L. Marciniak, K. Prorok, A. Bednarkiewicz, A. Kowalczyk, D. Hreniak, and W. Strek, "Water dispersible LiNdP₄O₁₂ nanocrystals: New multifunctional NIR–NIR luminescent materials for bio-applications," *J Lumin* **176**, 144–148 (2016).
72. W. S. Silva, A. C. A. Silva, U. Rocha, N. O. Dantas, W. F. Silva, and C. Jacinto, "Nd³⁺ doped TiO₂ nanocrystals as self-referenced optical nanothermometer operating within the biological windows," *Sens Actuators A Phys* **317**, (2021).