

Título em Português: Estudo da Interação da Melanina com o Ultrassom de Baixa Intensidade

Título em Inglês: study of the interaction of melanin with low intensity ultrasound

Autor: Murilo de Oliveira Souza

Instituição: Universidade de São Paulo

Unidade: Instituto de Física de São Carlos

Orientador: Sebastião Prata Vieira

Área de Pesquisa / SubÁrea: Física Geral

Agência Financiadora: CNPq - PIBIC

Estudo da interação da Melanina com o Ultrassom de Baixa Intensidade

Murilo de Oliveira Souza

Sebastião Pratavieira

Instituto de Física de São Carlos / Universidade de São Paulo

murilodeoliveira8@usp.br prata@ifsc.usp.br

Objetivo

A melanina é um pigmento natural encontrado na maioria dos organismos, é um absorvente de luz eficaz, sendo capaz de dissipar mais de 99,9% da radiação UV absorvida. Em casos em que o efeito fotoprotetor da melanina não é suficiente, podem se desenvolver danos na pele que culminam em câncer. Uma modalidade terapêutica que vem sendo estudada para o tratamento não invasivo de lesões pré cancerosas é a Terapia Sonodinâmica (TSD)¹. Com o intuito de ajudar na compreensão dos efeitos sonodinâmicos sobre tumores pigmentados durante a TSD, esse projeto tem como objetivo estudar as alterações das propriedades ópticas da melanina durante a interação com o ultrassom terapêutico, em especial sua curva de absorvância.

Métodos e Procedimentos

Utilizando melanina sintética em pó dissolvida em hidróxido de sódio (NaOH, pH = 13,0), são preparadas diversas soluções com diferentes concentrações, para posterior análise. Em seguida, cada solução é colocada em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm e levada para análise óptica em um espectrofotômetro (Varian Cary 50), para que sua curva de absorvância seja analisada em todas as etapas. Posteriormente cada solução passa por um processo de sonicação com um ultrassom (SONOPULSE III, Ibramed, Brasil), por aproximadamente dois minutos, e é novamente levada para a devida medição da sua curva de absorvância, o processo se repete até que o tratamento completo 10 minutos. Todas as soluções estudadas são diluídas com diferentes concentrações (0,1 mg/mL; 0,05 mg/mL e 0,025 mg/mL) e sonificada com diferentes intensidades (1 W/cm²; 1,5 W/cm² e 2 W/cm²). Desse modo é possível uma análise quantitativa mais precisa dos resultados e da influência de cada parâmetro durante

a medição. Por fim, serão analisados diversos gráficos de Absorvância por Comprimento de Onda, para cada par intensidade e concentração dos experimentos.

Resultados

Inicialmente, por meio das curvas de absorvância obtidas a partir da sonicação com concentrações diferentes de uma mesma solução de Melanina com NaOH, é possível construir um gráfico relacionando a absorvância da molécula pelo tempo de exposição ao Ultrassom com intensidade fixa de 1,5 W/cm².

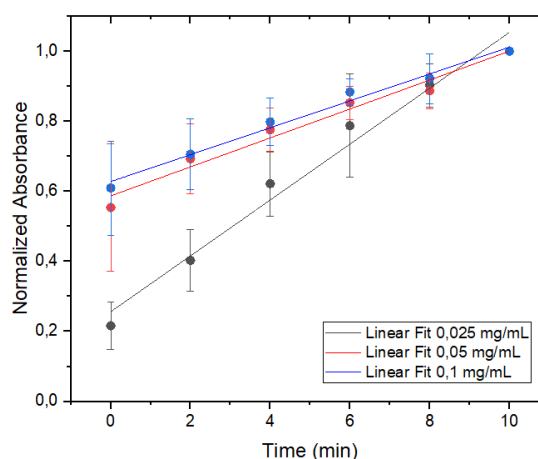


Figura 1: Espectro de Absorção com intensidade constante

Desse modo, observa-se que todas as três concentrações de solução quando submetidas a um mesmo tratamento adquirem cada vez mais capacidade de absorção de luz, entretanto, quanto menor a concentração, maior o aumento da absorvância. Considerando, portanto, o coeficiente angular de cada reta, que por sua vez indica o quanto a absorvância da molécula aumenta conforme o tempo de tratamento, pode-se construir o seguinte gráfico de coeficiente angu-

lar em função da concentração da solução.

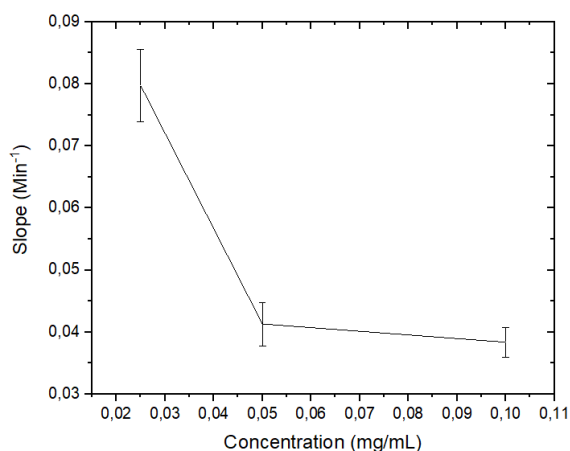


Figura 2: Constante de crescimento da absorvância em função da concentração.

Observa-se, assim, que quanto menor a concentração, maior o aumento da absorvância. Seguindo a mesma linha de raciocínio, entretanto diferenciando, neste momento os parâmetros do Ultrassom, especificamente sua intensidade, e mantendo uma mesma concentração para a solução, de 0,05 mg/mL, constrói-se o seguinte gráfico:

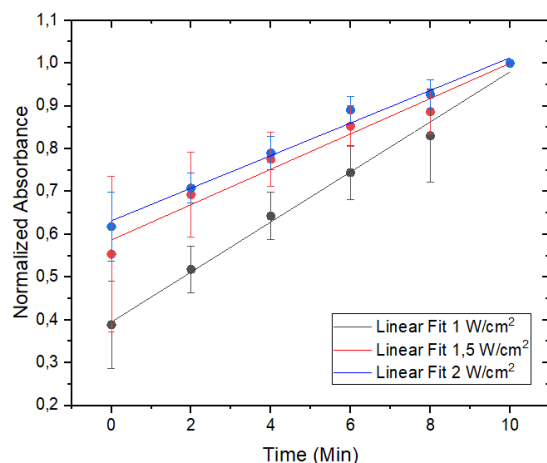


Figura 3: Espectro de Absorção com concentração constante

Observa-se novamente que a absorvância da solução aumenta conforme o tempo de tratamento, independente da intensidade. Considerando novamente o coeficiente angular de cada reta, constrói-se o seguinte gráfico:

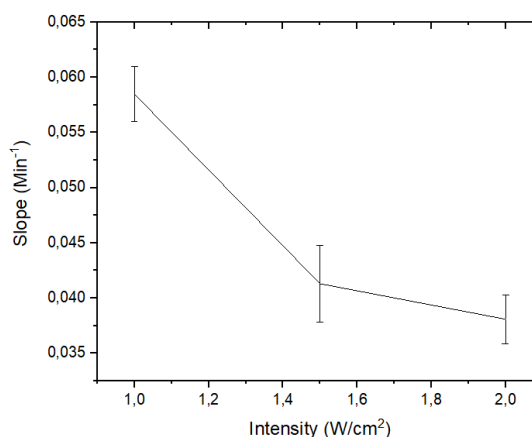


Figura 4: Constante de crescimento da absorvância em função da intensidade.

Nota-se portanto, que quanto menor a intensidade, maior o aumento da absorvância.

Conclusões

A partir dos resultados até então alcançados, é possível inferir algumas discussões. A solução apresentou comportamento divergente do esperado, visto que normalmente, quando uma molécula é submetida a tratamentos com Ultrassom, ou Irradiação de Luz, ocorre uma degradação da molécula e consequentemente uma queda em sua absorvância, entretanto, com os experimento realizado, percebe-se que, no lugar de uma degradação da molécula, houve uma formação de produtos (sonoprodutos), outra evidência para tal afirmação é de que durante todo o tratamento não houve alteração no formato da curva de absorvância, apenas seu deslocamento ascendente. Ademais, notou-se que quanto menor a concentração de melanina, maior é seu aumento de absorção de luz, o mesmo ocorre quanto menor for a intensidade utilizada para a sonicação. A razão para cada um destes comportamentos ainda será estudada, incluindo a investigação do sonoproduto obtido, bem como sua causa.

Referências Bibliográficas

[1] ROSENTHAL, I.; SOSTARIC, J. Z.; RIESZ, P. Sonodynamic therapy: a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 11, n. 6, p. 349-363, Sept. 2004. DOI 10.1016/j.ultsonch.2004.03.004.

Study of the interaction of Melanin with Low Intensity Ultrasound

Murilo de Oliveira Souza

Sebastião Pratavieira

Instituto de Física de São Carlos / Universidade de São Paulo

murilodeoliveira8@usp.br prata@ifsc.usp.br

Objectives

Melanin is a natural pigment found in most organisms, it is an effective light absorber, being able to dissipate more than 99.9 of the absorbed UV radiation. In cases where the photoprotective effect of melanin is not sufficient, damage to the skin can develop and culminate in cancer. A therapeutic modality that has been studied for the non-invasive treatment of precancerous lesions is Sonodynamic Therapy (TSD) ¹. In order to help understand the sonodynamic effects on pigmented tumors during a TSD2, this project aims to study the changes in the optical properties of melanin during an interaction with therapeutic ultrasound, in particular its absorbance curve.

Materials and Methods

Using synthetic powdered melanin dissolved in sodium hydroxide (NaOH, pH = 13.0), several solutions with different concentrations are prepared for further analysis. Then, each solution is placed in a quartz cuvette with a 1 cm optical path and taken for optical analysis in a spectrophotometer (Varian Cary 50), so that its absorbance curve can be analyzed at all stages. Subsequently, each solution undergoes a sonication process with an ultrasound (SONOPULSE III, Ibramed, Brazil), for approximately two minutes, and is again taken for the proper measurement of its absorbance curve. All studied solutions are diluted with different concentrations (0.1 mg/mL; 0.05 mg/mL and 0.025 mg/mL) and sonicated with different intensities (1 W/cm²; 1.5 W/cm² and 2 W/cm²). In this way, a more accurate quantitative analysis of the results and influence of each parameter during measurement is possible. Finally, several graphs of Absorbance by Wavelength will be analyzed, for each intensity and concentration pair of the experiments.

Results

Initially, through the absorbance curves obtained from sonication with different concentrations of the same Melanin solution with NaOH, it is possible to build a graph relating the absorbance of the molecule by the time of exposure to Ultrasound with a fixed intensity of 1.5 W/ cm².

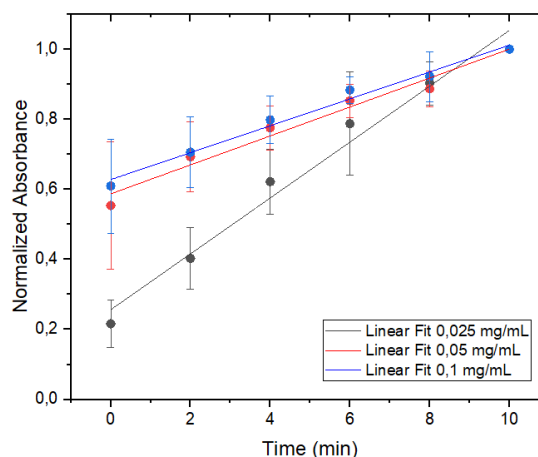


Figura 1: Absorption spectrum with constant intensity.

Thus, it is observed that all three solution concentrations, when subjected to the same treatment, acquire more and more light absorption capacity, however, the lower the concentration, the greater the increase in absorbance. Considering, therefore, the slope of each line, which in turn indicates how much the molecule's absorbance increases with the treatment time, it is possible to construct the following graph of the slope as a function of the solution concentration.

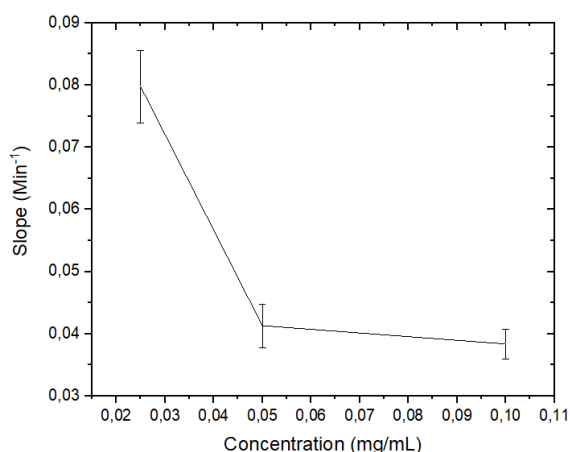


Figura 2: Absorbance growth constant as a function of concentration.

Thus, it is observed that the lower the concentration, the greater the increase in absorbance. Following the same line of reasoning, however differentiating, at this time, the parameters of the Ultrasound, specifically its intensity, and maintaining the same concentration for the solution, 0.05 mg/mL, the following graph is constructed:

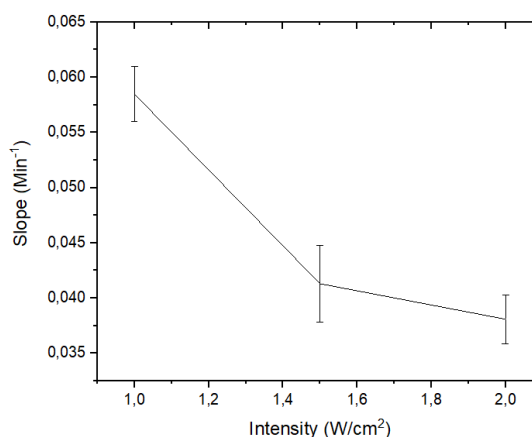


Figura 4: Absorbance growth constant as a function of intensity.

Note, therefore, that the lower the intensity, the greater the increase in absorbance.

Conclusions

From the results achieved so far, it is possible to infer some behaviors of the melanin molecule. The solution behaved differently from what was expected, since normally, when a molecule is subjected to treatments with Ultrasound, or Light Irradiation, there is a degradation of the molecule and consequently a drop in its absorbance, however, with the experiments carried out, it is noticed that, instead of a degradation of the molecule, there was a formation of products (sleep products), another evidence for such assertion is that during the entire treatment there was no change in the shape of the absorbance curve, only its upward displacement. Furthermore, it was noted that the lower the concentration of melanin, the greater the increase in light absorption, the same occurs with the lower the intensity used for sonication. The reason for each of these behaviors will still be studied, including the sonication of the pure solvent for the analysis of possible sonoproducts, and its further investigation.

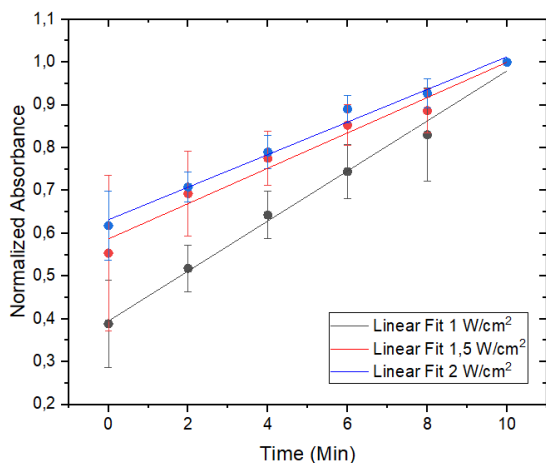


Figura 3: Absorption spectrum with constant concentration.

Again, it is observed that the absorbance of the solution increases with the treatment time, regardless of the intensity. Considering again the angular coefficient of each line, the following graph is constructed:

Bibliographic References

- [1] ROSENTHAL, I.; SOSTARIC, J. Z.; RIESZ, P. Sonodynamic therapy: a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 11, n. 6, p. 349-363, Sept. 2004. DOI 10.1016/j.ultsonch.2004.03.004.