

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

(21) **PI0708929-5 A2**

(22) Data de Depósito: 19/03/2007
(43) Data da Publicação: 14/06/2011
(RPI 2110)



★ B R P I 0 7 0 8 9 2 9 A 2 ★

(51) *Int.Cl.:*
A61K 49/00 2006.01

(54) Título: **MÉTODO PARA IDENTIFICAR UMA REGIÃO OU LOCALIZAÇÃO DE INTERESSE, E, SISTEMA**

(30) Prioridade Unionista: 29/03/2006 US 60/787120

(73) Titular(es): Koninklijke Philips Electronics N. V

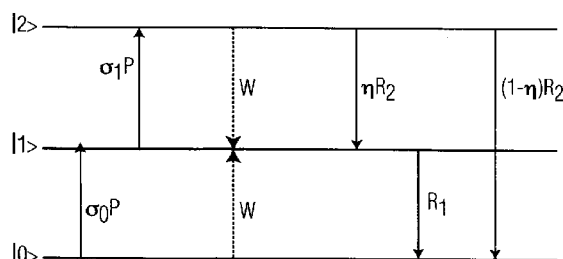
(72) Inventor(es): Jan Frederik Suijver

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT IB2007050949 de 19/03/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/110804 de 04/10/2007

(57) **Resumo:** MÉTODO PARA IDENTIFICAR UMA REGIÃO OU LOCALIZAÇÃO DE INTERESSE, E, SISTEMA A presente descrição provê sistemas e método vantajosos para aumentar significativamente a sensibilidade e seletividade de procedimentos de diagnósticos, por exemplo biópsia óptica. Os sistemas e métodos mostrados usam um efeito altamente não linear, a assim chamada avalanche de fóton. No regime próximo ao limiar de avalanche, pequenas diferenças na densidade do íon de amostra sobre investigação ou potência de excitação podem resultar em mudanças muito grandes na intensidade de emissão de conversão para cima. Através deste efeito toma-se possível medir precisamente o sinal de um íon de amostra de biópsia óptica somente na(s) localização(ões) onde sua concentração é a mais alta, enquanto ao mesmo tempo reduz significativamente ou elimina a medição do sinal de segundo plano dos íons de amostra distribuídos com uma concentração algo mais baixa, através do volume de medição. Também, auto fluorescência de segundo plano do tecido sadio vizinho está essencialmente ausente com esta técnica.



“MÉTODO PARA IDENTIFICAR UMA REGIÃO OU LOCALIZAÇÃO DE INTERESSE, E, SISTEMA”

A presente descrição é direcionada a sistemas e métodos que apresentam sensibilidade e/ou seletividade aumentada para efetuar procedimentos de diagnóstico, por exemplo, biópsia óptica. Mais particularmente, os sistemas e métodos mostrados empregam íons de amostra que apresentam uma resposta altamente não linear à ativação óptica, isto é, um efeito “avalanche de fóton”. Os sistemas e métodos mostrados apresentam sensibilidade e/ou seletividade aumentadas porque, em regime próximo ao limiar de avalanche para um íon de amostra selecionado, pequenas diferenças na densidade de íon de amostra e/ou potência de excitação se traduzem em uma substancial intensidade de emissão de conversão para cima diferencial. Através do uso dos íons de amostra descritos, os sistemas e métodos da presente descrição distinguem precisamente localizações onde a concentração de íon de amostra é alta, por exemplo, acima de um limiar desejado, enquanto ao mesmo tempo elimina substancialmente sinais de segundo plano dos íons de amostra distribuídos em concentração mais baixa, através do volume de medição. Em adição, auto-fluorescência de segundo plano do tecido saudável no em torno, é geralmente eliminada. Íons de amostra típicos para uso de acordo com os sistemas e métodos mostrados incluem fósforos misturados metal de transição/de terra rara.

Nos campos da medicina e biologia, materiais fluorescentes são freqüentemente usados como marcadores. A fluorescência gerada pela irradiação de tais materiais com uma energia de ativação apropriada é medida por um microscópio óptico, foto detector ou similar. Por exemplo, métodos fluorescentes de antígeno-anticorpo são conhecidos, nos quais um anticorpo é vinculado a um corpo fluorescente orgânico capaz de emitir fluorescência. Como a reação antígeno-anticorpo é altamente seletiva, é possível identificar a localização do antígeno, com base na distribuição de intensidade de

fluorescência. A vinculação seletiva e/ou localização de materiais fluorescentes em aplicabilidade de amplo alcance, por exemplo, no diagnóstico de genes, imunodiagnóstico, desenvolvimento medicinal, teste ambiental, biotecnologia, inspeção fluorescente e similares.

5 Uma aplicação típica da tecnologia de base luminescente precedente está no campo da biópsia óptica. Na biópsia óptica, informação clínica e/ou de diagnóstico pode ser eficientemente obtida de uma maneira não invasiva e/ou minimamente invasiva. Então, as técnicas de biópsia óptica típicas são vantajosas pelo fato de nenhum tecido ser destruído e, dependendo
10 do(s) marcador(es) e outros parâmetros de biópsia, a informação clínica e/ou de diagnóstico pode ser colhida através de uma área de superfície relativamente grande. Geralmente, biópsias ópticas envolvem a introdução de íons de amostra em um paciente e/ou região anatômica de interesse. Os íons de amostra geralmente incluem grupos finais funcionalizados que são
15 selecionados para se vincular preferivelmente a localizações/tecidos de interesse, por exemplo, tecido canceroso. Posteriormente, através de técnicas ópticas ou outras de ativação de energia, a luminescência dos íons de amostra é gravada e um mapa pode ser construído apontando a localização dos marcadores dentro do paciente e/ou relativa a estruturas anatômicas de
20 interesse.

 Existem vários problemas com respeito a sistemas e técnicas de biópsia óptica convencionais. Primeiramente, como um assunto prático, nem todos os íons de amostra são transferidos e/ou centralizados na localização de marcador desejada. Frequentemente, uma fração substancial
25 dos íons não terminará na localização do marcador desejado, e devido a sua dispersão, afetará negativamente a qualidade e/ou precisão dos resultados da biópsia, por exemplo, afetando o sinal de segundo plano de modo a tornar difícil separar ou isolar o sinal desejado. Em segundo lugar, a excitação na região visível do espectro é usualmente requerida. Em comprimentos de onda

na região visível, muitos constituintes do tecido humano tendem a auto fluorescência. A auto fluorescência de outros tipos de tecido é um efeito indesejável, aumentando a dificuldade associada a resolver e/ou isolar luminescência de íons de amostra em uma localização de marcador específica.

5 Materiais e técnicas para fluorescência ativada por energia tem sido descritos na literatura. Por exemplo, nanocristais de semicondutor (por exemplo, pontos quânticos - regiões de semicondutores que podem ser ocupadas por uns poucos elétrons - (QDs)) tem sido descritos para uso como bio-amostras para aplicações analíticas e biofísicas. Ambos corantes de QDs e
10 orgânicos fluorescentes são bio-amostras fluorescentes de conversão para baixo, que emitem fóton(s) fluorescentes de energia mais baixa, após absorver fóton(s) UV de energia mais alta ou visíveis. Em adição, nanocristais fluorescentes de conversão para cima, têm sido quimicamente sintetizados a partir de Yb-Er, Yb-Ho e Yb-Tm co-dopados com LaF₃. Tais nanocristais têm
15 sido usados para produzir bandas de emissão verde, vermelho e azul baseadas em excitação próxima do infravermelho (NIR) de 980 nm. Ver Guang-Shun Yi and Gan-Moog Chow, "Rare-earth doped LaF₃ nanocrystals for upconversion fluorescence", National University of Singapore. Similarmente, a Publicação de Patente U.S. No. 2005/0014283 de Matsuura e outros
20 descreve uma amostra fluorescente que inclui partículas finas contendo um elemento de terra rara que é excitado para conversão para cima pela luz na faixa de 500 a 2000 nm. A publicação de Matsuura '283 contempla o uso de um metal de terra rara (por exemplo, Er, Ho, Pr, Tm, Nd, Gd, Eu, Yb, Sm ou Ce) que é adaptado para se ligar a uma substância de ligação.

25 A técnica anterior também tem reconhecido e investigado a resposta não linear associada ao "efeito de avalanche". Por exemplo, Q. Shu e outros têm investigado medições de acoplamento de dois feixes na transição de conversão para cima em avalanche em Tm:LiYF₄, confirmando que, apesar da natureza ressonante da interação óptica de estado excitado, a resposta

induzida é fortemente dispersiva. Ver Q. Shu, H. Ni e S. C. Rand, “Nonlinear dispersion of avalanche upconversion” *Optics Letters*, Volume. 22, No. 2, páginas 123-125, 15 de Janeiro de 1997. Os resultados de teste relatados na publicação precedente mostram que a não linearidade de avalanche observada em Tm:LiYF₄ em 648, 2 nm dá origem a acoplamento de feixe com um limiar agudo e um caractere dispersivo a temperatura ambiente. Mecanismos de conversão para cima convencionais tem sido também descritos na literatura, por exemplo, Pascal Gerner e outros, “Chem. Eur. J.”, 10, 4735-4741, 2004.

Em termos de materiais de fósforo, a pesquisa tem sido conduzida com respeito a Tm³⁺ contendo cristais e vidros e em vidros dopados com Pr³⁺ e fibras existentes. Ver, por exemplo, S. Guy e outros “J. Opt. Soc. Am. B”, 14(4), páginas 926-34, 1997; M J V Bell e outros, “J. Phys.: Condens. Matter”, 14, páginas 5651-5663, 2002; e J. Chivian e outros, “Appl. Phys. Lett.”, 35, 124 (1979). Há dois problemas importantes com sistemas de fósforo da técnica anterior. Primeiramente, as emissões em avalanche de conversão para cima para tais fósforos permanece na faixa espectral azul. Nestes comprimentos de onda, muitos constituintes do tecido humano tendem a absorver e a auto fluorescência. Como um resultado, parte da luz de emissão é perdida e o sinal original é obscurecido. Em segundo lugar, o processo em avalanche de conversão para cima é relativamente ineficiente para estes fósforos, requerendo densidades de excitação relativamente altas que aumentam o risco de dano ao tecido devido a ablação do laser.

Então, apesar dos esforços até o momento, permanece uma necessidade para sistemas e métodos que distingam precisamente localizações onde concentrações de íons de amostra são altas, por exemplo, acima de um limiar desejado, enquanto ao mesmo tempo elimina substancialmente sinais de segundo plano dos íons de amostra distribuídos em concentrações mais

baixas através do volume de medição. Adicionalmente, permanece uma necessidade de sistemas e métodos que reduzam e/ou eliminem auto fluorescência de segundo plano de tecido vizinho saudável ao efetuar procedimentos de diagnóstico, por exemplo, biópsia óptica. Estas e outras

5 necessidades são satisfeitas pelos sistemas e métodos aqui mostrados.

Sistemas e métodos apresentando sensibilidade aumentada e/ou seletividade ao efetuar procedimentos de diagnóstico, por exemplo, biópsia óptica, são aqui mostrados. Os sistemas e métodos mostrados empregam íons de amostra que apresentam uma resposta altamente não linear

10 à ativação óptica, isto é, efeito de avalanche de fóton, permitindo deste modo a geração de leituras/medições de diagnóstico com relações sinal ruído não paralelas. No regime próximo ao limiar de avalanche para um íon de amostra selecionado, pequenas diferenças na densidade de íon de amostra e/ou potência de excitação se traduzem em uma mudança substancial na

15 intensidade de emissão de conversão para cima, deste modo confiavelmente e eficazmente distinguindo localizações onde a concentração de íon de amostra é alta, por exemplo, acima de um limiar desejado, embora ao mesmo tempo eliminando substancialmente sinais de segundo plano dos íons de amostra distribuídos a concentração mais baixa através do volume de medição. Os

20 sistemas e métodos mostrados também reduzem vantajosamente e/ou eliminam auto fluorescência de segundo plano do tecido vizinho saudável. Íons de amostra típicos para uso de acordo com os sistemas e métodos mostrados incluem fósforos de metal de transição/terra rara mistos.

Em realizações típicas da presente descrição, íons de amostra

25 capazes de um efeito de avalanche de conversão para cima são empregados para melhorar a efetividade dos procedimentos de diagnóstico, por exemplo, biópsia óptica. Ao selecionar materiais/composições apropriados para uso como íons de amostra de acordo com a presente descrição, são selecionados materiais/composições que são capazes de conversão para cima, bem como de

apresentar um efeito de avalanche em níveis de energia de ativação apropriados. Em realizações típicas da presente descrição, um íon de terra rara em seu estado trivalente é empregado como íon de amostra.

De acordo com a presente descrição, são introduzidos íons de amostra no ambiente de interesse, por exemplo, um ambiente anatômico. Os íons de amostra podem ser introduzidos de uma variedade de modos, como são conhecidos na técnica, por exemplo, através de injeção, ingestão ou similares. Com base nas afinidades de vinculação associadas aos íons de amostra selecionados, uma concentração mais alta dos íons de amostra é geralmente alcançada na(s) localização(ões) anatômica(s) desejada(s). Em geral, os íons de amostra têm permissão, para preferencialmente/diferencialmente se concentrarem em região(ões) anatômica(s) de interesse em um período de tempo apropriado, no qual o ponto de excitação do íon de amostra é assegurado para facilitar um mapeamento/medição da concentração de íon de amostra no ambiente anatômico. Os íons de amostra são geralmente excitados na região próxima do infravermelho do espectro, ao considerar um espectro de biópsia óptica. Neste comprimento de onda de excitação, isto é, um comprimento de onda NIR, essencialmente nenhuma emissão visível é gerada pelo tecido humano, superando substancialmente deste modo e/ou eliminando a emissão de auto fluorescência do tecido associada a sistemas/técnicas de íon de amostra convencionais.

Escolhendo um íon de amostra que apresenta o efeito de avalanche, os sistemas e métodos mostrados na presente invenção são capazes de traduzir variações/diferenciais pequenos em densidade de íon de amostra para variações/diferenciais relativamente grandes na emissão de conversão para cima. Portanto, com base na seleção de íon de amostra, uma escolha adequada da potência de excitação pode ser feita, de modo a iniciar o efeito de avalanche para tal íon de amostra. A potência/energia de excitação é

geralmente selecionada para estar no ou próximo ao valor de limiar para iniciar o efeito de avalanche para os íons de amostra que tenham congregado seletivamente na(s) localização(ões) de marcador desejadas, enquanto a mesma potência/energia está vantajosamente abaixo do valor de limiar para
 5 iniciar emissões para os íons de amostra de concentração mais baixa localizados em localizações distintas relativas à(s) localização(ões) de marcados desejadas, deste modo evitando/minimizando o potencial para geração disruptiva de sinais de segundo plano.

A intensidade de emissão de conversão para cima escala
 10 vantajosamente quase exponencialmente com a concentração de íon de amostra no regime de potência no ou próximo do limiar de avalanche. O início do efeito de avalanche resulta então em forte luminescência a partir dos íons de amostra na localização de marcador desejada, e um sinal de segundo plano baixo e/ou substancialmente não existente a partir de íons de amostra
 15 em outras localizações. Combinados com a ausência de auto fluorescência, os sistemas e métodos mostrados facilitam a identificação eficiente, precisa e confiável e/ou medição de concentração de íon de amostra em sites de marcador relevantes, sem os efeitos indesejáveis associados a sistemas/técnicas convencionais, por exemplo, sistemas e técnicas de biópsia
 20 óptica convencionais.

Características vantajosas adicionais, funções e benefícios associados aos sistemas e métodos mostrados serão aparentes a partir da descrição que se segue, particularmente quando lidos em conjunto com as figuras anexas.

25 Para auxiliar aqueles especialistas na técnica em confeccionar e usar os íons de amostra, é feita referência às figuras anexas, nas quais:

Figura 1 é um diagrama esquemático de nível de energia para um íon com três estados eletrônicos capaz de conversão para cima em avalanche;

Figura 2 é uma apresentação gráfica da divergência de potência relativa ao efeito de avalanche para um íon de amostra típico apresentando efeito de avalanche;

Figura 3 é uma apresentação gráfica de propriedades relacionadas a energia de um par de íons de Yb^{3+} e Mn^{2+} de acordo com a presente descrição;

Figura 4 inclui um par de gráficos mostrando espectros de emissão normalizados; o gráfico à esquerda mostra os espectros de emissão normalizados calculados abaixo do limiar requisitado e o gráfico à direita mostra os espectros de emissão normalizados calculados próximo ao limiar requisitado; e

Figura 5 é um fluxograma relatando etapas associadas a uma implementação típica do sistema/método mostrado.

Sensibilidade aumentada e/ou seletividade ao efetuar procedimentos de diagnósticos, por exemplo, biópsia óptica, é obtida de acordo com os sistemas e métodos mostrados, onde íons de amostra apresentando uma resposta altamente não linear a ativação óptica, isto é, um efeito de avalanche de fóton, são empregados. Os íons de amostra são introduzidos em um ambiente anatômico de interesse, por exemplo, através de injeção, ingestão ou similares, e a energia de ativação é fornecida a tal ambiente. Os sistemas e métodos mostrados apresentam sensibilidade aumentada e/ou seletividade baseada na introdução da energia de ativação que é eficaz para iniciar o efeito de avalanche para o íon de amostra selecionado. Através do efeito de avalanche, pequenas diferenças na densidade de íon de amostra e/ou potência de excitação se traduzem em uma substancial intensidade de emissão de conversão para cima diferencial.

Através do uso dos íons de amostra descritos, os sistemas e métodos da presente descrição distinguem precisamente localizações onde a concentração de íon de amostra é alta, por exemplo, acima de um limiar

desejado, enquanto ao mesmo tempo elimina substancialmente sinais de segundo plano a partir dos íons de amostra distribuídos em concentração mais baixa através do volume de medição. Em adição, a auto fluorescência de segundo plano de tecido vizinho saudável é geralmente eliminada. Íons de amostra típicos para uso de acordo com os sistemas e métodos mostrados incluem fósforo mistura de metal de transição/terra rara.

Para auxiliar adicionalmente pessoas especialistas na técnica no entendimento e emprego dos íons de amostra mostrados, por exemplo, em conexão com a execução de procedimentos de diagnósticos vantajosos, informação adicional correspondente a efeitos de avalanche de conversão para cima são aqui providos. O efeito de avalanche de conversão para cima é relativamente raro e, para íons de amostra apresentando e/ou suportando tal efeito, o efeito de avalanche ocorre através de uma atuação recíproca entre vários processos competindo absorção e transferência de energia. Com referência à Figura 1, é provido um diagrama de nível de energia esquemático para um íon com três estados eletrônicos capazes de avalanche de conversão para cima. As setas para cima na Figura 1 indicam transições de absorção, as setas para baixo indicam transições de emissão, e o conjunto de setas pontilhadas indica o processo de relaxação cruzada.

Três condições especiais são requeridas para observar o efeito de avalanche de conversão para cima. Primariamente, a radiação de excitação precisa não ser ressonante com a transição de absorção do estado fundamental para o estado excitado intermediário $|0\rangle \rightarrow |1\rangle$. Em segundo lugar, a radiação de excitação precisa ser ressonante com a transição de absorção a partir do estado excitado intermediário até o estado excitado superior $|1\rangle \rightarrow |2\rangle$. Em terceiro lugar precisa haver um processo relativamente forte de relaxação cruzada $|0,2\rangle \rightarrow |1,1\rangle$ que pode competir com a relaxação radiativa a partir do estado excitado superior $|2\rangle \rightarrow |0\rangle$.

Para fins de derivação, P é usado para denotar a potência de

laser; N_i é a densidade de população do estado $|i\rangle$; σ_0 denota a seção transversal de absorção para a absorção de estado fundamental ($|0\rangle \rightarrow |1\rangle$); e σ_1 denota a seção transversal de absorção para a absorção de estado excitado ($|1\rangle \rightarrow |2\rangle$). A taxa radiativa para a transição $|2\rangle \rightarrow |1\rangle$ é escrita como ηR_2 ,
 5 enquanto a taxa radiativa para a transição $|2\rangle \rightarrow |0\rangle$ é escrita como R_0 . Finalmente, a constante de taxa de relaxação cruzada é denotada por W . Deve ser notado que a constante de taxa de relaxação (W) é fortemente dependente da concentração de íons de amostra, como relaxação cruzada é um par de processo de dois íons. Com base nas definições precedentes, o sistema de
 10 equações de taxa descrevendo as populações de todos os três estados de energia são: N_0

$$\frac{\partial N_0}{\partial t} = -\sigma_0 P N_0 - W N_0 N_2 + R_1 N_1 + (1-\eta) R_2 N_2, \quad (1)$$

$$\frac{\partial N_1}{\partial t} = \sigma_0 P N_0 - \sigma_1 P N_1 + 2W N_0 N_2 - R_1 N_1 + \eta R_2 N_2, \quad (2)$$

$$\frac{\partial N_2}{\partial t} = \sigma_1 P N_1 - W N_0 N_2 - R_2 N_2. \quad (3)$$

Deve ser notado que o fator “2” na Equação (2) é um resultado direto do processo de relaxação cruzada de dois íons $|0,2\rangle \rightarrow |1,1\rangle$. Sob condições de estado estacionário

$$\left(\frac{\partial N_2}{\partial t} = \frac{\partial N_1}{\partial t} = \frac{\partial N_0}{\partial t} = 0 \right)$$

15 as soluções para este sistema de equações de taxa é:

$$N_2 = \frac{\sigma_1 P}{W N_0 + R_2} N_1 \approx \frac{\sigma_1 P}{W + R_2} N_1, \quad (4)$$

e

$$N_1 = \frac{\sigma_0 P N_0}{R_1} + \frac{W N_0 - (1-\eta) R_2}{R_1} N_2 \approx \frac{\sigma_0 P}{R_1} + \frac{W - (1-\eta) R_2}{R_1} N_2, \quad (5)$$

ao utilizar $N_0 \approx 1$ para as aproximações (isto é, nenhum descolorante de estado fundamental é levado em consideração). Incorporando

a Equação (5) na Equação (4), o seguinte resultado é obtido:

$$N_2 = \frac{\sigma_0 \sigma_1 P^2}{R_1(W + R_2) - \sigma_1 P(W - (1 - \eta)R_2)} \quad (6)$$

Deve ser notado que uma potência crítica P_C é implicada:

$$P_C = \frac{R_1(R_2 + W)}{\sigma_1(W - (1 - \eta)R_2)} \quad (7)$$

para a qual a Equação (6) diverge. A divergência da Equação (6) e o subsequente efeito de avalanche é graficamente exibido na Figura 2 (calculado para $\sigma_0 = 1$, $\sigma_1 = 5$, $R_1 = 1$, $R_2 = 10$, $W = 100$, $\eta = 0,5$).

Mais particularmente, a Figura 2 exhibe a população de estado $|2\rangle$ como uma função da potência de excitação normalizada para um íon de amostra típico. O efeito de avalanche pode ser visto para potências $P \approx P_C$, de acordo com as Equações (6) e (7). Como pode ser visto da Equação (6), uma divergência da emissão de conversão para cima ocorrerá mais facilmente prontamente/facilmente quando W for grande comparado a R_2 . Há uma variedade de íons de amostra capazes de conversão para cima de acordo com a presente descrição que satisfazem ao critério precedente.

Por exemplo, íons de amostra apresentando as propriedades de conversão para cima desejadas conforme aqui descrito incluem os íons de terra rara (onde as taxas de relaxação radioativas a partir dos estados superiores excitados estão tipicamente na faixa de $10^4 - 10^6 \text{ s}^{-1}$ e a taxa de relaxação cruzada pode ser tão grande quanto 10^7 s^{-1}). Íons de terra rara em seu estado trivalente são particularmente preferidos de acordo com os sistemas e métodos mostrados.

Em uma realização típica adicional da presente descrição, sistemas de íon de amostra que incluem fósforos de metal de transição/terra rara misturados podem ser empregados em procedimentos de diagnósticos, por exemplo, biópsia óptica. De acordo com tais realizações típicas, a energia de excitação é absorvida pelo(s) íon(s) de terra rara incluídos na mistura descrita, e tal energia de ativação é subsequente transferida para o(s)

íon(s) de metal de transição. Metais de terra rara típicos para uso nos íons de amostra mostrados incluem Yb^{3+} e Tm^{2+} , pelo menos em parte porque tais metais possuem apenas um (1) estado excitado (aproximadamente a $10'000 \text{ cm}^{-1}$) que contém a força plena do oscilador f-f e resulta em uma significativa seção transversal de absorção.

Ao selecionar íons de metal em transição para inclusão nos íons de amostra descritos, metais de transição preferidos não apresentam bandas de absorção na faixa próxima de infravermelho, onde o íons de terra rara absorve o fóton de excitação inicial. Entretanto, metais de transição preferidos apresentam vantajosamente bandas de absorção forte aproximadamente a duas vezes a energia de excitação, preferivelmente através de uma ampla faixa de energia. Metais de transição que apresentam tais propriedades permitem a seleção/utilização de níveis de energia de excitação que maximizam o efeito de avalanche, isto é, tais metais de transição facilitam “sintonia” dos sistemas e métodos descritos para desempenho melhorado.

Geralmente, o estado de excitação mais baixo deveria ser acima de $\sim 13'000 \text{ cm}^{-1}$ para fins dos íons de amostra descritos. Em instâncias nas quais o limiar de parâmetros de excitação precedente é aplicável, íons de metal de transição tendo as seguintes configurações eletrônicas são geralmente empregados: $3d^2$, $3d^3$, $3d^5$ e $3d^8$ (por exemplo, com base nos diagramas de Tanabe-Sugano). Íons de metal de transição que apresentam as configurações eletrônicas desejadas incluem, porém não estão limitados a Cr^{3+} , Mn^{4+} , V^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{4+} , Fe^{2+} , V^{3+} , Cr^{4+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} . Em adição, íons apresentando configurações eletrônicas $3d^4$ e $3d^6$ podem ser eficazmente incorporados em íons de amostra de acordo com a presente descrição, porém pode ser esperado que tais íons de metal sejam eficazes somente em uma faixa de campo de cristal muito estreito onde os primeiros estados excitados do íons de metal estão com energia suficiente. Dependendo da simetria de site exata e forças de campo de

cristal, a cor emitida dos íons de metal de transição de acordo com a presente descrição pode ser quase qualquer comprimento de onda estendendo-se pela faixa espectral de verde, amarelo, laranja e vermelho.

5 No sentido de maximizar a eficiência do processo de conversão para cima em avalanche, os íons de metal de transição e de terra rara são geralmente selecionados de modo a estar a uma distância bem definida. De acordo com realizações preferidas da presente descrição, os íons de metal de transição e de terra rara estão a uma distância bem definida, tal distância estando tão próxima quanto possível. Em adição, o ângulo de ponte
10 entre os dois íons - isto é, o íon de terra rara e o íon de metal de transição - é preferivelmente compartilhamento de canto. Uma configuração de compartilhamento de canto vantajosamente maximiza as superposições de função de onda, que se traduzem e/ou produzem interação de super troca entre os dois íons.

15 De acordo com uma realização típica da presente descrição, um sistema de íon de amostra é provido, o qual inclui um par de íons Yb^{3+} e Mn^{2+} . O comportamento/resposta relacionado a energia do par de íons precedente é exibido na Figura 3 (que é obtida de Pascal Gerner e outros, "Chem. Eur. J.", 10, 4735-4741, 2004). Após absorção de estado fundamental
20 não ressonante (GSA), o dímero Yb^{3+} - Mn^{2+} é excitado, porém apenas ligeiramente, no estado excitado Yb^{3+} dominado $^2\text{F}_{5/2}$. Após absorção de um segundo fóton de excitação, o dímero Yb^{3+} - Mn^{2+} é adicionalmente excitado nas bandas $^4\text{T}_1/\text{T}_2$ dominadas Mn^{2+} . O estado de excitação preciso depende da energia de excitação recebida pelo dímero. A termalização rápida subsequente
25 deixa Mn^{2+} em seu estado excitado $^4\text{T}_1$ emissor de vermelho/verde. A cor precisa a luz de emissão é sintonizável via força de campo do cristal, permitindo um grau de liberdade no projeto do fósforo ideal. Emissão de conversão para cima em avalanche típica deveria então ser observável, por exemplo, em brometos (por exemplo, $\text{MnBr}_2:\text{Yb}^{3+}$), cloretos ($\text{MnCl}_2:\text{Yb}^{3+}$) e

outros haletos (tais como $\text{RbMnCl}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{CsMnCl}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{CsMnBr}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{RbMnBr}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{Rb}_2\text{MnCl}_4:\text{Yb}^{3+}$).

Os sistemas e métodos mostrados utilizam o efeito de avalanche para distinguir claramente íons de amostra em uma localização desejada de concentrações de íon de amostra de segundo plano separadamente localizadas em relação à localização desejada. Dependendo de quão próxima a energia de ativação está do limiar requisitado, a magnitude da emissão associada à conversão para cima será influenciada/afetada. Uma pequena variação na concentração dos íons de conversão para cima em avalanche se traduz/resulta em uma grande mudança na constante de taxa de relaxação cruzada W . Isto, por sua vez, mudará significativamente a população no estado excitado superior (supondo que a potência de excitação seja mantida constante).

Um exemplo típico do efeito de conversão para cima em avalanche associado à presente descrição é graficamente exibido na Figura 4. Espectros de emissão normalizados são calculados para estarem abaixo do limiar requisitado no gráfico à esquerda, e os espectros de emissão normalizados são calculados para estarem próximos ao limiar no gráfico à direita. Deve ser notado que a emissão do íon de amostra a 550 nm é mais pronunciada no espectro à direita, se comparada com o espectro à esquerda. A única diferença entre estes espectros é a influência da relaxação cruzada (que por sua vez determina a relação P/P_C). No gráfico à esquerda, uma luminescência desejada a 550 nm em um segundo plano forte é observada, como seria o caso em um procedimento de biópsia óptica normal/convencional. Em perfeito contraste, no gráfico à direita na Figura 4, a luminescência desejada a 550 nm é mostrada quando um fósforo de conversão para cima em avalanche típico de acordo com a presente descrição é exposto a potência de excitação, onde o sinal de intensidade mais alta está próximo do limiar. Claramente, a emissão de 550 nm é muito mais pronunciada com o fenômeno de conversão para cima em avalanche da presente descrição, e o

sinal de segundo plano é muito mais fraco. Portanto, a emissão de 550 nm é muito melhor resolvida através da implementação dos sistemas e métodos mostrados conforme exibido no gráfico à direita da Figura 4.

Com referência à Figura 5, é provido um fluxograma típico para implementação do sistema e método mostrados. Conforme mostrado, um método/técnica típicos para identificar, medir e/ou monitorar emissões de íon de amostra de modo a identificar regiões de concentração mais alta, envolvem: (i) prover íon(s) de amostra que apresentam o efeito de conversão para cima em avalanche, (ii) introduzir o(s) íon(s) de amostra para ambientes anatômicos e/ou clínicos de interesse, (iii) permitir que os íons de amostra se concentrem em região(ões) de interesse, (iv) expor os íons de amostra à energia de ativação que está no ou próximo ao limiar aplicável, para iniciar conversão para cima em avalanche, e (v) identificar, medir e/ou monitorar emissões de íons de amostra de modo a identificar região(ões) de concentração mais alta. O método descrito (e sistemas suportando tal método) possuem aplicabilidade de faixa ampla, por exemplo, no diagnóstico de genes, imunodiagnóstico, desenvolvimento medicinal, teste ambiental, biotecnologia, inspeção fluorescente e similares. Uma aplicação particularmente vantajosa do método descrito e sistema associado envolve procedimentos de diagnóstico, por exemplo, biópsia óptica.

Embora os sistemas e métodos da presente descrição tenham sido descritos com referência a realizações típicas desta, a presente descrição não está limitada por ou a tais realizações típicas. Ao invés disso, as receptores típicas descritas são meramente ilustrativas das aplicações, implementações e vantagens associadas aos sistemas e métodos mostrados. Realmente, a presente descrição é destinada a abranger modificações, melhoramentos e variações dos sistemas e métodos mostrados, como seria prontamente aparente a pessoas especialistas na técnica com base na presente descrição, e que realiza o espírito e escopo da presente descrição.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para identificar uma região ou localização de interesse, caracterizado pelo fato de compreender:

5 a. prover um ou mais íons de amostra adaptados para apresentar um efeito de conversão para cima em avalanche;

b. expor o(s) íon(s) de amostra a uma energia de ativação para iniciar um efeito de conversão para cima em avalanche; e

10 c. determinar uma ou mais regiões de concentração mais alta do(s) íon(s) de amostra, com base nas emissões associadas, pelo menos em parte, no efeito de conversão para cima em avalanche.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o(s) íon(s) de amostra é/são introduzido(s) em um ambiente anatômico e/ou clínico.

15 3. Método de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o(s) íon(s) de amostra é/são funcionalizado(s) de modo a se concentrarem em uma região e/ou localização de interesse.

20 4. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a energia de ativação é entregue em um nível de energia que está no ou próximo ao limiar para iniciar um efeito de conversão para cima em avalanche para o(s) íon(s) de amostra.

25 5. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que emissões iniciadas pela energia de ativação são eficazes em diferenciar entre uma região/localização de concentração mais alta de íon(s) de amostra e níveis de segundo plano de íon(s) de amostra.

6. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a energia de ativação não inicia auto fluorescência do tecido a um nível suficiente para interferir com a determinação citada.

7. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que pelo menos um dos íons de amostra inclui uma combinação de íons de metais de transição e de terra rara.

5 8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o íon de terra rara é Yb^{3+} .

9. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que pelo menos um dos íons de amostra é um fósforo misturado de metal de transição/de terra rara.

10 10. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o íon de metal de transição é selecionado do grupo consistindo de Cr^{3+} , Mn^{4+} , V^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{4+} , Fe^{2+} , V^{3+} , Cr^{4+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} .

11. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o íon de metal de transição é caracterizado por um estado eletrônico de $3d^2$, $3d^3$, $3d^5$ ou $3d^8$.

15 12. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de compreender adicionalmente uma retícula hospedeira de haleto para incorporar ambos um íon de terra rara e um íon de metal de transição (por exemplo, um brometo (por exemplo, $\text{MnBr}_2:\text{Yb}^{3+}$), cloreto ($\text{MnCl}_2:\text{Yb}^{3+}$) ou outro haleto (tais como $\text{RbMnCl}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{CsMnCl}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{CsMnBr}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{RbMnBr}_3:\text{Yb}^{3+}$, $\text{Rb}_2\text{MnCl}_4:\text{Yb}^{3+}$).

20

13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que a retícula hospedeira de haleto é eficaz para emissões que facilitam a determinação recitada.

25 14. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a determinação está associada a uma aplicação tal como diagnóstico de genes, imunodiagnóstico, desenvolvimento medicinal, teste ambiental, biotecnologia, inspeção fluorescente e biópsia óptica.

15. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de compreender adicionalmente sintonizar o comprimento de onda de emissão por avalanche da energia de ativação com um campo de cristal.

5 16. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que os íons de metal de transição e de terra rara são selecionados de modo a estarem a uma distância bem definida.

10 17. Método de acordo com qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o ângulo de ponte entre o íon de terra rara e o íon de metal de transição envolve compartilhamento de canto.

18. Sistema, caracterizado pelo fato de incluir meio para expor o(s) íon(s) de amostra a energia de ativação e meio para determinar emissões associadas a íon(s) de amostra em suporte de um método como definido em qualquer das reivindicações precedentes.

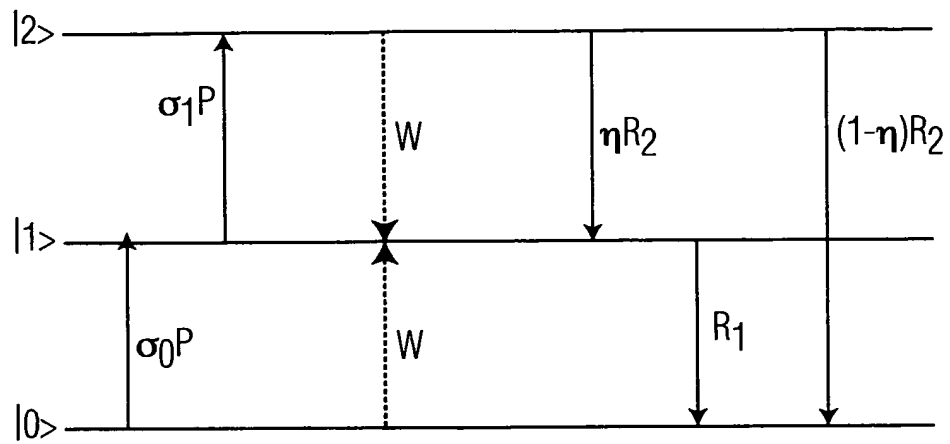


FIG. 1

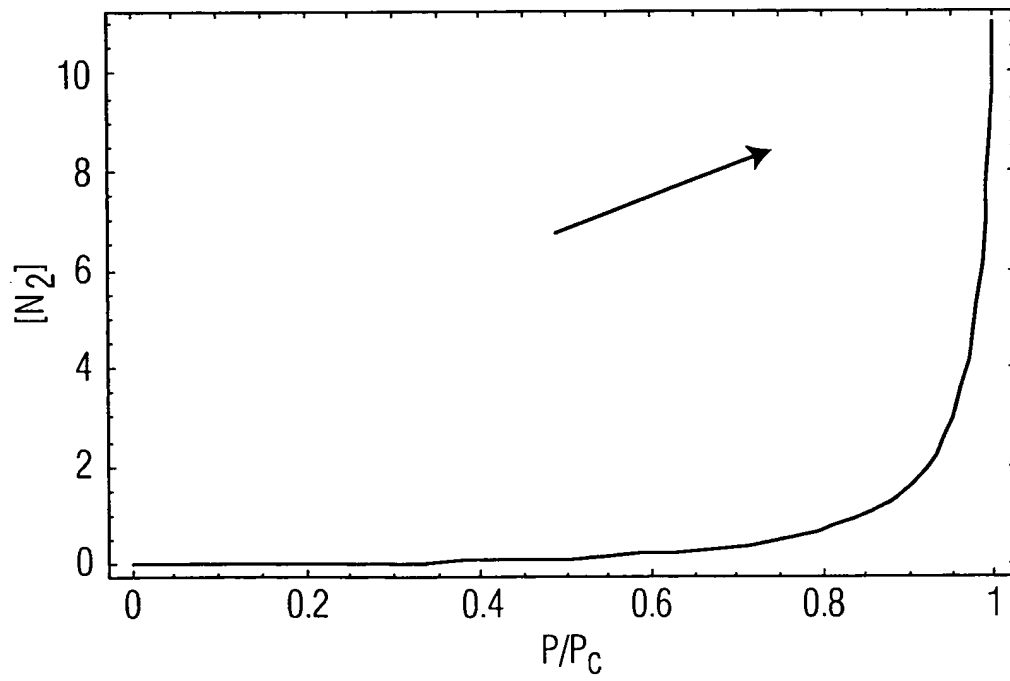


FIG. 2

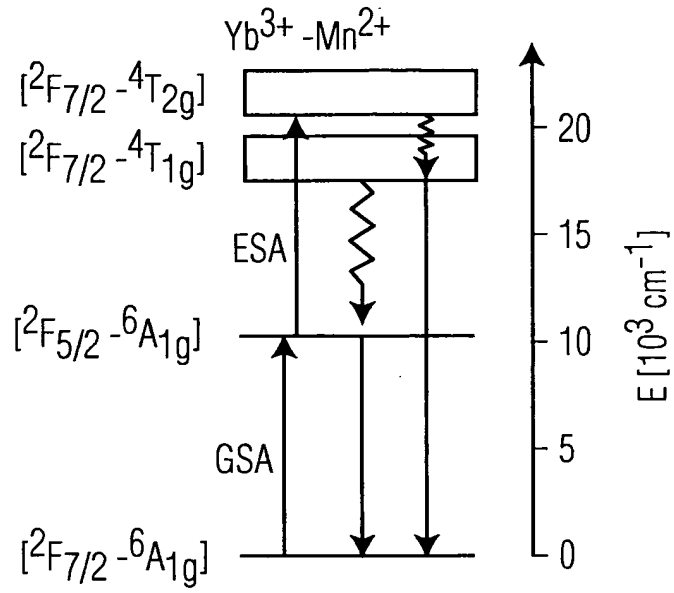


FIG. 3

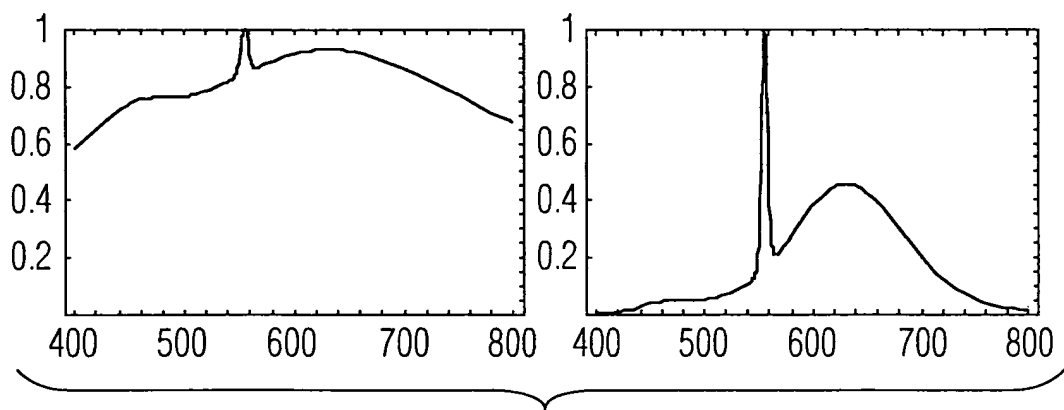


FIG. 4

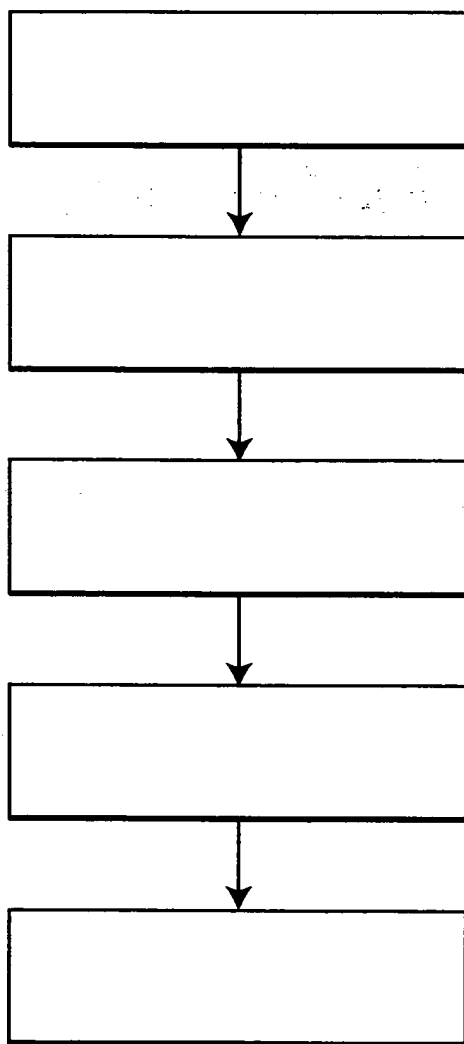


FIG. 5

RESUMO

“MÉTODO PARA IDENTIFICAR UMA REGIÃO OU LOCALIZAÇÃO DE INTERESSE, E, SISTEMA”

A presente descrição provê sistemas e método vantajosos para
5 aumentar significativamente a sensibilidade e seletividade de procedimentos
de diagnósticos, por exemplo biópsia óptica. Os sistemas e métodos
mostrados usam um efeito altamente não linear, a assim chamada avalanche
de fóton. No regime próximo ao limiar de avalanche, pequenas diferenças na
densidade do íon de amostra sobre investigação ou potência de excitação
10 podem resultar em mudanças muito grandes na intensidade de emissão de
conversão para cima. Através deste efeito torna-se possível medir
precisamente o sinal de um íon de amostra de biópsia óptica somente na(s)
localização(ões) onde sua concentração é a mais alta, enquanto ao mesmo
tempo reduz significativamente ou elimina a medição do sinal de segundo
15 plano dos íons de amostra distribuídos com uma concentração algo mais
baixa, através do volume de medição. Também, auto fluorescência de
segundo plano do tecido sadio vizinho está essencialmente ausente com esta
técnica.