Análisis Teórico y Experimental de la Determinación de los Parámetros Ópticos Mediante la Video Reflectometría

por

M.C. Margarita Cunill Rodríguez

Tesis que se presenta como requisito parcial para obtener el grado de Doctora en Ciencias en la Especialidad de Óptica

Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica
Tonantzintla, Puebla, México, septiembre de 2012

Asesorada por:

Dr. Sergio Vázquez y Montiel
Director de Tesis, Coordinación de Óptica, INAOE

©INAOE 2012
Derechos Reservados
El autor otorga al INAOE el permiso de reproducir y distribuir copias parciales o totales de esta tesis

Resumen

En este trabajo de tesis doctoral se ha realizado un estudio teórico y experimental de una instalación de video reflectometría implementada para determinar las propiedades ópticas de muestras líquidas y gelatinosas (a base de intralípido-10%) con propiedades de esparcimiento similares a la dermis de la piel humana. En el plano teórico se abordaron los aspectos siguientes: 1) investigar la validez de la expresión analítica del modelo dipolar para describir la reflexión difusa Rd(r); 2) la simulación estocástica de Rd(r) para una fuente de luz láser similar a la de la instalación experimental; y 3) la simulación analítica de Rd(r) para el caso de incidencia oblicua de un haz de luz infinitamente fino con ángulos próximos a la normal. Los aspectos experimentales abordados fueron los siguientes: 1) propuesta y evaluación de un método para determinar el factor de escala de la instalación experimental; 2) investigación de la influencia del plano de enfoque de la cámara CCD y de las fronteras del contenedor de los phantoms en la determinación de las curvas Rd(r) y de las propiedades ópticas; y 3) evaluación del efecto de la rugosidad en las curvas de reflexión difusa para muestras gelatinosas cuya rugosidad superficial alcanzan valores promedio de hasta 1.1 µm.

Los resultados teóricos demostraron: 1) que el criterio de un 1 mfp' como distancia radial que marca el límite para el uso de la expresión analítica del modelo dipolar no es totalmente válido, lo cual propició la propuesta de un

procedimiento de ajuste óptimo de los datos, demostrándose además, que al emplear este algoritmo para la extracción de las propiedades ópticas de un medio simulado (curvas sintéticas) se obtienen errores de recuperación inferiores a un 2% para el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s'; 2) que no existen diferencias significativas en la extracción de las propiedades ópticas cuando se trata de un haz Gaussiano con diámetro igual a 1 mm; y 3) que los errores de extracción de μ_s', es siempre inferior a un 5% para las dos zonas donde tiene interés realizar el ajuste de los datos experimentales. Hasta donde conocemos un análisis como este no aparece reportado en la literatura consultada. Por otra parte, los resultados experimentales demostraron: 1) que el algoritmo propuesto es robusto dado que se obtuvo una alta repetibilidad en la extracción del coeficiente de esparcimiento reducido del teflón y de las muestras líquidas a base de Lipofundin-10%; 2) que ante variaciones de incluso 1 mm en la colocación del plano de enfoque de la cámara CCD sobre la superficie de las muestras las curvas de reflexión difusa solo se afectan en menos de un 2%, y no se encontraron diferencias significativas entre los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraídos cuando ocurre tal desenfoque; y 3) que son inapreciables las diferencias entre las curvas de reflexión difusa obtenidas con rugosidad básica e inducida, para el mismo valor del coeficiente de esparcimiento reducido, al menos cuando la rugosidad superficial promedio toma valores en el intervalo entre 0.6 y 1.1 µm.

Los resultados teóricos y experimentales encontrados contribuyen a caracterizar adecuadamente el potencial de una instalación de video reflectometría para la determinación de propiedades ópticas de muestras similares a la piel humana. Esto a su vez tiene un impacto directo para propuestas futuras del diseño e implementación de un dispositivo portátil de video reflectometría para uso *in-vivo* en humanos con aplicaciones clínicas.

Dedicatoria

*A mi linda **Cuba** y a **México** lindo*

y

*A mi querida **hija** Yanet*

Agradecimientos

"Agradece a la llama su luz, pero no olvides el pie del candil que, constante y paciente, la sostiene en la sombra"

Rabindranath Tagore

Al Dr. Sergio Vázquez y Montiel por las valiosas discusiones de trabajo, orientación, sugerencias y apoyo recibido durante la realización de este proyecto de tesis.

Al Dr. José Alberto Delgado Atencio por el tiempo dedicado a discutir los temas tratados en esta tesis, por sus valiosas sugerencias y comentarios recibidos.

A los sinodales Dr. Alejandro Cornejo Rodríguez, Dr. Fermín Granados Agustín, Dr. José Javier Báez Rojas, Dra. Arllene M. Pérez González y Dr. Francisco Gutiérrez Delgado por sus comentarios y sugerencias recibidas durante la revisión de la tesis.

Al Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica (INAOE) por aceptarme como estudiante de doctorado en la especialidad de Óptica y por la ayuda y orientación recibida de todo su personal. En especial deseo agradecer a Martita, Esther y Fabiola de la coordinación docente, Liliana y Jorge de la biblioteca, y Patty y Eicela de la coordinación de óptica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para poder realizar este trabajo de investigación.

A mis compañeros del grupo GIOB por las intervenciones críticas durante mis seminarios de avance de tesis para un mejor desarrollo de este trabajo.

Al técnico de laboratorio Pedro Tecualt, al ingeniero mecánico Javier Arriaga y a la licenciada Ana María Zárate por suministrar los accesorios y aditamentos para la implementación de la instalación experimental.

A los compañeros del Taller de Pruebas Ópticas, en especial a Valentín López Cortés por su valioso aporte en el pulido de los discos de teflón. Al Dr. Francisco Renero por su apoyo en las mediciones realizadas con el perfilómetro óptico.

A mi hija Yanet por el ánimo que siempre me ha dado para seguir adelante en este proyecto de tesis, siempre apoyándome con su auténtico amor, sonrisa y alegría que la caracterizan.

A mi esposo Alberto porque siempre está a mi lado, apoyándome en mi trabajo con amor, cariño y consejos.

A mi hermana Susana por su cariño de siempre, son pocas las palabras para expresarle mi infinito agradecimiento.

A mis dos queridas Ana, siempre dispuestas a dar un sabio consejo y un abrazo sincero de madre.

A mi pequeña pero grande familia, siempre apoyándome para que culminara este proyecto de tesis sin preocupaciones.

A mis amigos, de quienes siempre he recibido su ayuda sincera, unos cerca casi a mi lado, y otros desde lejos con frases de aliento.

A todos los que mencioné y a los que me faltaron por mencionar, lleguen mis más sinceros agradecimientos.

Puebla, México, septiembre de 2012

Índice General

Resumen ..... **I**
Dedicatoria ..... **III**
Agradecimientos ..... **IV**
Capítulo 1 Introducción **1**
1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS 2
1.2 MOTIVACIÓN 4
1.3 OBJETIVOS 4
1.4 ORGANIZACIÓN DE LA TESIS 5
REFERENCIAS 8
Capítulo 2 Fundamentos Teóricos **9**
2.1 TEORÍA DE LA TRANSFERENCIA RADIATIVA 10
2.1.1 Ecuación de la Trasferencia Radiativa 11
2.1.2 Función de fase 14
2.2 APROXIMACIÓN DE LA DIFUSIÓN 15
2.2.1 Modelo de la fuente dipolar 17
2.2.2 Modelo modificado de la fuente dipolar 19
2.3 EL MÉTODO MONTE CARLO 21
2.3.1 El código MCML (Monte Carlo Multi-Layered) 23
2.4 MODELO ÓPTICO DE LA PIEL 26
2.4.1 Estructura 26
2.4.2 Rugosidad 28
2.4.3 Propiedades ópticas 31
2.5 MODELOS DE TEJIDOS SINTÉTICOS 35
2.5.1 Parámetros ópticos para el intralípido-10% 37
2.5.2 Índice de refracción del tejido sintético 38

2.6 INSTALACIÓN EXPERIMENTAL DE VIDEO REFLECTOMETRÍA 39
2.7 CONCLUSIONES 41
REFERENCIAS 42
Capítulo 3 Simulación de las Curvas de Reflexión Difusa Resueltas Radialmente.....46
3.1 ALGORITMO PROPUESTO PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTICOS..... 48
3.1.1 Haz infinitamente fino 49
3.2 ANÁLISIS TEÓRICO DE LA INFLUENCIA DE LAS DIMENSIONES DEL HAZ INCIDENTE Y DE SU INCLINACIÓN EN LAS CURVAS Rd(r) 56
3.2.1 Influencia de las dimensiones del haz: haz Gaussiano 56
3.2.2 Influencia de la inclinación del haz 62
3.3 CONCLUSIONES 68
REFERENCIAS 70
Capítulo 4 Aspectos Instrumentales de la Video Reflectometría 71
4.1 DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE ESCALA K DE LA INSTALACIÓN EXPERIMENTAL 72
4.1.1 Propiedades ópticas del teflón obtenidas con IAD 72
4.1.2 Algoritmo para determinar K..... 74
4.1.3 Descripción del experimento 75
4.1.4 Resultados..... 76
4.2 INFLUENCIA DEL PLANO DE ENFOQUE EN LA EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTICOS..... 78
4.2.1 Efecto del desenfoque de la cámara CCD en las curvas Rd(r) 78
4.2.2 Efecto del desenfoque de la CCD en la extracción de los parámetros ópticos..... 82
4.3 INFLUENCIA DE LAS DIMENSIONES DEL RECIPIENTE EN LA EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTICOS 83
4.4. EXTRACCIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS 85
4.4.1 Phantoms líquidos 85

4.4.2 Análisis de los resultados..... 89
4.5 CONCLUSIONES..... 96
REFERENCIAS..... 98
Capítulo 5 Estudio Experimental del Efecto de la Superficie Rugosa sobre Rd(r)..... 100
5.1 INTRODUCIÓN..... 102
5.1.1 Materiales y métodos..... 103
5.1.2 Procedimiento para imprimir rugosidad adicional en las muestras . 105
5.1.3 Resultados..... 109
5.2 EXTRACCIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS..... 113
5.2.1 Comparación de los resultados con los obtenidos por Sun *et al*. ... 116
5.3 CONCLUSIONES..... 121
REFERENCIAS..... 122
Capítulo 6 Conclusiones..... 123
6.1 CONCLUSIONES GENERALES 123
6.2 TRABAJO FUTURO 126
Lista de Figuras..... 127
Lista de Tablas 134
APÉNDICE A. Publicaciones y participación en congresos..... 137

Capítulo 1

Introducción

En este capítulo se brinda una breve reseña histórica del uso de la radiación óptica para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades de la piel, destacando la instrumentación actual para medir sus propiedades ópticas. Esto conduce al planteamiento de la temática que se aborda en este proyecto de tesis doctoral. Seguidamente se plantean las motivaciones que originaron la realización de esta tesis, y los objetivos trazados para su ejecución y cumplimiento. Finalmente, se describe la organización de los capítulos que conforman este trabajo.

1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La óptica biomédica es considerada un campo de investigación científico relativamente nuevo, aunque el diagnóstico y tratamiento óptico es tan antiguo como la civilización humana. La inspección visual y el tratamiento con la luz del sol (helioterapia) fueron usados desde tiempos remotos y aún continúan siendo de importancia como complemento al tratamiento de ciertas enfermedades.

Los primeros reportes del uso terapéutico de la luz solar para propósitos médicos datan desde el año 1400 aC en que fueron aplicados al tratamiento de enfermedades de la piel. Por ejemplo en la india se realizó el tratamiento del vitíligo mediante la aplicación combinada de extractos de ciertas plantas y la exposición moderada a la luz solar. El primer libro sobre fototerapia fue publicado en 1898 por Willibald Gebhardt, quien describe las indicaciones, métodos y equipamiento para el tratamiento de enfermedades de la piel como el lupus vulgaris, acné, psoriasis, prurigo, sífilis y lepra [1].

Durante siglos se pensó que el efecto terapéutico de la luz solar era debido solamente a la luz roja y al calor del sol porque no se conocía la radiación UV. En 1901 Finsen publicó los primeros resultados del tratamiento del lupus vulgaris con dosis concentradas de radiación UV a partir de una lámpara de arco de carbón, por ello le fue otorgado el Premio Nobel en medicina, en 1903.

Otras de las enfermedades de la piel como las úlceras traumáticas, fue reportada por el médico privado de Napoleón quien observó el efecto beneficioso después de la exposición al sol de aquellos soldados que la padecían. Durante la I y II Guerra Mundial, las úlceras fueron tratadas mediante la exposición solar o lámparas de tungsteno-cuarzo. Posteriormente, cuando estuvo disponible el uso de antibióticos, el interés por la fototerapia para la cicatrización de las heridas comenzó a perder interés hasta que apareció en la década del 60 la terapia con láser de baja

potencia (en inglés Low-Level Laser Therapy, LLLT) para el tratamiento de las úlceras venosas en las piernas, precisamente con el surgimiento del láser como fuente de luz, en particular el de He-Ne [1]. También surgieron otros tipos de fototerapias para el tratamiento de la hiper-bilirrubinemia (icteria neonatal) con luz azul, la Terapia Fotodinámica con luz roja para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer de piel, entre otros.

Similarmente, el diagnóstico óptico se ha venido desarrollado hasta nuestros días gracias a los avances en el campo de investigación de la óptica, la electrónica, la ingeniería, las ciencias de la información, etc., posibilitando la instrumentación y las técnicas necesarias para realizar estudios cuantitativos de la piel cada vez más precisos y menos invasivos, expresados generalmente a través de sus parámetros ópticos (coeficiente de absorción y de esparcimiento reducido). Por ejemplo, la Tomografía Óptica Coherente (TCO), que permiten obtener una imagen con una alta resolución en tiempo real, de la sección transversal de la piel, de forma no invasiva [2]; la espectroscopía de reflexión difusa aplicada al monitoreo *in-vivo* de los principales pigmentos de la piel (melanina, hemoglobina y bilirrubina); el uso de dos esferas integradoras [3,4], que aunque es un método invasivo muy común de medición de los parámetros ópticos, requiere de muestras de tejidos *ex-vivo* y por último, la video reflectometría [5], la cual se puede implementar en un ambiente clínico de forma no invasiva.

Las razones anteriores evidencian la importancia que representa el conocer las propiedades ópticas de la piel como un elemento importante para una correcta aplicación de las técnicas ópticas modernas en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades y lesiones de la piel.

En este trabajo de tesis se aborda la determinación de las propiedades ópticas de muestras (*phantoms*) con propiedades ópticas similares a la de la piel humana usando una instalación experimental de video reflectometría [5,6] por ser una técnica de aplicación relativamente económica respecto de otras y por las ventajas mencionadas anteriormente.

La video reflectometria consiste básicamente en la medición de la reflexión difusa resuelta radialmente Rd(r) en función de la distancia r al punto de incidencia de un haz infinitamente fino que incide normalmente sobre la superficie del tejido en estudio. El tejido se considera un medio homogéneo y semi-infinito cuyas propiedades de esparcimiento deben ser superiores a las de absorción para que sea aplicable la aproximación de la difusión [7]. El registro de la luz se realiza con una cámara de video CCD.

1. 2 MOTIVACIÓN

La continuidad a los trabajos de investigación desarrollados durante mi proyecto de tesis de maestría [6] que fueron enfocados principalmente a establecer los fundamentos experimentales de la video reflectometría han sido una fuente de motivación para el actual proyecto de tesis doctoral. Esto conjuntamente con el objetivo de contar con una metodología propia para la extracción de las propiedades ópticas de muestras de tejidos y alcanzar resultados aplicables del método en un ambiente clínico, han impulsado también a que se plantearan metas superiores en este proyecto de tesis. Estas metas y objetivos se enuncian a continuación.

1.3 OBJETIVOS

Objetivo general:

Realizar un estudio teórico y experimental de una instalación de video reflectometría que contribuya a establecer un algoritmo propio para la determinación de las propiedades ópticas de muestras (lisas o rugosas) altamente difusas con propiedades ópticas similares a la de la piel humana.

Objetivos específicos:

1. Investigar mediante métodos analíticos y estocásticos la influencia de parámetros geométricos y ópticos en las curvas de reflexión difusa resuelta radialmente Rd(r).

2. Proponer un algoritmo propio para la determinación de las propiedades ópticas de muestras con propiedades similares a la de la piel humana. Entre otros aspectos este algoritmo incorpora la propuesta del uso de un disco de teflón como estándar de referencia para determinar el factor de escala de la instalación experimental.

3. Evaluar experimentalmente el efecto de factores geométricos en las curvas de reflexión registradas y su impacto en la determinación de las propiedades ópticas.

4. Investigar la influencia de la rugosidad de la superficie de las muestras en las curvas de reflexión difusa y su repercusión en la extracción de las propiedades ópticas.

1. 4 ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

El resto del presente trabajo de tesis ha sido organizado de la siguiente manera:

En el siguiente capítulo 2 se describe brevemente la teoría de la transferencia radiativa como el fundamento teórico para explicar la distribución de la luz en los tejidos biológicos. Se presenta el modelo de la fuente dipolar en la aproximación de la difusión para explicar la distribución radial de la luz en los tejidos sintéticos (*phantoms*) estudiados, además de constituir el modelo matemático adoptado para realizar el ajuste de los datos experimentales. Se describe el modelo modificado de la fuente dipolar para evaluar teóricamente la sensibilidad de la instalación experimental respecto a los ángulos de incidencia próximos a la normal. Se explica brevemente el programa ejecutable de dominio público MCML.exe que será utilizado para realizar las simulaciones numéricas. Se describe la estructura, rugosidad y principales elementos de importancia óptica de la piel, especificando las propiedades ópticas calculadas a la longitud de onda de 633 nm. Se proponen los modelos de tejidos sintéticos que serán usados durante el

desarrollo de esta tesis, y finalmente se describe la instalación experimental de video reflectometría.

En el capítulo 3 se presenta una propuesta propia de un algoritmo para encontrar la distancia radial ideal, a partir de la cual realizar la extracción adecuada de las propiedades ópticas del medio. Se analizan estos resultados teóricos mediante la comparación con las simulaciones realizadas con el código MCML.exe de las curvas de reflexión difusa Rd(r). Se muestran también las simulaciones de las curvas de reflexión difusa para un haz Gaussiano semejante a la fuente de luz usada en nuestra instalación experimental, y la extracción de los parámetros ópticos con el algoritmo propuesto. Finalmente, se describen las simulaciones realizadas de las curvas de reflexión difusa con el modelo modificado de la fuente dipolar, con el objetivo de brindar un criterio para el ajuste de los datos experimentales cuando pequeños errores pudieran estar presentes al establecer una supuesta incidencia normal del haz de luz sobre el tejido.

En el capítulo 4 se presentan algunos de los aspectos instrumentales que se debe considerar en la instalación de video reflectometría implementada en este trabajo para determinar las propiedades ópticas en muestras desconocidas. Entre ellos se encuentran: la determinación del factor de escala K de la instalación experimental; la investigación de la influencia del plano de enfoque, y evaluación del efecto de las dimensiones del recipiente, en la obtención de las curvas experimentales de reflexión difusa Rd(r) y por tanto en la extracción de los parámetros ópticos. Finalmente se presenta un análisis estadístico del proceso de extracción de las propiedades ópticas de las muestras de estudio, y se discute los resultados obtenidos teniendo en cuenta los resultados reportados por otros autores.

En el capítulo 5 se presenta un estudio experimental sobre el efecto de la rugosidad en las curvas de reflexión difusa Rd(r) en phantoms gelatinosos con propiedades ópticas semejantes a la dermis de la piel humana, y con una interfase rugosa lograda con una lija de tela, la cual imprime una rugosidad

superficial promedio de aproximadamente 1 µm. Se muestran los resultados mediante la comparación entre las curvas de reflexión difusa para la rugosidad básica y la rugosidad inducida para el mismo valor del coeficiente de esparcimiento reducido. Se presentan las propiedades ópticas extraídas con el algoritmo que hemos propuesto en esta tesis, para un conjunto de estas muestras. Finalmente, se realiza un análisis comparativo de los resultados experimentales reportados por otros autores con nuestros resultados de investigación.

En el capítulo 6 se presentan las conclusiones principales de este proyecto de tesis y el trabajo futuro que podrá dar continuidad a la misma.

REFERENCIAS

[1] Rik Roelandts, “The history of phototherapy: Something new under the sun?”, J. Am. Acad. Dermatol. Vol. 46, 926-930 (2002).

[2] Thorlabs, “Spectral Radar OCT, Operating Manual”, Manual (2007).

[3] J. W. Pickering, S. A. Prahl, N. van Wieringen, J. F. Beek, H. J. C. M. Sterenborg, and M. J. C. van Gemert, "Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue," Appl. Opt. **32**, 399-409 (1993).

[4] S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert and A. Welch, “Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method”, Applied Optics 32, 559-568 (1993).

[5] S. Jacques, A. Gutsche, J. Schwartz, L. Wang, and F. Tittel, “Video reflectometry to specify optical properties of tissue in vivo,” in *Medical Optical Tomography: Functional Imaging and Monitoring*, edited by G. Mueller, Proceedings of SPIE 1S11, 211-226 (1993).

[6] M. Cunill Rodríguez, “Análisis e Implementación de la Video Reflectometria para Aplicaciones Biomédicas”, Tesis de maestría. INAOE, agosto de 2008.

[7] T. J. Farrell, M. S. Patterson and B. Wilson, “A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties *in vivo,*” Med. Phys. **19**, 879-888 (1992).

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos

En este capítulo se describe brevemente la teoría de la transferencia radiativa como el fundamento teórico para explicar la distribución de la luz en los tejidos biológicos. Se presenta una de las soluciones analíticas de la ecuación de transferencia radiativa (ETR), la aproximación de la difusión, en particular el modelo de la fuente dipolar, el cual se empleará durante el desarrollo de este proyecto de tesis para explicar la distribución radial de la luz en los tejidos sintéticos estudiados, además de constituir el modelo matemático adoptado para realizar el ajuste de los datos experimentales. Seguidamente se describe el modelo modificado de la fuente dipolar, que se usará para evaluar teóricamente la sensibilidad de la instalación experimental respecto a los ángulos de incidencia próximos a la normal. Se aborda también el método Monte Carlo como una solución numérica de la ETR. Se explica brevemente el programa ejecutable de dominio público MCML.exe que será utilizado para las simulaciones numéricas en el Capítulo 3 de esta tesis.

Se describe la estructura, rugosidad y principales elementos de importancia óptica de la piel. Se calculan el coeficiente de esparcimiento reducido y el de absorción de la piel en la longitud de onda de 633 nm. Se proponen los modelos de tejidos sintéticos que simulen estas propiedades ópticas y que serán usadas durante el desarrollo de esta tesis. Se

fundamenta el cálculo del coeficiente de esparcimiento reducido de estos tejidos sintéticos para una suspensión de Intralípido-10%. Finalmente se aborda una descripción resumida de la instalación experimental de video reflectometría usada en esta tesis, con vista a facilitar su análisis teórico (capítulo 3) y los estudios experimentales (capítulos 4 y 5) realizados con la misma.

2.1 TEORÍA DE LA TRANSFERENCIA RADIATIVA

Describir la interacción de la luz con los tejidos biológicos es realmente muy complejo porque éstos en general, son medios altamente esparcidores y las conocidas leyes de la óptica geométrica para el trazo de rayos se hacen difíciles de aplicar. En el campo de la óptica biomédica la distribución de la luz puede ser modelada a través de la Teoría Analítica o por medio de la Teoría de la Transferencia Radiativa (TTR).

La Teoría Analítica se refiere al uso de las ecuaciones de Maxwell para describir la propagación del campo electromagnético interactuando con las propiedades dieléctricas del medio, siendo las magnitudes estadísticas como la varianza y funciones de correlación, las incógnitas; esta teoría puede incluir en principio el esparcimiento múltiple, la difracción e interferencia. Son pocas las soluciones aproximadas útiles que ella brinda tales como la teoría de Mie que describe el esparcimiento de una onda plana infinita por una esfera homogénea y dieléctrica, o para el caso de geometrías más complejas el método de las diferencias finitas en el dominio del tiempo.

La Teoría de la Transferencia Radiativa se refiere al transporte de la energía a través de un medio que contiene partículas, es una teoría heurística que no incluye efectos de difracción ni de interferencia, asumiéndose que no hay correlación entre los campos. Este trabajo de tesis se enmarca a la obtención clásica por Ishimaru [1] donde tampoco se incluye el efecto de la polarización por conveniencia matemática.

La teoría de la transferencia radiativa, fue iniciada por Schuster en el año 1905, y a la ecuación diferencial básica de esta teoría se le conoce como Ecuación de Transferencia Radiativa y es equivalente a la ecuación de Bolzmann usada en la teoría cinética de los gases y en el transporte de neutrones. Esta teoría resuelve diversos fenómenos físicos citando por ejemplo la propagación de la energía radiante en la atmósfera de los planetas, las estrellas y galaxias; problemas atmosféricos y de visibilidad bajo

el mar y biología marina; entre otros.

2.1.1 Ecuación de la Trasferencia Radiativa

Se puede obtener la Ecuación de la Transferencia Radiativa a partir del principio de conservación de la energía y definiendo algunas magnitudes como la intensidad específica $I(\mathbf{r},\mathbf{s})$, la cual es el punto de partida de esta teoría [2].

Se define la intensidad específica $I(\mathbf{r},\mathbf{s})$ como la densidad del flujo de potencia en una dirección $\boldsymbol{s}$ dentro de un ángulo sólido unitario, y analizada en un punto **r** de un medio aleatorio de partículas. Esta magnitud se mide en [W m^{-2} sr^{-1} Hz^{-1}].

Consideremos que el medio contiene partículas aleatorias que esparcen y absorben la energía luminosa. Sea la intensidad específica $I(\mathbf{r},\mathbf{s})$ incidiendo sobre un diferencial de volumen cilíndrico con sección transversal unitaria dA y longitud ds, como se muestra en la figura 2.1. El volumen $dv = dsdA$, contiene ρds partículas, donde ρ es el número de partículas por unidad de volumen y se conoce como densidad numérica.

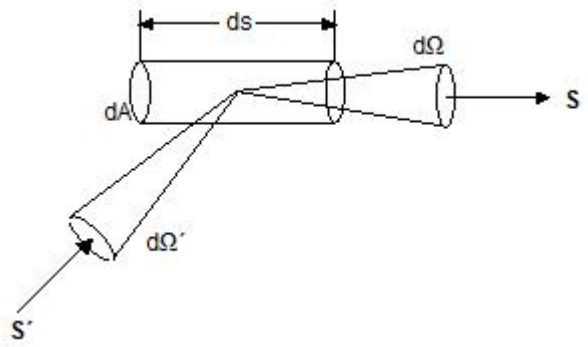

Figura 2.1 Elemento de volumen cilíndrico usado para deducir heurísticamente la ecuación de Transferencia Radiativa.

Pérdida por absorción y esparcimiento:

Cada partícula absorbe la potencia $\sigma_a I$ y esparce la potencia $\sigma_s I$, donde: σ_a y σ_s son la sección transversal de absorción y de esparcimiento respectivamente, por tal motivo disminuye la intensidad específica $dI(\boldsymbol{r},\boldsymbol{s})$ por

el diferencial de volumen *ds* y queda expresado como:

$$dI(\mathbf{r},\mathbf{s}) = -ds(\sigma_a+\sigma_s)I(\mathbf{r},\mathbf{s}) = -\rho ds\sigma_t I(\mathbf{r},\mathbf{s}) \quad (2.1)$$

A la magnitud $\sigma_t=(\sigma_a+\sigma_s)$ se le conoce como sección transversal total o de extinción cuya magnitud se mide en m^2.

Ganancia por esparcimiento* [2,3]*:

Al mismo tiempo la intensidad específica aumenta debido a que sobre este diferencial de volumen incide una parte de la intensidad específica proveniente de otras direcciones como ***s'*** y que se esparce en la dirección ***s*** y por lo tanto se le suma a la intensidad específica.

Sumando el flujo incidente proveniente de todas las direcciones ***s'***, la intensidad específica esparcida hacia la dirección ***s*** por ρds partículas en el volumen *ds*, queda expresado como:

$$dI(\mathbf{r},\mathbf{s}) = \frac{1}{4\pi}\int_{4\pi} ds\rho\sigma_t p(\mathbf{s},\mathbf{s}')I(\mathbf{r},\mathbf{s}')d\Omega' \quad (2.2)$$

donde $p(\mathbf{s},\mathbf{s}')$ es una magnitud adimensional conocida como función de fase o función de esparcimiento (se verá con más detalles en el epígrafe 2.1.2), la cual está relacionada con el albedo w_0 de una partícula:

$$w_0 = \frac{\sigma_s}{\sigma_t} = \frac{1}{4\pi}\int_{4\pi} p(\mathbf{s},\mathbf{s}')d\Omega \quad (2.3)$$

Ganancia debido a una fuente luminosa:

Por otra parte, la intensidad específica también puede incrementarse en la dirección ***s*** debido a una fuente de emisión dentro del diferencial de volumen *ds*. Denotando a $\varepsilon(\mathbf{r}, \mathbf{s})$ como la radiación de potencia emitida por unidad de volumen, por unidad de ángulo sólido y por unidad de frecuencia en la dirección ***s***, la intensidad específica adicionada en esta dirección será:

$$dI(\mathbf{r},\mathbf{s}) = ds\ \varepsilon(\mathbf{r}, \mathbf{s}) \quad (2.4)$$

Ecuación de la transferencia radiativa

Finalmente podemos obtener la ecuación de transferencia sumando las contribuciones dadas por las expresiones (2.1), (2.2) y (2.4), esto es:

$$\frac{dI(\mathbf{r},\mathbf{s})}{ds} = -\rho\sigma_t I(\mathbf{r},\mathbf{s}) + \frac{\rho\sigma_t}{4\pi}\int_{4\pi} p(\mathbf{s},\mathbf{s}')I(\mathbf{r},\mathbf{s}')d\Omega' + \varepsilon(\mathbf{r},\mathbf{s}) \tag{2.5}$$

Teniendo en cuenta las siguientes definiciones, y que conforman además parte de los parámetros ópticos del medio de estudio (expresados en cm^{-1}):

coeficiente de absorción: $\mu_a = \rho\sigma_a$ (2.6)

coeficiente esparcimiento: $\mu_s = \rho\sigma_s$ (2.7)

coeficiente de extinción: $\mu_t = \rho\sigma_t = \mu_a + \mu_s$ (2.8)

Entonces la expresión para la ecuación de la transferencia radiativa se puede expresar en términos de los coeficientes anteriores como sigue:

$$\frac{dI(\mathbf{r},\mathbf{s})}{ds} = -\mu_t I(\mathbf{r},\mathbf{s}) + \frac{\mu_t}{4\pi}\int_{4\pi} p(\mathbf{s},\mathbf{s}')I(\mathbf{r},\mathbf{s}')d\Omega' + \varepsilon(\mathbf{r},\mathbf{s}) \tag{2.9}$$

Esta es una ecuación íntegro-diferencial para la intensidad específica que describe la propagación de la intensidad de la luz en el tejido y contiene además los parámetros ópticos del medio. Derivar una solución analítica no es difícil si se realizan aproximaciones por ejemplo al medio de estudio, a la radiación incidente y a las condiciones de frontera [2].

Existen varios métodos descritos en la literatura para hallar la solución de la ecuación de la transferencia radiativa tales como la aproximación de la difusión [4], la teoría de Kubelka-Munk [5], y el método de Monte Carlo [6]. Durante el desarrollo de esta tesis abordaremos la aproximación de la difusión, y el método Monte Carlo.

2.1.2 Función de fase

Antes de hallar una de las soluciones analíticas de la ecuación de la TTR, la aproximación de la difusión, es necesario definir con detalles una de las magnitudes involucradas en esta ecuación: la función de fase o función de esparcimiento *p(**s,s'**)*.

Esta función describe las propiedades de esparcimiento del medio y es la función de densidad de probabilidad para el esparcimiento de un fotón que viajando en la dirección inicial ***s*** es desviado hacia la dirección ***s'***, además

por ser una función de probabilidad está normalizada a la unidad. Si las partículas del medio son esféricas, entonces la función de fase sólo depende del ángulo θ entre las direcciones ***s*** y ***s'***, esto es [7] :

$$p(\mathbf{s},\mathbf{s'})=p(\cos\theta) \tag{2.10}$$

En los tejidos biológicos, la función de esparcimiento se aproxima bastante bien con la función de Henyey y Greenstein [7,8] propuesta en el año 1941 para explicar el esparcimiento de la luz de las estrellas por la materia interestelar:

$$p(\cos\theta)=\frac{1}{4\pi}\frac{1-g^2}{\left(1+g^2-2g\cos\theta\right)^{3/2}} \tag{2.11}$$

donde g es el factor de anisotropía del medio. El valor de g se encuentra en el intervalo de -1 a 1: g=0 si el esparcimiento es isotrópico, g=1 para esparcimiento dirigido totalmente hacia delante, y g=-1 para esparcimiento dirigido totalmente hacia detrás. En la mayoría de los tejidos biológicos se reportan valores en el intervalo de 0.7 < g < 1 [7].

El factor de anisotropía se define como el valor promedio de $\cos\theta$:

$$g=\langle\cos\theta\rangle=\int\cos\theta p(\cos\theta)2\pi sen\theta d\theta \tag{2.12}$$

El factor de anisotropía también se utiliza para definir el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' que representa el coeficiente de esparcimiento isotrópico equivalente y se calcula como:

$$\mu_s'=(1-g)\,\mu_s \tag{2.13}$$

Generalmente, el estudio del esparcimiento según el medio que se analiza se divide en esparcimiento simple por partículas independientes o en esparcimiento múltiple (medios difusos), los cuales se encuentran desarrollados por A. Ishimaru [9] aplicados a esparcidores en la atmósfera, el océano y los materiales biológicos.

2.2 APROXIMACIÓN DE LA DIFUSIÓN

Para obtener la ecuación de la difusión y con ella una solución analítica de

la ecuación de la TTR, se realizan un conjunto de aproximaciones las cuales se resumen a continuación [4]:

1. La intensidad específica total se divide en dos partes: la intensidad incidente reducida, la cual representa la intensidad que disminuye debido al esparcimiento y a la absorción, y la intensidad difusa que representa la intensidad que se origina dentro del medio debido al esparcimiento.

2. La intensidad difusa encuentra muchos centros de esparcimiento y es esparcida "casi uniformemente" en todas las direcciones, pero con una magnitud ligeramente mayor en la dirección de propagación del flujo neto de corriente.

3. Se asume que la función de esparcimiento *p(**s, s'**)* es sólo una función del ángulo θ entre la dirección de incidencia y la dirección de esparcimiento del fotón.

4. Se calcula el factor de anisotropía *g* del medio mediante la función de Henyey-Greenstein (válido para partículas con dimensiones mucho menores que la longitud de onda).

5. Se utiliza la condición de frontera aproximada que el flujo difuso total hacia el interior del medio es nulo.

La aproximación de la difusión es válida cuando los eventos de esparcimiento son mucho más probables que los eventos de absorción, y esta teoría falla cuando se analiza la distribución de la luz en zonas próximas a la fuente luminosa o cuando el medio tiene un esparcimiento dirigido en la dirección y sentido de la radiación que se propaga.

La solución de la ecuación de la difusión para una fuente puntual isotrópica de potencia P_o localizada en un medio infinito, es la intensidad difusa promedio $U_d(r)$ [4], la cual se expresa en la notación actual como $4\pi U_d(\mathbf{r}) = \phi(\mathbf{r})$:

$$\phi(\mathbf{r}) = \frac{P_0}{4\pi D}\frac{\exp(-\mu_{eff} r)}{r} \qquad [\mathrm{W\ cm^{-2}}] \qquad (2.14)$$

nombrada como razón de fluencia (de la traducción del inglés *fluence rate*).

En esta expresión D es el coeficiente de difusión del medio y μ_{eff} es el coeficiente de atenuación efectivo:

$$D = \frac{1}{3\left(\mu_a + \mu'_s\right)} \qquad [\text{cm}] \qquad (2.15)$$

$$\mu_{eff} = (3\mu_a\left(\mu_a + \mu_s'\right))^{1/2} \qquad [\text{cm}^{-1}] \qquad (2.16)$$

por lo que ambas se relacionan entre sí como:

$$\mu_{eff}{}^2 = \frac{\mu_a}{D} \qquad (2.17)$$

Se define además al coeficiente de transporte o coeficiente de interacción total μ_t' (terminología comúnmente usada en la literatura) como:

$$\mu_t' = \mu_s' + \mu_a \qquad [\text{cm}^{-1}] \qquad (2.18)$$

2.2.1 Modelo de la fuente dipolar

Para un medio semi-infinito y homogéneo se puede aplicar el modelo del dipolo propuesto por Farrell *et al.* [10] que permite obtener una expresión analítica para la reflexión difusa a una distancia conocida respecto al punto de incidencia de un haz luminoso muy estrecho con incidencia normal a la superficie del medio.

En este epígrafe describiremos brevemente el procedimiento desarrollado por Farrell *et al.* [10] con el objetivo de obtener la expresión analítica para la reflexión difusa *Rd(r)* pero solamente para interfases desacopladas en cuanto al índice de refracción como por ejemplo aire-tejido. Tal situación es precisamente la que se presenta al aplicar la técnica de Video Reflectometría, cuya instalación experimental se detalla en el epígrafe 2.6 y mediante la cual se pueden determinar las propiedades ópticas del tejido en estudio.

La condición de frontera aplicada a este medio semi-infinito, cuyo índice de refracción es n_t y es diferente al del medio externo n es la siguiente [11]:

$$\phi(\mathbf{r_s}) - 2AD\frac{\partial}{\partial n}\phi(\mathbf{r_s}) = 0 \tag{2.19}$$

Esta condición de frontera se satisface colocando una frontera extrapolada, colocada aproximadamente a una distancia 2AD sobre la superficie del tejido, y en donde la razón de fluencia $\phi(\mathbf{r})$ sea igual a cero.

El parámetro A está relacionado con las reflexiones internas y se puede obtener a partir de los coeficientes de reflexión de Fresnel. Sin embargo, éste pudo ser determinado empíricamente por Groenhuis *et al.* [12] según la siguiente relación:

$$A = \frac{(1+r_i)}{(1-r_i)} \tag{2.20}$$

donde $r_i = 0.668 + 0.0636n_{rel} + 0.710n_{rel}^{-1} - 1.440n_{rel}^{-2}$, y $n_{rel}=n_t/n$ (2.21)

La razón de fluencia debido a la fuente puntual de esparcimiento isotrópico dentro del medio semi-infinito, se puede forzar a que sea cero sobre la frontera extrapolada, introduciendo una fuente imagen negativa. De ahí el nombre del modelo de la fuente dipolar.

Si la fuente puntual isotrópica se encuentra colocada a una profundidad $z_0 = \frac{1}{\mu_t'}$ de la superficie del tejido, la fuente imagen deberá estar colocada a la distancia z_o+2z_b, donde z_b=2AD como se observa en la figura 2.2 a. A la magnitud z_0 se le conoce en la literatura como recorrido libre medio de transporte (mfp').

Esta situación así planteada permite que la intensidad difusa promedio, $U_d(r,z)$, para una fuente puntual en un medio semi-infinito sea calculada como la suma de la intensidad difusa promedio de la fuente y su imagen en un medio infinito. Aplicando entonces la 1ra ley de Fick, se obtiene finalmente la luz reflejada difusamente que escapa de la superficie del tejido (z=0) a la distancia *r*, conocida como reflexión difusa resuelta radialmente *Rd(r)*:

$$Rd(r) = \frac{a'}{4\pi}\left[z_0\left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_1}\right)\frac{e^{-\mu_{eff} r_1}}{r_1^2} + \left(z_0 + 2z_b\right)\left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_2}\right)\frac{e^{-\mu_{eff} r_2}}{r_2^2}\right] \quad (2.22)$$

$$r_1 = \left[z_0^{\,2} + r^2\right]^{1/2} \text{ y } r_2 = \left[\left(z_0 + 4AD\right)^2 + r^2\right]^{1/2} \quad (2.23)$$

donde r_1 y r_2 son las distancias de la fuente puntual y su imagen, al punto donde se quiere medir la intensidad difusa promedio, y *a'* es el albedo de transporte del medio definido como μ_s'/μ_t'.

Si el registro de la luz reflejada difusamente *Rd(r)* se realiza mediante fibras ópticas, esta técnica de medición se le conoce como reflectometría, y si se realiza mediante el uso de una cámara de video CCD se le conoce como video reflectometría.

2.2.2 Modelo modificado de la fuente dipolar

Este modelo será utilizado en el capítulo 3, referidos a las simulaciones numéricas, con el objetivo de caracterizar teóricamente la técnica de video reflectometría en los aspectos que pueden influir en la obtención de los parámetros ópticos. Entre éstos se encuentra evaluar la sensibilidad con relación al ángulo de incidencia próxima a la normal.

Desde mediados de la década del 90 aparecieron numerosas publicaciones en donde se plasmaron ideas novedosas en instalaciones de las llamadas técnicas de medición para la reflexión difusa resuelta radialmente pero para haces con incidencia oblicua. Los primeros en introducir esta técnica fueron Wang *et al.* en 1995 [13] quienes midieron solamente el coeficiente de esparcimiento reducido de un medio turbio a una longitud de onda con la técnica de video reflectometria. Posteriormente Lin *et al.* en 1997 [14] desarrollaron un prototipo a base de fibras ópticas (una fibra fuente con incidencia oblicua y nueve detectoras normales a la superficie del tejido) y propusieron usarlo en mediciones simultáneas del coeficiente de absorción y de esparcimiento reducido en un intervalo amplio de longitudes

de ondas. En ese mismo año Marquez *et al.* [15] diseñaron un nuevo sistema llamado reflectometría de incidencia oblicua con luz blanca para la medición espectral tanto del coeficiente de absorción como el de esparcimiento reducido en un medio turbio. Diseños similares a éstos han sido propuestos para mediciones *in vivo* de la imagen espectroscópica de la reflexión difusa de la piel para distinguir lesiones benignas de las cancerosas [16-18], para la estimación *in vivo* del espectro del coeficiente de absorción y de esparcimiento de la piel humana [19], entre otros.

La reflexión difusa radial para haces con incidencia oblicua puede ser calculada a partir del modelo de la fuente dipolar, donde la posición de la fuente isotrópica dentro del tejido se encuentra considerando que la distancia entre el punto de incidencia y ella es constante para todo ángulo de incidencia, y esta distancia tiene un valor igual a $1/\mu_t'$. Esta consideración resulta en un desplazamiento en la dirección X de esta fuente isotrópica respecto de la de un haz con incidencia normal como se muestra en la figura 2.2 b. A este modelo se le conoce como modelo modificado de la fuente dipolar, y la reflexión difusa *Rd(x)* se calcula a través de la siguiente expresión:

$$Rd(x) = \frac{a'S}{4\pi}\left[z_0 \cos\alpha_t \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_1}\right)\frac{e^{-\mu_{eff} r_1}}{r_1^{\,2}} + \left(z_0 \cos\alpha_t + 2z_b\right)\left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_2}\right)\frac{e^{-\mu_{eff} r_2}}{r_2^{\,2}} \right] \quad (2.24)$$

donde α_i *y* α_t son los ángulos de incidencia y de refracción, respectivamente, *S* es la cantidad de luz que entra al medio y es igual a *1-Rs*, siendo el valor de *Rs* la reflexión especular expresada como:

$$Rs = \frac{1}{2}\left[\frac{sen^2\left(\alpha_i - \alpha_t\right)}{sen^2\left(\alpha_i + \alpha_t\right)} + \frac{tag^2\left(\alpha_i - \alpha_t\right)}{tag^2\left(\alpha_i + \alpha_t\right)} \right] \quad (2.25)$$

Las distancias de las dos fuentes puntuales al punto de observación pueden ser calculadas a través de las siguientes expresiones:

$$r_1 = \left[\left(x - z_0 sen\alpha_t \right)^2 + y^2 + \left(z - z_0 cos\alpha_t \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$r_2 = \left[\left(x - z_0 sen\alpha_t \right)^2 + y^2 + \left(z + z_0 cos\alpha_t + 4AD \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \tag{2.26}$$

Evaluando en z=0, estas distancias se expresan como:

$$r_1 = \left[\left(x - z_0 sen\alpha_t \right)^2 + y^2 + z_0{}^2 cos^2\alpha_t \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$r_2 = \left[\left(x - z_0 sen\alpha_t \right)^2 + y^2 + \left(z_0 cos\alpha_t + 4AD \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \tag{2.27}$$

Teniendo en cuenta la ley de Snell, es fácil transformar las expresiones anteriores de modo que se puedan escribir en función del ángulo de incidencia, y expresar a la reflexión difusa para haces con incidencia oblicua (2.24) en función de este ángulo.

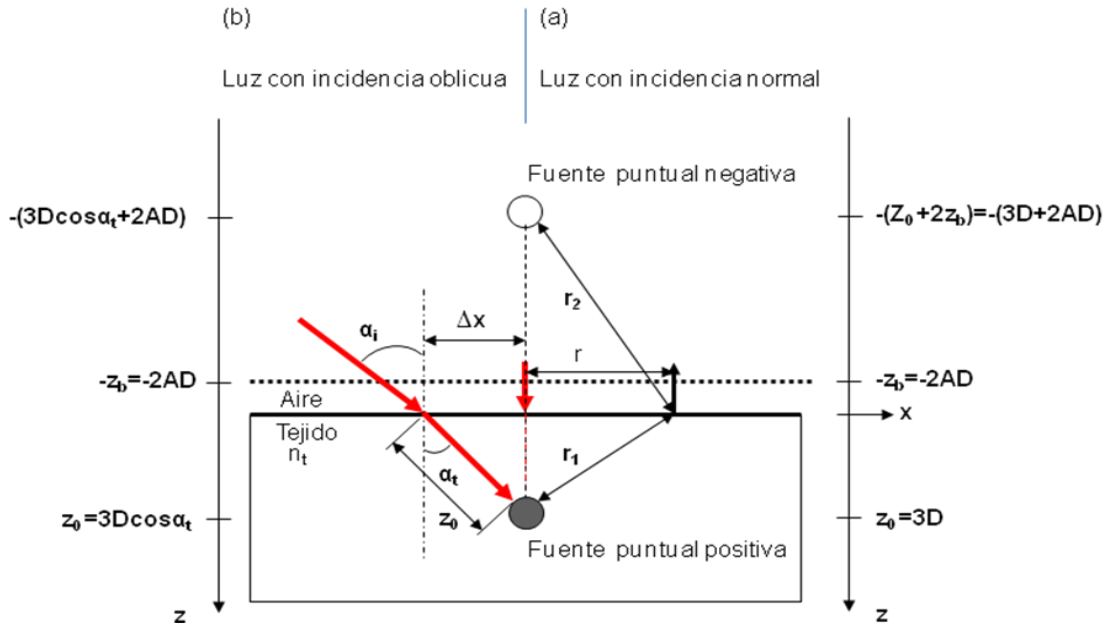

Figura 2.2 (a) Posición de la fuente puntual positiva y su imagen negativa en el modelo de la fuente dipolar para un haz de luz con incidencia normal al tejido, cuya escala se muestra a la derecha. (b) Posiciones de las fuentes puntuales para un haz de luz con incidencia oblicua, cuya escala se muestra a la izquierda. El eje Y se encuentra apuntando hacia fuera del plano de la hoja.

2.3 EL MÉTODO MONTE CARLO

El método Monte Carlo permite resolver de forma “exacta” la ecuación de transferencia radiativa y consiste en esencia en la simulación por métodos computacionales de las trayectorias de los fotones durante su interacción con los centros de absorción y esparcimiento del tejido.

El término genérico Método Monte Carlo es reservado para todos los métodos numéricos que utilizan muestreo de números aleatorios. Como herramienta de investigación se le considera a Stanislaw Ulam y a Nicholas Metrópolis como los inventores del método con el trabajo realizado en el desarrollo de la bomba atómica durante la segunda guerra mundial, en Los Álamos, en el llamado proyecto Manhattan. El método fue bautizado por ellos con el nombre de Monte Carlo por el carácter estadístico que tiene en común con los juegos de la ruleta que se realizaban en el Casino de Monte Carlo, y fue factible de aplicarlo con la invención de la computadora electrónica en la década del 40.

Fue implementado por primera vez un código Monte Carlo, para el estudio de la distribución de la luz en los tejidos biológicos, por Wilson y Adams en 1983 [20]. Posteriormente, Wang y Jacques desarrollaron dos códigos Monte Carlo para modelar el transporte de fotones en un tejido multi-estratificado [21, 22] los cuales se encuentran libres para el dominio público. Aunque hay una tendencia de adaptar este código para resolver un problema específico que se investiga, existen aquellos que prefieren desarrollar sus propios códigos y que son también del dominio público como el BioSpec por Krishnaswamy [23], Monte Carlo para determinar los PO con datos medidos usando esferas integradoras por X. H Hu *et al.* [24], entre otros. Sin embargo, otros investigadores han realizado sus propias simulaciones mediante códigos Monte Carlo que hasta donde conocemos, no han sido liberados al uso público. Por ejemplo Kienle *et al.* [25] en su modelo mejorado de la teoría de la difusión publicado en 1996, los resultados fueron comparados con un

código Monte Carlo elaborados por ellos.

Debemos destacar que los resultados que se derivan con la teoría de la difusión, la mayoría de los autores lo comparan con los resultados obtenidos con el método Monte Carlo convirtiéndose así en el método patrón o "estándar de oro" de las investigaciones en óptica biomédica.

En este trabajo de tesis haremos uso principalmente del código MCML (acrónimo proveniente de las siglas en inglés Monte Carlo Multi-Layered).

2.3.1 El código MCML (Monte Carlo Multi-Layered)

El programa ejecutable MCML.exe modela el transporte de un haz de fotones infinitamente estrecho que incide perpendicularmente sobre un tejido multi-estratificado [26]. Actualmente se ha extendido el uso del código MCML, de dominio público, para obtener la distribución estacionaria de la luz en los tejidos estratificados. Una de las magnitudes físicas de salida que simula, es la reflexión difusa resuelta radialmente, por lo que adoptamos este método para realizar las simulaciones numéricas en este trabajo de tesis.

Las simulaciones MCML utilizan la distribución de probabilidad de la longitud del paso de un fotón moviéndose entre los sitios de interacción con el tejido (centros de absorción y esparcimiento) y la distribución de probabilidad para el ángulo de deflexión en la trayectoria del fotón cuando ocurre un evento de esparcimiento. Por su naturaleza estadística requiere del cálculo de un gran número de fotones, que dependerá de la precisión y resolución espacial deseada, y como resultado el tiempo de cómputo se incrementará mientras mayor sea esta precisión y resolución. En las simulaciones se ignoran la fase y polarización de los fotones.

Una trayectoria típica de los fotones en un medio estratificado se muestra en la figura 2.3 [26]. Cada paso S entre las posiciones del fotón es variable y se calcula como:

$$S = -\frac{\ln rdn}{(\mu_a + \mu_s)} \tag{2.28}$$

donde *rdn* es un número aleatorio contenido en el intervalo (0,1].

Cuando el medio que se estudia es homogéneo donde μ_a y μ_s es constante, el peso del fotón es disminuido desde un valor inicial 1 según se mueve a través del tejido y es igual a a^n después de *n* pasos, donde *a* es el albedo del tejido $\mu_s/(\mu_a+\mu_s)$. Cuando el fotón choca con la superficie, dependiendo del ángulo de incidencia, una fracción del peso del fotón escapa como reflexión difusa y el peso restante se refleja internamente y continúa la propagación. Cuando el peso del fotón w es menor que el peso umbral de la simulación, se envía el fotón a la ruleta rusa, si w=0, la simulación para ese fotón termina, de lo contrario ese fotón no muere y continua el proceso de propagación.

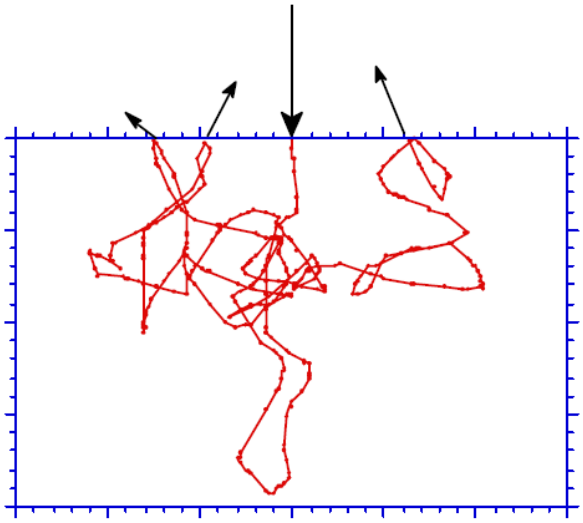

Figura 2.3 Trayectoria típica de un fotón a través de un medio homogéneo calculado por MCML. Cada paso *S* entre las posiciones del fotón es aleatorio (representado por puntos).Tomado del manual MCML&CONV elaborado por Wang y Jacques [26].

En la simulación cada capa se considera infinitamente ancha, de espesor y parámetros ópticos conocidos (índice de refracción *n*, coeficiente de absorción μ_a, coeficiente de esparcimiento μ_s, y factor de anisotropía *g*). Los índices de refracción del medio superior e inferior tienen que darse también.

Aunque el tejido real puede no ser infinitamente amplio, puede ser considerado así si es mucho mayor que la extensión espacial de los fotones. Para la simulación de un tejido estratificado, las capas son consideradas paralelas entre sí.

Tres sistemas de coordenadas son usados a la misma vez: un sistema de coordenadas cartesianas para rastrear el paquete de fotones, cuyo origen se encuentra en el punto de incidencia del fotón sobre la superficie del tejido. El eje z es normal a la superficie y apuntando hacia el interior del tejido y por tanto se coloca el plano xy sobre la superficie; un sistema de coordenadas cilíndricas para registrar la absorción de los fotones como función de la coordenada radial r y del eje z. La coordenada r también se usa para registrar la reflexión y transmisión difusa total. Ellas son registradas en Rd(r,α) y Tt(r,α) respectivamente, donde α es el ángulo entre la dirección de los fotones que salen y el eje normal. Ambos sistemas de coordenadas comparten el origen y el eje z; y por último un sistema de coordenadas esféricas móvil cuyo eje z se alinea dinámicamente con la dirección de propagación del fotón. Es usado para el muestreo del cambio de la dirección de propagación de un paquete de fotones. En este sistema de coordenadas primero se muestrean el ángulo de deflexión θ y el acimutal ψ debidos al esparcimiento, y luego la dirección del fotón se actualiza en términos de los cosenos directores del sistema de coordenadas cartesianas.

Para registrar la absorción del fotón, un sistema bidimensional y homogéneo de rejillas se coloca en la dirección r y z. La línea de separación entre ellas son: dz y dr, y el número total de elementos de la rejilla son Nz y Nr en la dirección z y r, respectivamente. En cambio, para registrar la reflexión y transmisión difusa se utiliza también un sistema bidimensional y homogéneo de rejillas pero colocado en las direcciones r y α. Este sistema de rejillas puede compartir la dirección r con el sistema anterior. Por lo tanto sólo se necesita configurar un sistema extra unidimensional de rejillas en la dirección α para el registro de estas magnitudes. Este ángulo siempre se

selecciona en el intervalo $0 \leq \alpha \leq \pi/2$, y el número total de elementos de esta rejilla es $N\alpha$, por lo que la separación $d\alpha$ entre las líneas de esta rejilla es igual a $(\pi/2)/N\alpha$.

Se recomienda el cuidado de seleccionar el tamaño de la rejilla en la dirección z de modo que las cuadrículas no crucen las interfaces o fronteras del tejido.

El programa MCML.exe se divide en cinco archivos:

1. mcmlmain.c: contiene la función main(), la cual representa el punto de inicio de la ejecución del programa. También aborda el tiempo y el estado de su ejecución.
2. mcml.h: es el archivo de encabezado, en el cual se definen la estructura de los datos y algunas constantes.
3. mcmlio.c: lee o escribe los datos desde el archivo de entrada o hacia el archivo de salida, respectivamente.
4. mcmlgo.c: hace la mayor parte de las simulaciones Monte Carlo.
5. mcmlnr.c: contiene diferentes funciones para la asignación de datos dinámicos y el reporte de errores.

Este programa brinda un archivo para escribir los datos de entrada del programa “template.mci”, cuyas magnitudes dimensionales son expresadas en cm, y entrega los resultados en un archivo de salida “sample.mco”.

2.4 MODELO ÓPTICO DE LA PIEL

A continuación se describe la estructura, rugosidad y principales elementos de importancia óptica de la piel.

2.4.1 Estructura de la piel

La piel es el órgano más extenso del cuerpo humano, tiene un área aproximada de 2 m^2 y su peso es del orden de 5 kg. Su espesor varía entre los 0.5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón) [27]. La función principal de la piel es actuar como barrera protectora del medio ambiente

impidiendo la entrada al cuerpo de las sustancias químicas dañinas, de las bacterias y virus, así como de la luz ultravioleta. También evita la pérdida de agua, y regula la temperatura del cuerpo, entre otros. Estas funciones de la piel varían de acuerdo a la edad, raza, género e individuo. Por ejemplo, una piel envejecida tiende a perder su flexibilidad y dureza; la piel negroide o mongoloide tienen una mayor capacidad de protección a la luz que la piel caucásica, debido a las diferencias en cuanto a la fracción de volumen de melanosomas presentes en los cuales se concentra la melanina, que absorbe una fracción de la radiación solar [28].

La piel tiene una estructura estratificada compuesta por dos capas principales: epidermis y dermis; y una tercera más profunda: la hipodermis conocida también como tejido subcutáneo. Un corte histológico de la piel mostrando esta estructura se observa en la figura 2.4.

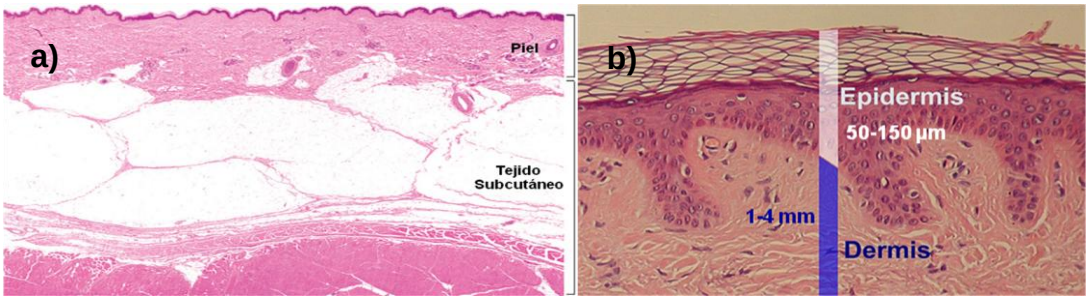

Figura 2.4 a) Corte histológico de la piel mostrando su estructura estratificada. b) Corte histológico de la epidermis, mostrando parte de la dermis. [Tomado y adaptado de la referencia 27].

La epidermis: es la capa más externa de la piel cuyo espesor varía entre 50 y 150 µm. Está formada por cinco subcapas (figura 2.5 [27]): córnea, lúcida, granulosa, espinosa y basal, que dependen de las características de los queratinocitos (células primordiales de la piel) y que son reemplazados por medio de la mitosis de las células basales. Su epitelio está en constante renovación y no posee vasos sanguíneos. Contiene a los melanocitos, que producen la melanina la cual se almacena en un orgánulo citoplasmático llamado melanosoma con dimensiones aproximadas de (100 x 0.7) nm.

La dermis: es el tejido de soporte de la epidermis y de los anexos cutáneos, su espesor varía desde 1 a 4 mm. En ella se localizan los vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios. En esta capa de la piel abundan las fibras de colágeno y elásticas que se disponen de forma paralela y que le dan a la piel la consistencia y elasticidad característica del órgano. Se presenta en fibrillas entrelazadas de 20 a 100 nm en todos los planos del espacio de un modo muy apretado, y se agrupan para formar fibras de colágenos mayores que son sintetizados fundamentalmente por las células fibroblastos [27].

La hipodermis: conocida también como tejido subcutáneo o aponeurosis superficial, está compuesta por tejido conjuntivo laxo, formada por una capa variable de tejido adiposo (célula grasa) limitado por tabiques de fibras colágenas delgadas y escasas fibras elásticas [27].

2.4.2 Rugosidad de la piel

La estructura de la capa más externa de la epidermis, el estrato córneo (figura 2.5), determina la rugosidad de la superficie de la piel [29]. Como se conoce, las células principales de la epidermis son los queratenocitos (95%), éstos migran poco a poco desde el estrato más profundo a la superficie en un proceso llamado descamación. El estrato córneo de aproximadamente 6 µm de espesor, está compuesto de 10 a 30 capas de corneocitos, los cuales son el paso final de la diferenciación de los queratenocitos [27, 29].

Una descripción a escala microscópica de la rugosidad de la superficie de la piel fue realizada por Jun Q. Lu *et al.* [29] a través de los corneocitos. Según estos autores los corneocitos tienen forma de discos planos con un espesor que varía desde 0.2 a 0.4 µm, no poseen núcleos y están compuestos mayormente por filamentos de queratina. Tienen diámetros laterales del orden de 30 µm en el plano de la superficie de la piel, con bordes superpuestos. Como éstos semejan un arreglo de columnas verticales apiladas en forma de discos planos, la fluctuación microscópica de la altura de la superficie de la piel deberá ser del orden del espesor de las

células. Ellos asumen entonces que la estructura de la piel a escala microscópica está determinada por la capa superior de los corneocitos, y por tanto la distancia pico-valle promedio es de 0.3 µm en una distancia lateral de 20 µm.

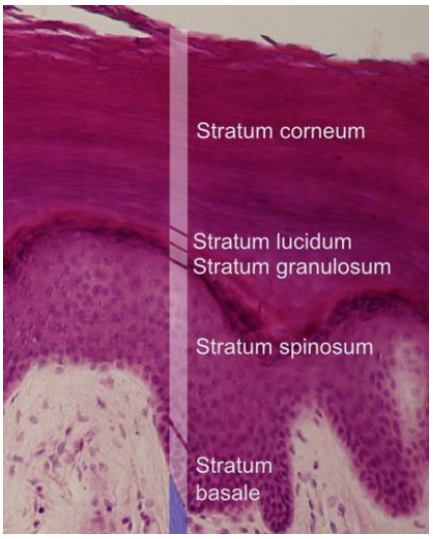

Figura 2.5 Corte histológico de la epidermis mostrando su estructura estratificada [27].

Las estructuras relativamente largas de la superficie de la piel como los patrones glíficos y las arrugas tienen dimensiones lineales desde 1 a unos pocos milímetros, las cuales varían considerablemente de acuerdo con la región de la piel, la edad o enfermedades de la piel. De hecho, las líneas glíficas tienden a desaparecer en el cuero cabelludo y la punta de la nariz [29]. En este sentido Igarashi *et al.* [28] asumen una meso escala para referirse a la piel y su aspecto, que puede verse a simple vista. Estos autores diferencian las arrugas o pliegues que se originan con el proceso de deformación de la piel, de las finas arrugas, conocidas también como patrones glíficos, que se observan en su superficie las cuales hacen la morfología de la piel rugosa, y por tanto contribuyen a la difusión de la luz incidente en la superficie. Éstas son surcos o líneas que se cruzan entre sí y forman distintas figuras como se aprecia en la figura 2.6 a, tales líneas

cambian según la región del cuerpo (figura 2.6 b) y tienden a ser un poco más amplias y profundas con la edad.

En la figura 2.7 se aprecia cómo en las edades comprendidas entre 0 a 30 años, los surcos o líneas de la cara frontal del antebrazo, se mantienen aproximadamente igual en profundidad (68 µm como promedio) y aumentan con los años, alcanzando una profundidad igual a 184 µm (entre 80 y 90 años) [28]. En cambio las arrugas o pliegues (figura 2.6 c) son generalmente el resultado de la distorsión de la epidermis causada por la pérdida de agua (arrugas superficiales) o bien por la distorsión de la dermis al perder elasticidad con la disminución de las fibras de colágeno y de elastina (arrugas profundas). La morfología de éstas también varía con la edad y regiones del cuerpo. Por ejemplo en la figura 2.8 [28] se muestra la relación entre la profundidad y ancho de las arrugas alrededor de los ojos, según la edad, observándose que cuando se envejece, las arrugas son más profundas y anchas.

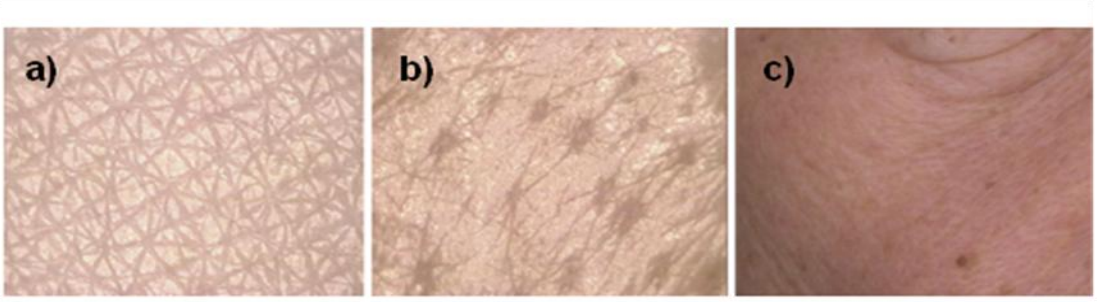

Figura 2.6 Arrugas finas o patrones glíficos a) en la mejilla y b) en el antebrazo, de la misma persona. c) Arrugas o pliegues de la piel, superficiales y profundas. Tomado de *Igarashi et al.* [28].

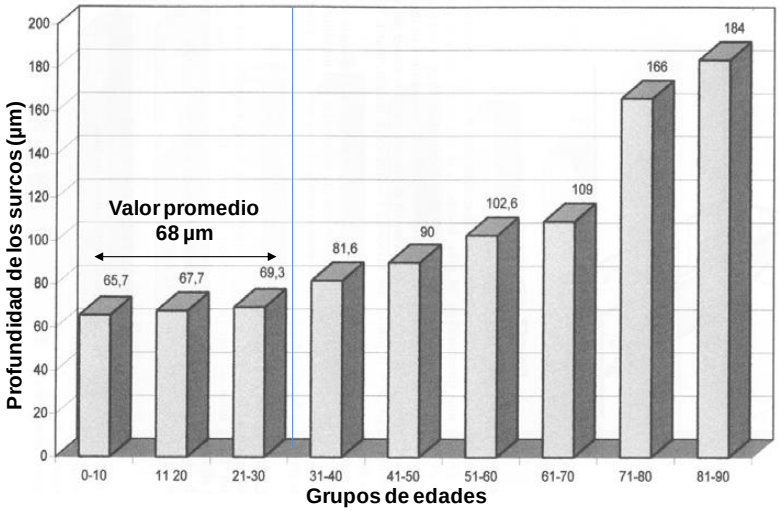

Figura 2.7 Cambios morfológicos en las arrugas finas en la cara frontal del antebrazo. Éstas son más profundas con la edad. Tomado y adaptado de *Igarashi et al.*[28].

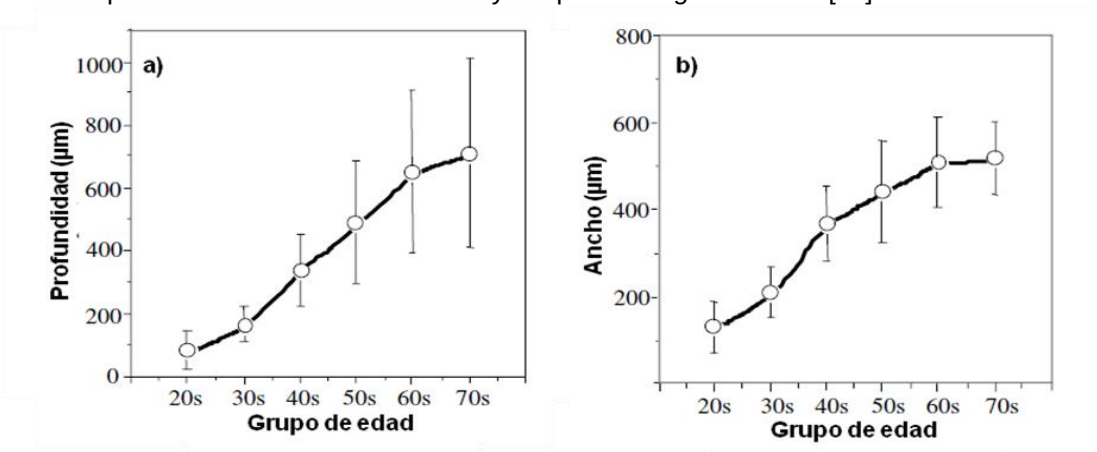

Figura 2.8 Cambios morfológicos en las arrugas o pliegues de la piel, en el borde de los ojos: a) profundidad y b) ancho, según la edad. Tomado y adaptado de *Igarashi et al.* [28].

2.4.3 Propiedades ópticas de la piel

El proceso de esparcimiento de la radiación óptica por los tejidos biológicos tiene su origen principalmente por las distintas dimensiones, composición e índice de refracción de los elementos celulares que conforman al tejido, distinguiéndolos por su alto grado de inhomogeneidad. En general, éstos son considerados medios turbios donde predomina el esparcimiento. Entre los elementos celulares se encuentran el núcleo, el citoplasma, la membrana celular, vacuolas, entre otros, inmersos en una matriz homogénea (materia básica) formada por los constituyentes del tejido intercelular y extracelular.

El tipo de esparcimiento que ocurre en el tejido por tanto se corresponde con las dimensiones propias de los elementos esparcidores, quedando explicado usando la teoría de Mie o de Rayleigh.

La melanina es el elemento absorbente principal en la epidermis y la sangre en la dermis (oxihemoglobina HbO_2 y hemoglobina reducida Hb) en la región del espectro electromagnético visible e infrarrojo cercano (figura 2.9 [7]).

Un punto de partida aproximado para describir la óptica de la piel de cualquier individuo adulto y sano en particular, es reportado y discutido por Jacques en el año 1998 [30] en donde presenta fórmulas analíticas para los coeficientes ópticos en función de la longitud de onda, específicamente brinda el coeficiente de absorción y esparcimiento reducido de la piel con parámetros variables como el contenido volumétrico de melanina y de sangre. No obstante, Jacques destaca en su artículo que los sitios individuales de la piel requieren una caracterización individual porque la piel de los adultos es bastante variable en cuanto a las propiedades de esparcimiento, el grado de melanina, y la cantidad y distribución de la perfusión de la sangre. En este trabajo se usan esas expresiones analíticas para calcular el coeficiente de esparcimiento reducido y el de absorción de la piel para la longitud de onda de 633 nm, presentando solamente los resultados.

Coeficiente de absorción en la epidermis y en la dermis

Es difícil distinguir los valores del coeficiente de absorción básico asociados a la epidermis en ausencia de melanina y a la dermis en ausencia de sangre, de modo que éste se considera semejante tanto para la epidermis como para la dermis. Para una piel ligeramente pigmentada con un 10% de fracción volumétrica de melanosomas deberá tener un coeficiente de absorción espectral mua.epi como se muestra en la figura 2.10 [30].

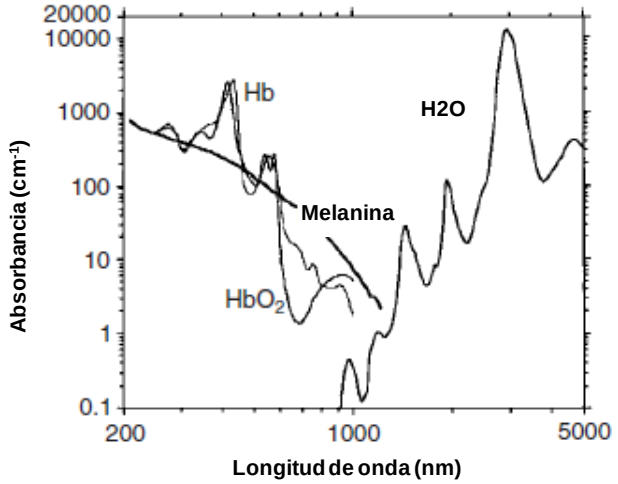

Figura 2.9 Espectro de absorción de los principales cromóforos de la piel. Tomado y adaptado de Vo-Dinh [7].

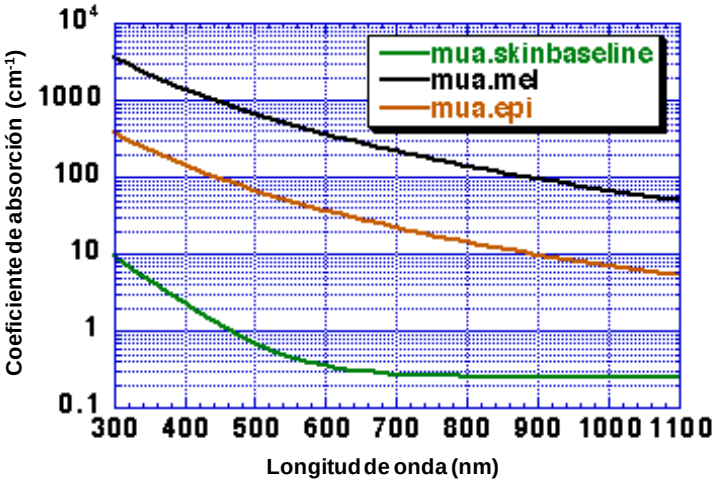

Figura 2.10 Coeficiente de absorción de la epidermis (mua.epi) donde: mua.skinbaseline es el coeficiente de absorción básico y mua.mel es el coeficiente de absorción de la melanina con una fracción volumétrica de melanosomas igual a un 10%. Tomado y adaptado de Jaques [30].

Realizando los cálculos correspondientes, el coeficiente de absorción total de la epidermis en λ=633 nm es aproximadamente igual a 31 cm^{-1}.

El espectro del coeficiente de absorción de la sangre (HbO2, Hb), conteniendo un 45% de hematocritos, fue calculado y reportado por Jacques en la referencia [30]. Utilizando esos datos se puede calcular el coeficiente de absorción de la dermis considerando una fracción volumétrica de sangre

igual a 0.2%, esto significa un contenido típico de sangre que se encuentra distribuida uniformemente en la dermis.

Determinando el coeficiente de absorción de la sangre en λ=633 nm y teniendo en cuenta una saturación del oxígeno igual a 90%, el coeficiente de absorción total de la dermis es aproximadamente igual a 0.40 cm^{-1}.

Coeficiente de esparcimiento en la epidermis y en la dermis

Al proceso de esparcimiento en la piel contribuyen principalmente las fibras cilíndricas de colágeno grandes y pequeñas, de modo que el esparcimiento en la dermis puede expresarse en términos de las contribuciones relativas del esparcimiento de Mie y de Rayleigh. Las expresiones para el coeficiente de esparcimiento reducido debido a estas fibras de colágeno, fueron obtenidas por Jacques [31] aplicando la teoría de Mie para cilindros y esferas de 100 nm de diámetros, respectivamente.

Los valores típicos del factor de anisotropía del medio *g* se encuentran en el rango de 0.7 a 0.95 para los tejidos biológicos [30], y con éstos se puede calcular el valor del coeficiente de esparcimiento reducido de la piel. La epidermis, con sus fibras de queratinas, tiene un comportamiento semejante al de la dermis, y μ_s' de la epidermis es tentativamente aproximadamente igual a μ_s' de la dermis. Los resultados para el coeficiente de esparcimiento reducido se muestran en la figura 2.11 [30].

El factor de anisotropía de la dermis, para la longitud de onda de 633 nm es aproximadamente igual a 0.8 [30]. Realizando los cálculos correspondientes el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' de la dermis (o epidermis) es aproximadamente igual a 25 cm^{-1}, y por consiguiente el coeficiente de esparcimiento μ_s es igual a 127 cm^{-1}.

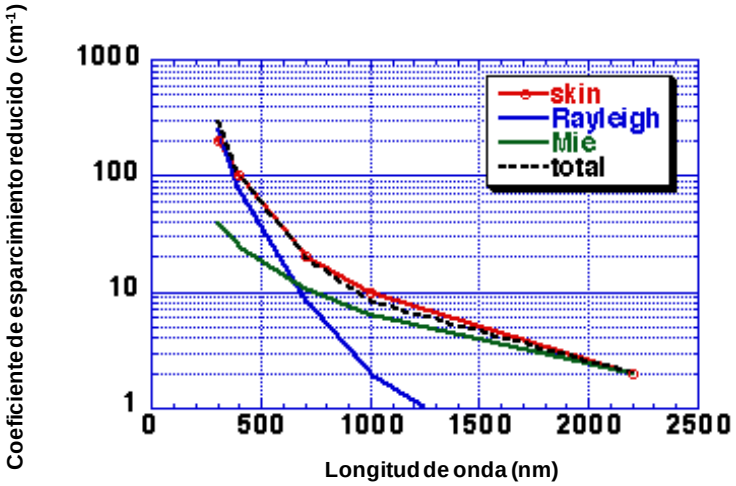

Figura 2.11 Coeficiente de esparcimiento reducido de la dermis donde: la curva roja son los datos del tejido; la verde son los datos de la teoría de Mie para los cilindros de colágeno; la azul son los datos del esparcimiento Rayleigh por las fibras de colágeno de estructuras más pequeñas; y la curva negra es la suma de Mie más Rayleigh, la cual coincide bastante con la curva del tejido. Tomado y adaptado de Jaques [30].

2.5 MODELOS DE TEJIDOS SINTÉTICOS

En este proyecto de tesis se utilizan tres tipos diferentes de tejidos sintéticos: a) phantoms líquidos a base agua destilada con distintas proporciones de intralípido-10%, específicamente el Lipofundin-10% (BRAUN), b) phantoms tipo gelatinosos a base de agar con distintas proporciones de Lipofundin-10%, y c) phantom sólido de teflón para calibrar la instalación experimental (capítulo 4). Los dos primeros fueron elaborados en principio con distintos objetivos que se irán mencionando en los capítulos correspondientes, y en última instancia con el fin de extraer los parámetros ópticos con la técnica de video reflectometría y el algoritmo propuesto en este trabajo de tesis.

A finales de la década del 80 se comenzaron a desarrollar modelos de tejidos sintéticos (*phantoms)* para imitar las propiedades ópticas y estructurales de los tejidos biológicos [32], reportándose un número importante de distintos tipos de phantoms, manteniéndose aún en progreso las investigaciones en este campo. Estos tejidos pueden prepararse a

voluntad con propiedades de absorción y de esparcimiento controladas, permitiendo simular la distribución de la luz en los tejidos biológicos.

Los tipos de tejidos sintéticos se pueden clasificar en sólidos, líquidos, y gelatinosos. Para el caso de los sólidos pueden ser polímeros, resinas de epoxy, silicona, goma, plástico, etc; para el caso de los líquidos la matriz puede ser agua o lípidos; y para los gelatinosos pueden ser gelatinas, geles de agar o colágeno, entre otros. Los centros de esparcimiento están conformados por lípidos o emulsiones de grasas, como el Intralipid, Nutralipid, Liposyn y la leche. También pueden emplearse como esparcidor microesferas de polímeros, polvo de TiO_2 o Al_2O_3, microesferas de cristales de cuarzo, etc. Como centros de absorción se emplean colorantes naturales (sangre) o sintéticos como la tinta china, azul de metileno, melanina, que pueden ser adquiridos comercialmente con relativa facilidad [32,33].

Un tipo de phantom comúnmente usado para reproducir las PO de la piel, consiste en el uso de una solución acuosa que contiene un medio graso esparcidor, como las emulsiones de intralípidos, y un colorante soluble en agua como la tinta china [34,35]. Esto se debe a que las micropartículas de los lípidos producen un esparcimiento similar al que producen las membranas bilípidas de las células y organelos. Una desventaja de este tipo de phantom es que sus propiedades no se mantienen estables por largo tiempo y en pocos días pueden variar apreciablemente. Por el contrario, un phantom gelatinoso a base de agar tiene más durabilidad, muy baja absorción y muy poca turbidez [36].

En los modelos de tejidos sintéticos líquidos que utilizan al agua como la matriz para disolver al intralípido simulando un coeficiente de esparcimiento específico, la absorción de éstos es debido principalmente al agua en las longitudes de onda correspondiente al espectro visible e infrarrojo cercano, y es suficientemente baja como para ser ignorada [33], por ejemplo para λ=633 nm, μ_a=0.00292 cm^{-1}, según la interpolación que fue realizada con los datos

suministrados en el sitio web [38] correspondiente al espectro de absorción del agua medido por Hale y Querry [39].

2.5.1 Parámetros ópticos para el intralípido-10%

En un estudio detallado realizado por van Staveren *et al.*[34], estos autores sugirieron una dependencia aproximada del espectro de esparcimiento (μ_s) y del factor de anistropía del medio (g) para una suspensión de Intralípido-10% (Kabivitrum, Stockholm), estimando la dimensión y distribución de las partículas esparcidoras con el uso de la microscopía electrónica y la teoría de Mie para calcular las propiedades ópticas.

Las siguientes expresiones aproximadas fueron las encontradas por estos autores:

$$\mu_s(\lambda) = 0.16\lambda^{-2.4}\ [\mathrm{mL^{-1}\ L\ cm^{-1}}] \qquad (\pm 6\%) \qquad (2.29\ a)$$

$$g(\lambda)=1.1-0.58\lambda \qquad (\pm 5\%) \qquad (2.29\ b)$$

para $0.4 < \lambda < 1.1$, donde la longitud de onda λ se expresa en micrómetros.

La unidad [$\mathrm{mL^{-1}\ L\ cm^{-1}}$] deberá ser interpretada como $\mathrm{cm^{-1}}$ por mililitro de Intralípido-10% por litro de la suspensión total diluida.

Por tanto la ecuación (2.29 a) nos permite conocer, de manera aproximada, cuál será el coeficiente de esparcimiento para una cierta concentración de Intralípido a una longitud de onda específica.

El Intralípido^{TM} (Kabivitrum, Stockholm), es usado clínicamente como un nutriente administrado al paciente por vía intravenosa, de tal manera que la elaboración de este producto es con fines médicos y por tanto no constituye un estándar óptico. Esto significa que las propiedades ópticas varían entre botellas suministradas por el mismo productor, y aún más entre productos de otras marcas registradas, muy similares en su composición. Por tal motivo es que se recomienda verificarlas experimentalmente, encontrándose diferentes valores reportados entre distintos grupos de investigadores [37], como se verá con más detalles en el capítulo 4 de esta tesis.

Estos productos contienen aceite de soya, fosfolípidos de yema de huevo y glicerina, siendo las partículas de grasa dispersadas en el agua aproximadamente esférica y las que contribuyen principalmente al esparcimiento. En particular, para el Intralípido usado por van Staveren *et al.*, el diámetro promedio de ellas fue de 97 nm, la densidad de partículas en la suspensión fue de $3.97X10^{19}$ m^{-3} y el coeficiente de absorción para la longitud de onda de 633 nm fue de $1.69X10^{-4}$ cm^{-1}.

2.5.2 Índice de refracción del tejido sintético

El índice de refracción promedio de un tejido biológico se define [40] como:

$$\bar{n}=f_s n_s+(1-f_s)n_0 \tag{2.30}$$

donde f_s es la fracción volumétrica del componente esparcidor, n_s su índice de refracción y n_0 el índice de refracción de la materia básica (1.35-1.37 [40]).

Por ejemplo, para un tejido sintético líquido conformado por H_2O más una concentración determinada de Intralípido-10%, el índice de refracción promedio del phantom (n_{ph}) podrá ser calculado como:

$$\bar{n}_{ph}=\left(\frac{V_{int}}{V_{ph}}\right)n_{\text{int}}+\left(1-\frac{V_{int}}{V_{ph}}\right)n_{H_2O} \tag{2.31}$$

donde V_{ph} y V_{int} es el volumen del phantom y del Intralípido, respectivamente, expresados en mL/L; n_{int} y n_{H2O} es el índice de refracción del Intralípido y del agua.

El índice de refracción del Intralípido, se calcula a través de la siguiente fórmula de dispersión [34]:

$$n(\lambda)=I+\frac{J}{\lambda^2}+\frac{K}{\lambda^4} \tag{2.32}$$

donde $I_{aceite\text{-}soya}=1.451, I_{agua}=1.311; J=1.154X10^4$, $K=-1.132X10^9$, y la longitud de onda, λ, expresada en nanómetros.

2.6 INSTALACIÓN EXPERIMENTAL DE VIDEO REFLECTOMETRÍA

En este epígrafe se aborda una descripción resumida de la instalación experimental desarrollada con vista a facilitar su análisis teórico (capítulo 3) y los estudios experimentales (capítulos 4 y 5) realizados en esta tesis doctoral.

Arreglo experimental implementado

La instalación experimental de video reflectometría, implementada en nuestro laboratorio, se muestra en la figura 2.12; con ella se obtiene el registro de la distribución radial de la luz *Rd(r)* en un tejido sintético, como se describe a continuación:

El haz de luz horizontal de un láser de He-Ne (λ=632.8 nm, P_0= 35 mW, ϕ=1 mm) es desviado de su trayectoria por un espejo colocado a 45º por encima de la superficie de la muestra para garantizar una incidencia normal sobre la misma. Como sistema de detección se utilizó una cámara CCD (Sony, XC-ST70) colocada a 17.5 cm por encima de la superficie del tejido y ligeramente inclinada (aproximadamente 20º respecto al eje vertical) para evitar la captura de la luz especular, reflejada por el tejido. La cámara, con un arreglo de 640 X 480 pixeles cada uno de dimensión de 11 µm de ancho por 13 µm de alto, tiene un rango dinámico limitado de 0-255 niveles de gris (poco más de dos órdenes de magnitud de la intensidad) por lo que necesita ser extendido a un rango dinámico mayor (aproximadamente 5 órdenes) para garantizar la medición de los niveles de la luz reflejada difusamente en toda la zona radial de interés. Esta dificultad fue resuelta utilizando 5 filtros neutrales (Edmund Optics) de diferentes densidades ópticas (DO= 0.5, 1, 2, 3 y 4), colocados en un porta filtro rotatorio a la salida del láser. El lente usado en la cámara CCD para la captura de las imágenes fue uno tipo zoom (Electrophysics, con f-número en el rango de 1.4 a 16 y distancia focal de 25.0 mm) ajustando su diafragma en el número f igual a 5.6.

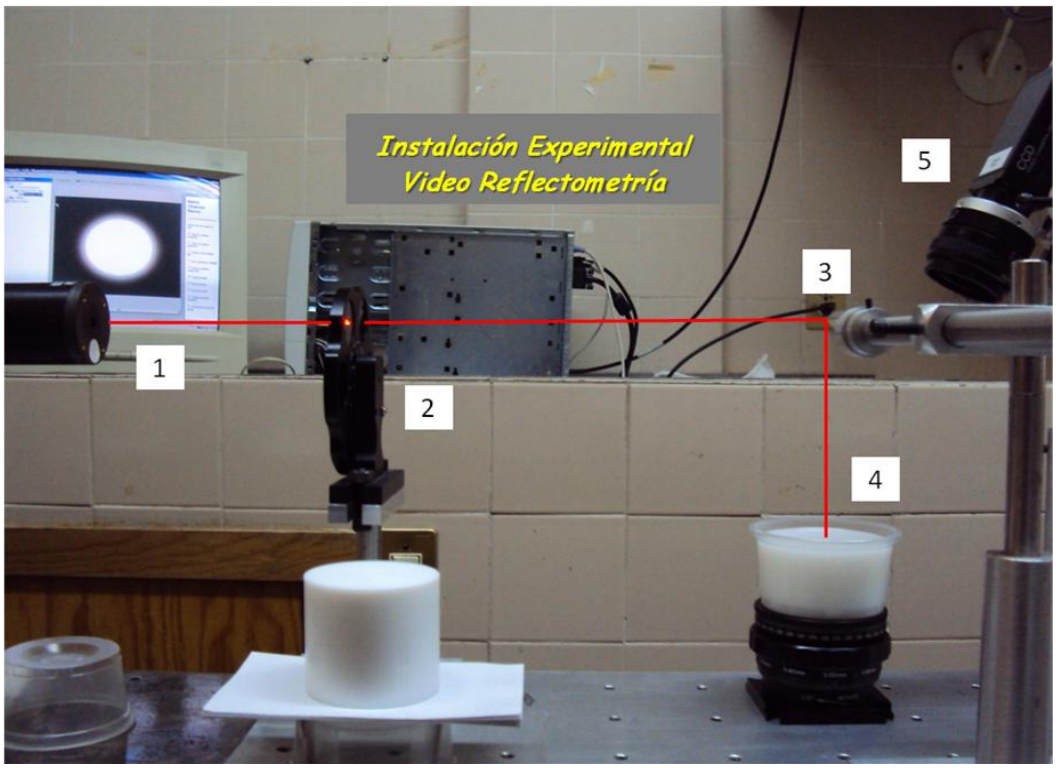

Figura 2.12 Fotografía de la instalación experimental de video reflectometría: 1) láser de He-Ne (λ=632.8nm, P0=35mW), 2) porta filtro rotatorio conteniendo 5 filtros neutrales, 3) espejo delgado, 4) phantom líquido, y 5) cámara CCD para la toma de las imágenes luminosas por cada filtro.

Se tomaron 6 imágenes en total: una por cada filtro neutral, y otra sin filtro (DO=0). Estas imágenes fueron cargadas mediante un código que desarrollamos con el programa MATLAB®R2006a v*ideoreflectometria.m*, leímos y procesamos los datos, guardando los resultados conteniendo la distribución radial *Rd(pixel),* en un fichero de datos que entrega el propio programa.

La curva de reflexión construida con el programa *videoreflectometria.m*, se obtiene en función de los pixeles de la CCD por lo que es necesario pasar de estas unidades a las de centímetros correspondiente a la distancia radial r medida desde el punto de incidencia del láser hasta el punto de detección (espacio objeto). Este cambio de escala se realizó tomando una moneda de un peso y medimos su diámetro con un pié de rey digital (Vernier), luego la colocamos sobre una superficie oscura a la misma altura con que se

registran las imágenes con los phantoms, y se capturó la imagen de la moneda con la cámara CCD. Posteriormente con la ayuda del programa Corel PHOTO-PAINT 11, cargamos esa imagen y medimos su diámetro en pixeles, determinándose adecuadamente la equivalencia de 1 pixel en cm. Cada vez que fue necesario mover los elementos que conforman al arreglo experimental se determinó este factor de conversión de pixeles a centímetros.

2.7 CONCLUSIONES

Se presentó el marco teórico en el cual es válido el modelo dipolar propuesto por Farrell *et al.* [10] mismo que brinda una solución analítica para la reflexión difusa resuelta radialmente Rd(r) cuando el medio es homogéneo y semi- infinito. Además se analizó el modelo modificado de la fuente dipolar para derivar la reflexión difusa resuelta espacialmente para haces con incidencia oblicua. Por otra parte, se abordó el método Monte Carlo como una solución numérica exacta de la ETR, en especial, el programa ejecutable MCML.exe donde una de las magnitudes físicas de salida que simula, es la reflexión difusa resuelta radialmente.

Las dos formulaciones anteriores, analítica la primera y estocástica la segunda, son las herramientas teóricas aplicables a este trabajo de tesis para abordar las investigaciones teóricas y experimentales realizadas con una instalación experimental de video reflectometría, como la descrita en este capítulo.

Las propiedades ópticas de la piel (incluidas su rugosidad) y del intralípido-10% fueron presentadas de forma detallada usando expresiones analíticas reportadas en la literatura disponible para estimar μ_a, μ_s y g para la longitud de onda de 632.8 nm.

REFERENCIAS

[1] A. Ishimaru, *Wave propagation and Scattering in Random Media* (Academic Press, 1978).

[2] A. Ishimaru, "Transport theory of wave propagation in random particles", in *Wave propagation and Scattering in Random Media,* eds (Academic Press, 1978), pp147-160.

[3] A. Ishimaru, "Scattering and Absorption of a wave bay a single particle", in *Wave propagation and Scattering in Random Media,* eds (Academic Press, 1978), pp 9-12.

[4] A. Ishimaru, "Diffusion approximation", in *Wave propagation and Scattering in Random Media,* eds (Academic Press, 1978), pp 175-190.

[5] A. Ishimaru, "Two and four flux theory", in *Wave propagation and Scattering in Random Media,* eds (Academic Press, 1978), pp 191-201.

[6] S.A. Prahl, "Light Transport in Tissue", (1988), http://www.bme.ogi.edu/~prahl/pubs/abs/prahl88.html.

[7] Tuan Vo-Dinh, *"Biomedical Photonics Handbook"* (CRC Press, 2003).

[8] L. G. Henyey and J. L. Greenstein, "Diffuse radiation in the Galaxy", J. Astrophys, 93, 70-83 (1941).

[9] A. Ishimaru, "Characteristics of Discrete Scatterers in the Atmosphere, Ocean, and Biological Material", in *Wave propagation and Scattering in Random Media,* eds (Academic Press, 1978), pp 41-68.

[10] T. J. Farrell, M. S. Patterson, B. Wilson, "A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties *in vivo*", Med. Phys. 19, 879-888 (1992).

[11] M. Keijer, W. M. Star, P. R. Storchi, "Optical diffusion in layered media", App. Opt. 27, 1820-1824 (1988).

[12] R. A. J. Groenhuis, H. A. Ferwerda, J. J. Ten Bosch, "Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements. 1:Theory", App. Opt. 22, 2456-2462 (1983).

[13] L. Wang and S. L. Jacques, "Use of a laser beam with an oblique angle of incidence to measure the reduced scattering coefficient of a turbid medium," Appl. Opt. 34, 2362- 2366 (1995).

[14] S. P. Lin, L. Wang, S. L. Jacques, and F. K. Tittel, "Measurement of tissue optical properties by the use of oblique-incidence optical fiber reflectometry," Appl. Opt. 36, 136-143 (1997).

[15] G. Marquez and L. Wang, "White light oblique incidence reflectometer formeasuring absorption and reduced scatteringspectra of tissue-like turbid media," Opt. Express 1, 454-460 (1997).

[16] M. Mehrübeoğlu, N. Kehtarnavaz, G. Marquez, M. Duvic, and L. V. Wang, “Skin lesion classification using oblique-incidence diffuse reflectance spectroscopic imaging”, Appl. Opt. 41, 182-192 (2002).

[17] A. Garcia-Uribe, N. Kehtarnavaz, G. Marquez, V. Prieto, M. Duvic, and L. V. Wang, “Skin cancer detection by spectroscopic oblique-incidence reflectometry: classification and physiological origins”, Appl. Opt. 43, 2643-2650, (2004).

[18] E. Brooks Smith, “Skin Cancer Detection by Oblique-Incidence Diffuse Reflectance Spectroscopy”, A Thesis for the degree of Master of Science in Texas A&M University, (2006).

[19] A. Garcia-Uribe, K. C. Balareddy, Jun Zou, and L. V. Wang, “Micromachined Fiber Optical Sensor for *In Vivo* Measurement of Optical Properties of Human Skin”, IEEE Sensors Journal 8, 1698-1703 (2008).

[20] B.C, Wilson y G. Adam. “A Monte Carlo Model for the Absorption and Flux distributions of Light in Tissues.” Medical Physics. Vol.10, No 6, 824-830 (1983).

[21] Wang.L, Jacques.S.L, Zheng L, “MCML-Monte Carlo Modeling of Light Transport in Multi-layered Tissues”. Computers Methods and Programs in Biomedicine 47 131-146 (1995).

[22] Wang.L, Jacques.S.L, Zheng L, “CONV-Convolution for Responses to a Finite Diameter Photon Beam Incident on Multi-layered tissues”. Computers

Methods and Programs in Biomedicine 54, 141-150 (1997).

[23] A. Krishnaswamy “BioSpec: A Biophysically-Based Spectral Model of Light Interaction with Human Skin”. Tesis doctoral, (2005).

[24] Hu, X.H., Chen, C., Lu, J.Q., "OPDISM - Optical Parameters Determined by Integrating Sphere Measurement", (Biomedical Laser Laboratory, Department of Physics, East Carolina University, Greenville, NC); http://bmlaser.physics.ecu.edu/software/software.htm.

[25] Alwin Kienle and Michael S. Patterson, “Improved solutions of the steady-state and them time-resolved diffusion equations for reflectance from a semi-infinite turbid médium”, J. Opt. Soc. Am. 14, 246-254 (1997).

[26] Lihong Wang and Steven L. Jacques, MCML&CONV Manual, “Monte Carlo Modeling of Light Transport in Multi-layered Tissues in Standard C”. Laser Biology Research Laboratory, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center. Reprinted with corrections January, 1993 & November, 1995.

[27] http://en.wikipedia.org/wiki/Epidermis_(skin).

[28] T. Igarashi, K. Nishino, and S. K. Nayar, “The Appearance of Human Skin”, Technical Report: CUCS-024-05, Department of Computer Science Columbia, University New York, (1-85) June 2005.

[29] Jun Q. Lu, Xin-Hua Hu, and Ke Dong, “Modeling of the rough-interface effect on a converging light beam propagating in a skin tissue phantom”, Applied Optics 39, 5890-5897 (2000).

[30] S.L.Jacques, “SkinOptics”, (1998), http://omlc.ogi.edu/news/jan98/skinoptics.html

[31] S.L. Jacques, "Origins of Tissue Optical Properties in the UVA, Visible, and NIR Regions," OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration, Vol. 2, 364-369, eds. R.R Alfano, J.G Fujimoto, in Optical Society of America, (1996).

[32] Valery V. Tuchin, “Tissue Phantoms”, in *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics,* eds (SPIE Press, 2002), pp 311-351.

[33] Brian W. Pogue and Michael S. Patterson. “Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry”, Journal of Biomedical Optics 11, 1-16 (2006).

[34] Hugo J. van Staveren, Christian J. M. Moes, Jan van Marle, Scott A. Prahl, and Martin J. C. van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm", Appl. Opt. 30, 4507-4514 (1991).

[35] Steen J. Madsen, Michael S. Patterson and Brian C. Wilson. “The use of India ink as an optical absorber in tissue-simulating phantoms”, Phys. Med. Biology 37, 985-993 (1992).

[36] Rinaldo Cubeddu, Antonio Pifferi, Paola Taroni, Alessandro Torricelli and Gianluca Valentini, “A solid tissue phantom for photon migration studies”, Phys. Med. Biology 42, 1971-1979 (1997).

[37] S. L. Jacques, “Optical properties of "Intralipid™", an aqueous suspension of lipid droplets", (1998), http://omlc.ogi.edu/spectra/intralipid/

[38] S. A. Prahl, Oregon Medical Laser Center Website, http://omic.ogi.edu

[39] G. M. Hale and M. R. Querry, “Optical constants of water in the 200-nm to 200-μm wavelength region,” Appl. Opt. 12, 555–563, (1973).

[40] Valery Tuchin, “Introduction to Light Scattering by Biological Objects”, in *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics,* eds (SPIE Press, 2002), pp 31-167.

Capítulo 3

Simulación de las Curvas de Reflexión Difusa Resueltas Radialmente

En este capítulo primeramente se discute el criterio de validez del modelo analítico de la fuente dipolar de Farrell *et al.* [1] para el conjunto de propiedades ópticas usadas en esta tesis doctoral, y que hacen que estos medios sean altamente difusos. Seguidamente se presenta una propuesta propia de un algoritmo para encontrar la distancia radial ideal, a partir de la cual realizar la extracción adecuada de las propiedades ópticas del medio. Se analizan estos resultados teóricos mediante la comparación con las simulaciones realizadas con el código MCML [2] de las curvas de reflexión difusa resuelta radialmente. También se describen las modificaciones realizadas a este código original para considerar la incidencia normal de un haz Gaussiano, situación no comprendida en el mismo. Se muestran las simulaciones (con este código modificado de MCML) de las curvas de reflexión difusa para un haz Gaussiano semejante a la fuente de luz usada en nuestra instalación experimental de video reflectometría y la extracción de los parámetros ópticos con el algoritmo propuesto. Se presentan la comparación de estos resultados con los obtenidos para un haz infinitamente fino. Finalmente, se describen las simulaciones teóricas realizadas, de las curvas de reflexión difusa, con el modelo modificado de la fuente dipolar para

una incidencia oblicua del haz con ángulos próximos a la normal con el objetivo de brindar un criterio para el ajuste de los datos experimentales cuando pequeños errores pudieran estar presentes al establecer una supuesta incidencia normal del haz de luz sobre el tejido.

3.1 ALGORITMO PROPUESTO PARA LA EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTICOS

Una de las condiciones de validez de la aproximación de la difusión es en aquellas regiones alejadas de la frontera y de la fuente. Farrell *et al.* [1] reportaron que en esta aproximación, la luz reflejada difusamente deberá ser registrada a partir de una distancia radial mayor que un mfp' (recorrido libre medio de transporte), demostrando que para estas distancias es acertado el modelo teórico de la interacción luz-tejido, en la aproximación de la difusión. Sin embargo, para las propiedades ópticas usadas en los tejidos sintéticos propuestos en esta tesis, existe una discrepancia en relación a esta distancia radial de un mfp'.

Lo anterior motivó la propuesta del siguiente algoritmo para realizar el ajuste correcto de los datos sintéticos al modelo analítico de Farrell:

1. Encontrar la distancia r_0 a partir de la cual realizar el proceso de extracción de las propiedades ópticas de una muestra dada.

1.1 Estudio comparativo de Rd(r) usando el modelo analítico de Farrell *et al.* [1] y el código MCML [2].

1.2 Escoger r_0 como la distancia radial para la cual es mínimo el error relativo de $Rd(r)_{Farrell}$ respecto a $Rd(r)_{MCML.}$

2. Extraer las propiedades ópticas de datos sintéticos generados con el código MCML.

2.1 Realizar un ajuste no lineal de los datos sintéticos al modelo de Farrell en el intervalo [r_0, 2cm].

En este epígrafe se muestran los resultados teóricos obtenidos al aplicar el algoritmo anterior, para determinar las propiedades ópticas con la técnica de video reflectometría.

3.1.1 Haz infinitamente fino

A continuación se describen las simulaciones realizadas con MCML.exe [2]

de un paquete de fotones, infinitamente estrecho, con incidencia normal sobre un tejido homogéneo e infinito compuesto por una sola capa, con el objetivo de simular la reflexión difusa resuelta radialmente *Rd(r)*. A las curvas de reflexión difusa generadas con este programa, las nombramos curvas sintéticas para referirnos a que éstas representan a los datos experimentales simulados.

Las simulaciones realizadas con el programa MCML.exe caracterizan a cuatro tejidos sintéticos usados durante este trabajo de tesis con el objetivo de determinar sus propiedades ópticas. Estos fueron cuatro phantoms líquidos a base de agua destilada conteniendo volúmenes diferentes de intralípido (Lipofundin-10%, BRAUN): 15, 20, 25 y 30 ml en un volumen total de 112 ml. Las propiedades ópticas de estos tejidos sintéticos (*phantoms*) fueron determinadas en una primera aproximación a través de la formulación de van Staveren *et al.* (epígrafe 2.5.1 [3]) en λ= 632.8 nm, las cuales se muestran en la tabla 3.1. Supusimos además que el índice de refracción *n* de estos phantoms es igual a 1.4 (en una primera aproximación) y que el coeficiente de absorción de ellos está determinado básicamente por el coeficiente de absorción del agua μ_a en esta longitud de onda (epígrafe 2.5.2) cuyo valor es igual a 0.0029 cm^{-1}.

TABLA 3.1 Parámetros ópticos de los phantoms calculados en λ=633 nm y para un volumen total de 112 ml conteniendo 15, 20, 25 o 30 ml de Lipofundin-10% (Vint), según la formulación de van Staveren *et al.* [3]. El factor de anisotropía *g* calculado con esta formulación es igual a 0.7329 para todas las muestras.

Vint (ml)	μ_s (cm^{-1})	μ_s' (cm^{-1})	μ_t' (cm^{-1})	μ_{eff} (cm^{-1})	mfp' (cm)
15	64.21	17.15	17.15	0.39	0.058
20	85.62	22.87	22.87	0.45	0.044
25	107.02	28.59	28.59	0.50	0.035
30	128.43	34.31	34.31	0.55	0.029

Cabe destacar que fue realizado un estudio preliminar semejante al que se presenta, con el objetivo de evaluar teóricamente una primera propuesta de un algoritmo de extracción de las propiedades ópticas pero generando a las

curvas sintéticas con el modelo dipolar en la aproximación de la difusión y simulando a los errores aleatorios medidos con nuestra instalación experimental [4].

Como se explicó en el epígrafe 2.3.1, el programa MCML.exe brinda un archivo “template.mci” para escribir los datos de entrada correspondiente a la capa o tejido óptico que se va a simular tales como: índice de refracción *n*, coeficiente de absorción μ_a, coeficiente de esparcimiento μ_s, y el factor de anisotropía *g*, así como los índices de refracción del medio superior e inferior, que cuando se trata de un medio inmerso en el aire, ambos índices son iguales a uno. Un ejemplo de un archivo de entrada con los parámetros ópticos usados en nuestras simulaciones se muestra en la figura 3.1. Como se observa en ese archivo, es necesario especificar el número de fotones utilizados en la simulación ($5X10^6$) así como el sistema de rejillas, definidas a través de los parámetros *dz* y *dr*, y el número total de éstas *Nz* y *Nr*, en la dirección Z y r, respectivamente. Para el sistema de rejillas en la dirección α, en el caso que no se necesite resolver una dirección preferencial, se escribe el parámetro *da* igual a 1. Se debe definir en este archivo, el nombre del archivo de salida con extensión .mco, donde aparecerán todos los resultados de las magnitudes físicas simuladas.

```
####
# Template of input files for Monte Carlo simulation (mcml).
# Anything in a line after "#" is ignored as comments.
# Space lines are also ignored.
# Lengths are in cm, mua and mus are in 1/cm.
####

1.0                                                     # file version
1                                                       # number of runs

### Specify data for run 1
infinito64.mco          A                               # output filename, ASCII/Binary
5000000                                                 # No. of photons
20E-4       80E-4                                       # dz, dr
10          250         1                               # No. of dz, dr & da.

1                                                       # No. of layers
# n         mua         mus         g           d       # One line for each layer
1.0                                                     # n for medium above.
1.4         0.0029      64.21       0.7329      1.0E+8  # layer 1
1.0                                                     # n for medium below.
```

Figura 3.1 Archivo típico de entrada de los datos para las simulaciones realizadas con MCML.exe.

En la figura 3.2 se representa esquemáticamente el sistema de rejillas usado en las simulaciones con el código MCML. Como se puede apreciar, el número de elementos *Nr* dependerá de la resolución espacial con que se quiere resolver la simulación para *Rd(r)*. En estas simulaciones usamos los valores para *dr*=80X10^{-4} cm y *Nr*= 250 de forma tal que el producto *drNr* sea igual a 2 cm. Para la resolución en el eje Z es suficiente un valor de *dz*=20X10^{-4} cm, con *Nz*=10 debido a que no nos interesa simular una magnitud como la razón de fluencia (que es en el interior del tejido). En el caso que se necesite simular el tejido con un espesor finito se deberá calcular el número *Nz* como el cociente entre el espesor de la capa *d* y el elemento diferencial *dz*.

Los resultados de las simulaciones de la reflexión difusa *Rd(r)* con MCML.exe para los cuatro tejidos sintéticos se presentan en la figura 3.3 (a-d). En ésta se muestra además las curvas de reflexión simuladas con el modelo analítico de Farrell, pero teniendo en cuenta el valor de la constante A (ecuación 2.20) igual a 2.9448 [5] para un índice de refracción relativo igual a 1.4. Como se puede ver, existen diferencias significativas entre ambos modelos próximos o cercanos a la fuente.

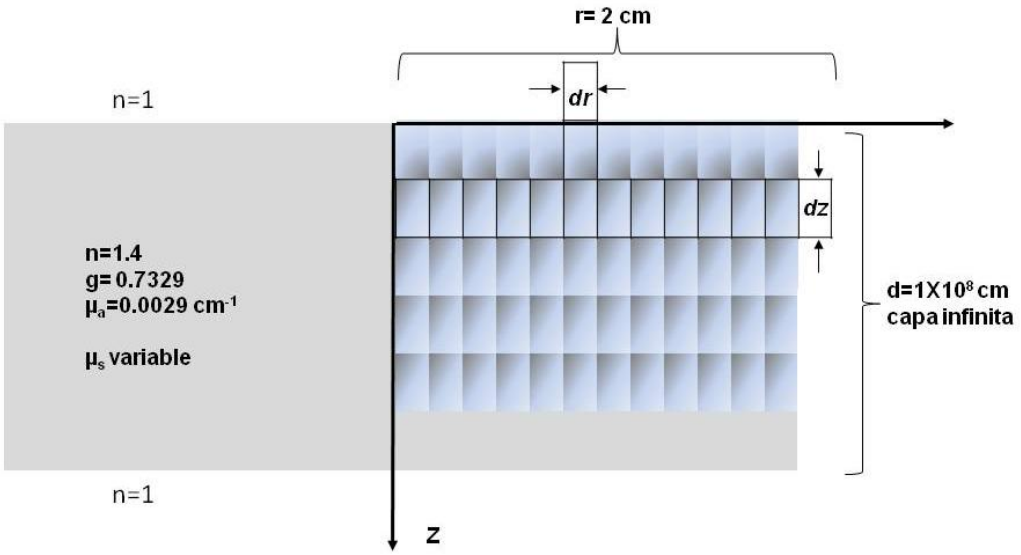

Figura 3.2 Representación esquemática del sistema bidimensional y homogéneo de rejillas colocadas en la dirección r y z en un tejido homogéneo e infinito, intrínsecamente usado por MCML.exe para la simulación de la reflexión difusa resuelta radialmente.

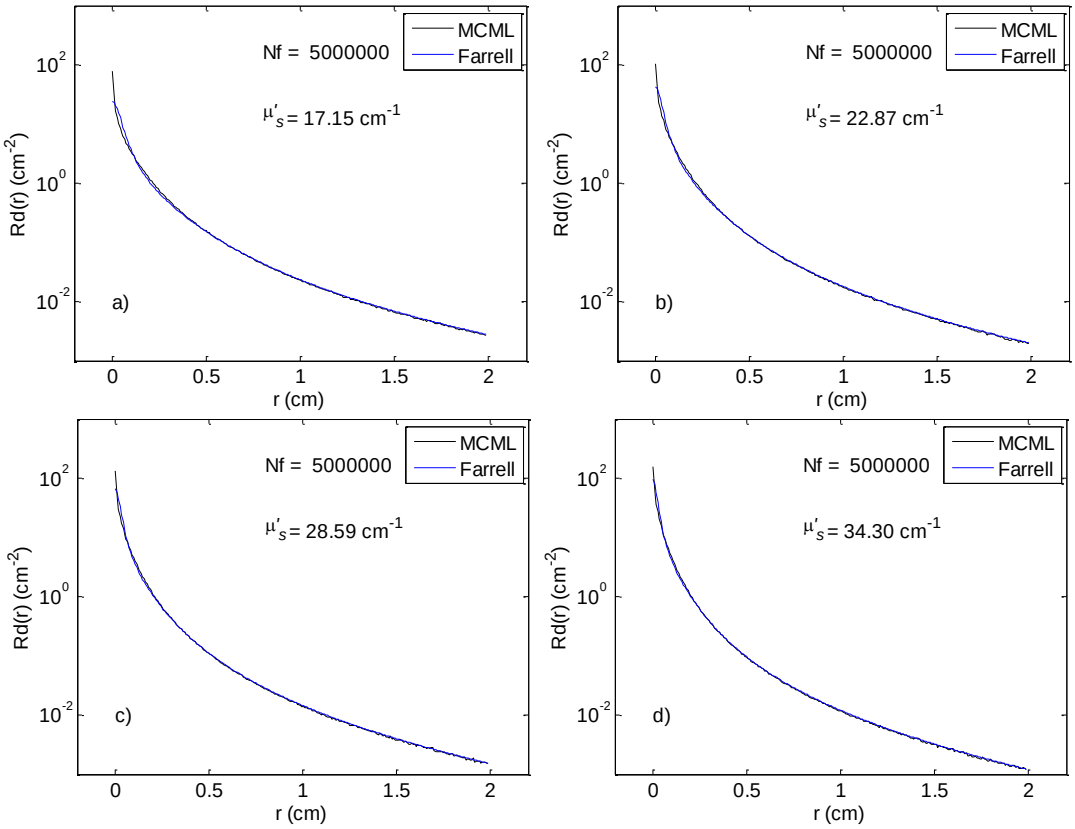

Figura 3.3 Comparación entre las curvas de reflexión difusa *Rd(r)* simuladas con MCML y con el modelo analítico de Farrell, para diferentes coeficientes de esparcimiento reducido: a) 17.15 cm^{-1}, b) 22.87 cm^{-1}, c) 28.59 cm^{-1} y d) 34.31 cm^{-1}. El símbolo *Nf* dentro de la figura se refiere al número de fotones usados para la simulación con MCML.

Si se calcula el error relativo de las curvas de reflexión generadas con el modelo analítico respecto de las curvas sintéticas generadas con MCML, se puede encontrar el valor de la distancia radial r_0 a partir del cual el error es próximo a cero como se aprecia gráficamente en la figura 3.4 (a-d). Puede observarse además que el valor r_0 disminuye según aumenta el coeficiente de esparcimiento reducido. Como se observa, esto ocurre al menos para los medios altamente difusos, donde el cociente entre el coeficiente de esparcimiento reducido y el coeficiente de absorción (μ_s'/μ_a) es mucho mayor que 5000. En cambio, el valor máximo ocurre próximo a la distancia radial igual a 1 mfp' tal como era de esperar, pero aún se encuentran valores muy altos, desde un 10% hasta un 50%, a una distancia radial mayor a 1mfp' en

todas las muestras. Por lo que podemos concluir que para estas propiedades ópticas ambos modelos discrepan más allá de la distancia radial correspondiente a 1mfp' y no como predice la aproximación de la difusión según Farrell *et al.*[1].

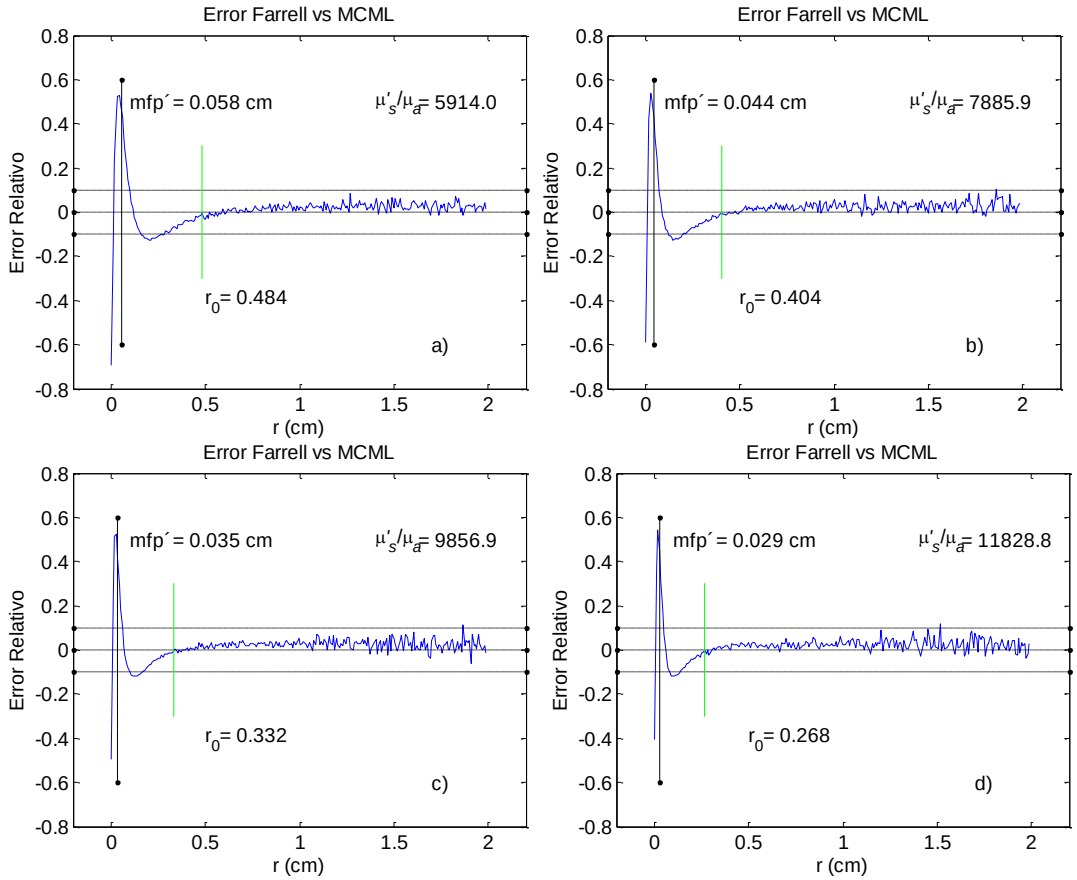

Figura 3.4 Error relativo del modelo analítico de Farrell con respecto a las curvas generadas con MCML, donde r_0 es la posición radial cuando el error relativo es próximo a cero, y mfp' es el camino libre medio de transporte de las muestras, donde existe un error próximo al máximo. a) μ_s'=17.15 cm^{-1}, b) μ_s'=22.87 cm^{-1}, c) μ_s'=28.59 cm^{-1} y d) μ_s'=34.31 cm^{-1}.

En la figura 3.5 a, se muestran todas las curvas generadas con MCML, apreciándose el llamado "punto pivote" donde todas tienen aproximadamente el mismo valor de reflexión difusa a una distancia radial ≈ 0.164 cm. Se observa además que todas las curvas varían aproximadamente en 5 órdenes de magnitud (10^2-10^{-3}) en todo el intervalo radial. Un resultado interesante para estas muestras altamente difusas, es que el cociente entre el r_0 hallado y el mfp' es aproximadamente constante e igual a 9, y por tanto esto permite

estimar el valor de $r_0 \approx 9$ mfp'. Además como se mencionó en párrafos anteriores, r_0 tiende a ser linealmente decreciente con el cociente μ_s'/μ_a, tal como se muestra en la figura 3.5 b.

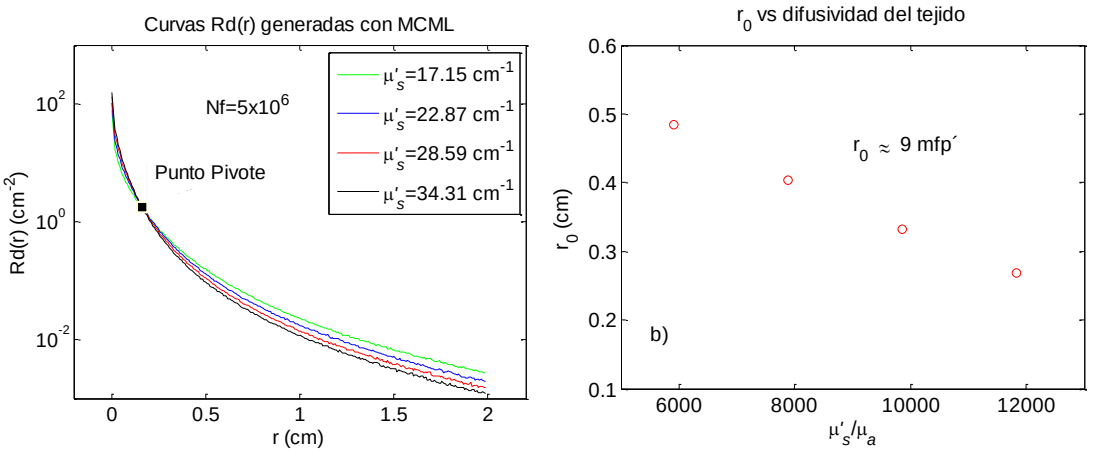

Figura 3.5 a) Curvas de reflexión difusa *Rd(r)* generadas con MCML para cuatro valores diferentes del coeficiente de esparcimiento reducido, y usando para la simulación $5X10^6$ fotones. b) Comportamiento de r_0 (posición radial óptima propuesta para realizar los ajustes) con la difusividad del tejido.

Como ya hemos mencionado, para extraer los parámetros ópticos de las muestras de estudio se deberá realizar un ajuste no lineal del modelo analítico con las curvas sintéticas, en el intervalo radial desde el valor r_0 hasta 2 cm. Para poder realizar tal ajuste, es necesario escribir la expresión analítica *Rd(r)* (ecuación 2.22) explícitamente en función de la distancia radial *r* y de los parámetros ópticos μ_t' y μ_{eff}, resultando tener la expresión 3.1.

Luego, se procede a realizar el ajuste a través de la ventana de ajuste de curvas no lineales implementado en MATLAB®R2006a (Curve Fitting Tool), utilizando el algoritmo Trust Region [6], entregando como resultado los parámetros ópticos μ_t' y μ_{eff}. Como finalmente lo que se pretende es determinar los coeficientes de absorción y de esparcimiento reducido, éstos se pueden calcular a partir de las expresiones 2.16 y 2.18, respectivamente, quedando expresados igualmente por las ecuaciones 3.2 y 3.3.

$$Rd(r) = \frac{1}{4\pi}\left[\frac{1}{\mu_t'}\left(\mu_{eff} + \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{(\mu_t')^2} + r^2}}\right)\frac{e^{-\mu_{eff}\sqrt{\frac{1}{(\mu_t')^2}+r^2}}}{\frac{1}{(\mu_t')^2} + r^2} + \left(\frac{1}{\mu_t'} + \frac{4}{3}\frac{2.9448}{\mu_t'}\right)\left(\mu_{eff} + \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{1}{\mu_t'} + \frac{4}{3}\frac{2.9448}{\mu_t'}\right)^2 + r^2}}\right)\frac{e^{-\mu_{eff}\sqrt{\left(\frac{1}{\mu_t'}+\frac{4}{3}\frac{2.9448}{\mu_t'}\right)^2+r^2}}}{\left(\frac{1}{\mu_t'} + \frac{4}{3}\frac{2.9448}{\mu_t'}\right)^2 + r^2}\right] \quad (3.1)$$

$$\mu_a = \frac{\mu^2_{eff}}{3\mu'_t} \quad (3.2)$$

$$\mu'_s = \mu'_t - \mu_a \quad (3.3)$$

Debemos resaltar que para el conjunto de propiedades ópticas que hemos usado en las simulaciones, el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' es igual al coeficiente de interacción total μ_t', como se observa en la tabla 3.1. Esto se debe a que el valor del coeficiente de absorción, digamos "verdadero", es muy pequeño (0.0029 cm^{-1}) comparado con ese coeficiente tal como se deduce de la ecuación 3.3, por lo que de aquí en lo adelante se trata indistintamente a ambos coeficientes como el mismo.

Finalmente, los resultados de la extracción de las propiedades ópticas siguiendo el algoritmo descrito se muestran en la tabla 3.2. Como se puede apreciar en esta tabla, fueron obtenidos resultados satisfactorios con este algoritmo porque los errores relativos en la extracción del coeficiente de esparcimiento reducido fueron menores que un 2%, en todos los casos. En cambio para el coeficiente de absorción los errores relativos se encuentran desde un 7% hasta un 17%.

TABLA 3.2 Parámetros ópticos extraídos con el modelo analítico de Farrell desde la distancia radial r_0 hasta 2 cm. Se muestran los errores de extracción respecto de las propiedades ópticas usadas para la generación de las curvas con MCML (parámetros ópticos verdaderos).

Parámetros Ópticos Verdaderos (cm^{-1})		Parámetros Ópticos Extraídos (cm^{-1})			Error de Extracción (%)		
μ_t'	μ_{eff}	μ_t'	μ_{eff}	μ_a	$E(\mu_t')$	$E(\mu_{eff})$	$E(\mu_a)$
17.15	0.39	17.25	0.4264	0.0035	0.58	9.33	16.67
22.87	0.45	23.21	0.4694	0.0032	1.49	4.31	6.67
28.59	0.50	28.95	0.5399	0.0034	1.26	7.98	13.33
34.31	0.55	34.63	0.5886	0.0033	0.93	7.02	10.00

3.2 ANÁLISIS TEÓRICO DE LA INFLUENCIA DE LAS DIMENSIONES DEL HAZ INCIDENTE Y DE SU INCLINACIÓN EN LAS CURVAS Rd(r)

Como ya hemos explicado en los Capítulos anteriores, la técnica de video reflectometría utiliza el modelo analítico de la fuente dipolar, el cual predice la reflexión difusa resuelta radialmente a partir del punto de incidencia de un haz infinitamente fino y normal a la superficie del tejido. Esta técnica implementada en nuestro laboratorio (epígrafe 2.6) utiliza como fuente de luz un láser de He-Ne, cuyo perfil es finito y Gaussiano, y no infinitamente fino como explica la teoría de la difusión para la aplicación de su modelo. Además se debe garantizar que la incidencia de la luz sobre el tejido sea normal o perpendicular a su superficie.

Con el objetivo de evaluar teóricamente la influencia del diámetro finito del haz en la obtención de las curvas de reflexión difusa y las implicaciones en la obtención de las propiedades ópticas, se realizaron simulaciones de *Rd(r)* con una versión modificada del programa MCML.exe.

También se describe la evaluación teórica de la influencia de la inclinación del haz respecto a la normal del tejido en las curvas de reflexión y en la extracción de los parámetros ópticos. En este caso se empleó la teoría del modelo modificado de la fuente dipolar (epígrafe 2.2.2).

3.2.1 Influencia de las dimensiones del haz: Haz gaussiano

La fuente de luz usada en nuestra instalación experimental fue un láser de He-Ne (JDSU, 1144P) con un diámetro del haz de 0.7 mm, según el fabricante. Un láser típico de He-Ne operando en el modo TEM_{00} tiene un perfil Gaussiano y el radio del haz (diámetro/2) se define como la distancia medida desde el centro donde la irradiancia ha disminuido a $1/e^2$ o 13.5% de su valor máximo [7] como se observa en la figura 3.6 a y b [8]. En esta misma figura (c), se muestra el radio del haz gaussiano *w(z)* en función de la distancia z, donde w_0 es la cintura del haz, *b* es la profundidad de campo, Z_R el intervalo de Rayleigh, y Θ es la divergencia angular total. Estas dependencias se expresan a través de las ecuaciones 3.4 y 3.5, respectivamente.

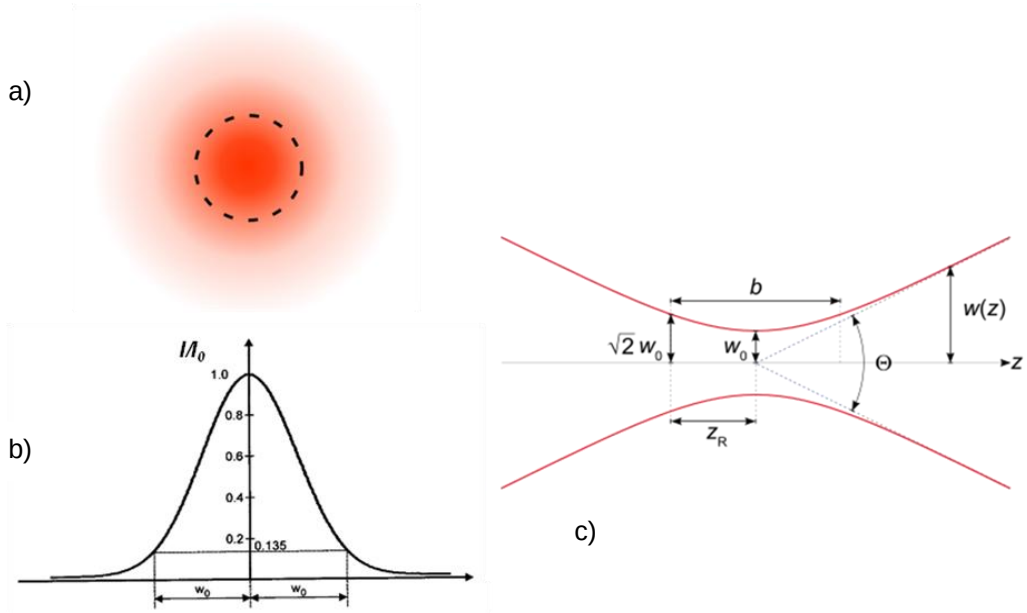

Figura 3.6 a) Diagrama esquemático del punto luminoso de un láser de He-Ne (λ=632.8 nm) operando en el modo TEM_{00} cuyo perfil es Gaussiano. b) Perfil de irradiancia del láser en función del radio c) Radio del haz Gaussiano *w(z)* en función de la distancia de propagación *z* donde: w_0 es la cintura del haz, *b* es la profundidad de campo, Z_R el intervalo de Rayleigh, y *Θ* es la divergencia angular total. Figuras tomadas de la referencia [8].

$$I(r) = \frac{2}{\pi w_0} e^{-2\frac{r^2}{w_0^2}} \tag{3.4}$$

$$w(z) = w_o \sqrt{1 + \left(\frac{z}{z_R}\right)^2} \; ; z_R = \pi \frac{w_o^{\,2}}{\lambda} \tag{3.5}$$

Calculando el diámetro del láser mediante la ecuación (3.5) en el punto de incidencia sobre la muestra, encontramos que es igual a 1.06 mm (para z≈69 cm). En la figura 3.7 se muestran las distancias que recorre el haz de luz a través de los elementos que conforman a la instalación experimental (porta filtros y espejo colocado a 45°).

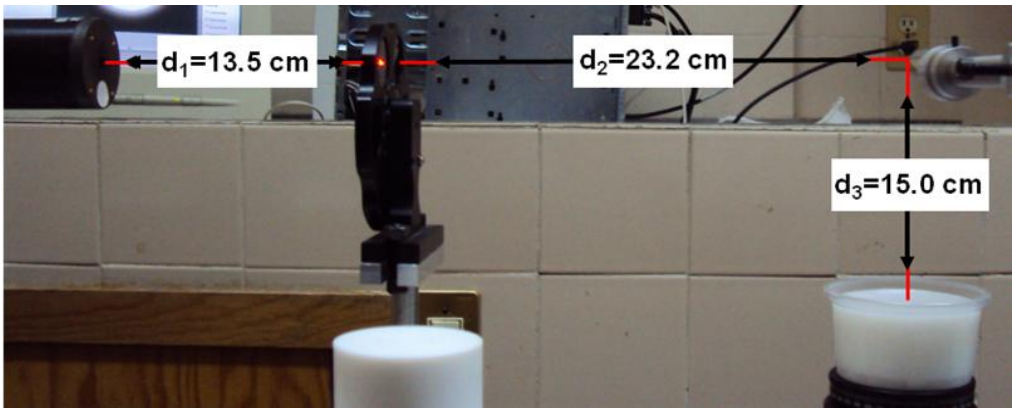

Figura 3.7 Distancia que recorre el haz de luz proveniente del láser de He-Ne, pasando a través del porta filtros giratorio y del espejo colocado a 45° para la incidencia normal a la superficie de la muestra.

Las curvas de reflexión difusa fueron entonces simuladas para un haz Gaussiano con diámetro ϕ=1 mm modificando el código original MCML.exe para describir tal situación no comprendida en el mismo. En los párrafos que siguen se explica brevemente las modificaciones realizadas.

Para el lanzamiento de fotones simulando un haz Gaussiano es necesario tener en cuenta la adecuada función de densidad de probabilidad (*pdf*), la función cumulativa (*fc)* y la magnitud física de la simulación, que en este caso es la posición *r* de la ecuación 3.4. Teniendo en cuenta la condición de normalización entonces $pdf=I(r)2\pi r$, e igualando la función cumulativa a un número aleatorio *rdn* se obtiene la siguiente expresión:

$$fc = \int_0^r pdfdr = 1 - e^{-2\frac{r^2}{w^2}} = rnd \tag{3.6}$$

Despejando luego de la ecuación 3.6 la posición *r* por donde se lanzarán los fotones, ésta quedará expresada como sigue:

$$r = w\sqrt{-\frac{\ln(rdn)}{2}} \tag{3.7}$$

Se propuso entonces realizar los cambios en los archivos: mcmlgo.c y mcml.h de la siguiente manera: dentro del archivo mcmlgo.c donde se define el lanzamiento de fotones en X, Y, Z específicamente en la parte: *Initialize a photon packet* fue suficiente realizar el cambio en X=0 por X≠0 e igual a la expresión 3.7, dejando Y=0 y Z=0 debido a la simetría cilíndrica de este problema; y dentro del archivo mcml.h donde se definen las variables, se añadió una línea para definir la variable del radio *w* del haz Gaussiano (en este caso w=0.05 cm). Aunque esta solución no es la forma computacional más elegante (lo ideal hubiera sido introducir el valor del radio del haz Gaussiano desde el archivo de entrada de los datos) se corroboró su buen funcionamiento con el programa Conv [2,9], el cual permite realizar la convolución de un haz infinitamente fino con un haz Gaussiano de radio *w*, demostrándose que ambas curvas coinciden en todo el rango radial.

Una vez que se demostró el correcto funcionamiento del código con las modificaciones propuestas, al que nombramos MCML-Gaussiano.exe, realizamos las simulaciones de *Rd(r)* para las muestras de estudio explicadas en el epígrafe 3.1, y con los mismos datos de entrada del archivo.mci mostrado en la figura 3.1. Los resultados de *Rd(r)* para los cuatro tejidos sintéticos, se presentan en la figura 3.8 (a-d). En ésta se muestran además las curvas de reflexión simuladas con MCML.exe para el haz infinitamente fino (como se aprecia las diferencias entre ambas curvas son notables sólo próximas a la fuente). Dentro de esta figura se muestra el error

relativo corroborándose que en todos los casos es aproximadamente cero, salvo en esa región, por lo que es de esperar que no existan diferencias significativas en la extracción de las propiedades ópticas cuando se trata de un haz Gaussiano con diámetro igual a 1mm.

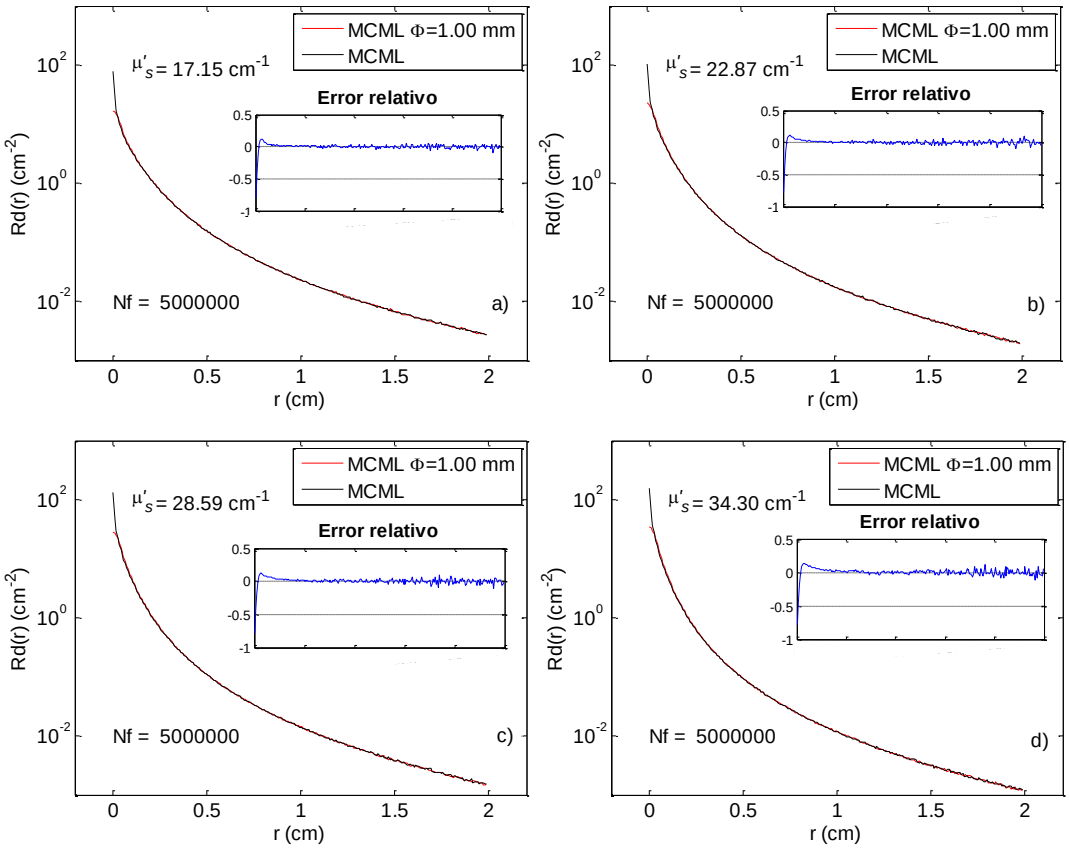

Figura 3.8 Comparación entre las curvas de reflexión difusa Rd(r) simuladas con MCML-Gaussiano.exe (diámetro ϕ=1 mm) y con MCML.exe (haz infinitamente fino) para diferentes coeficientes de esparcimiento reducido: a) 17.15 cm^{-1}, b) 22.87 cm^{-1}, c) 28.59 cm^{-1} y d) 34.31 cm^{-1}.

Para extraer las propiedades ópticas aplicamos el algoritmo propuesto en el epígrafe 3.1 que permite realizar el procedimiento de ajuste óptimo a partir de la distancia radial ideal (r_1). Para encontrar este valor, se calculó el error relativo de las curvas de reflexión generadas con el modelo analítico de Farrell respecto de las curvas sintéticas generadas con MCML-Gaussiano.exe, encontrándose el valor r_1 para cada una de ellas, los cuales se observan en la figura 3.9 (a-d); en esta figura graficamos además el error

relativo respecto de las curvas sintéticas generadas con MCML, observando que el valor de r_0 es ligeramente más pequeño que r_1 en todos los casos. En cuanto al valor máximo, se aprecia que también ocurre a la distancia radial próxima a 1 mfp' pero crece en magnitud según aumenta el coeficiente de esparcimiento.

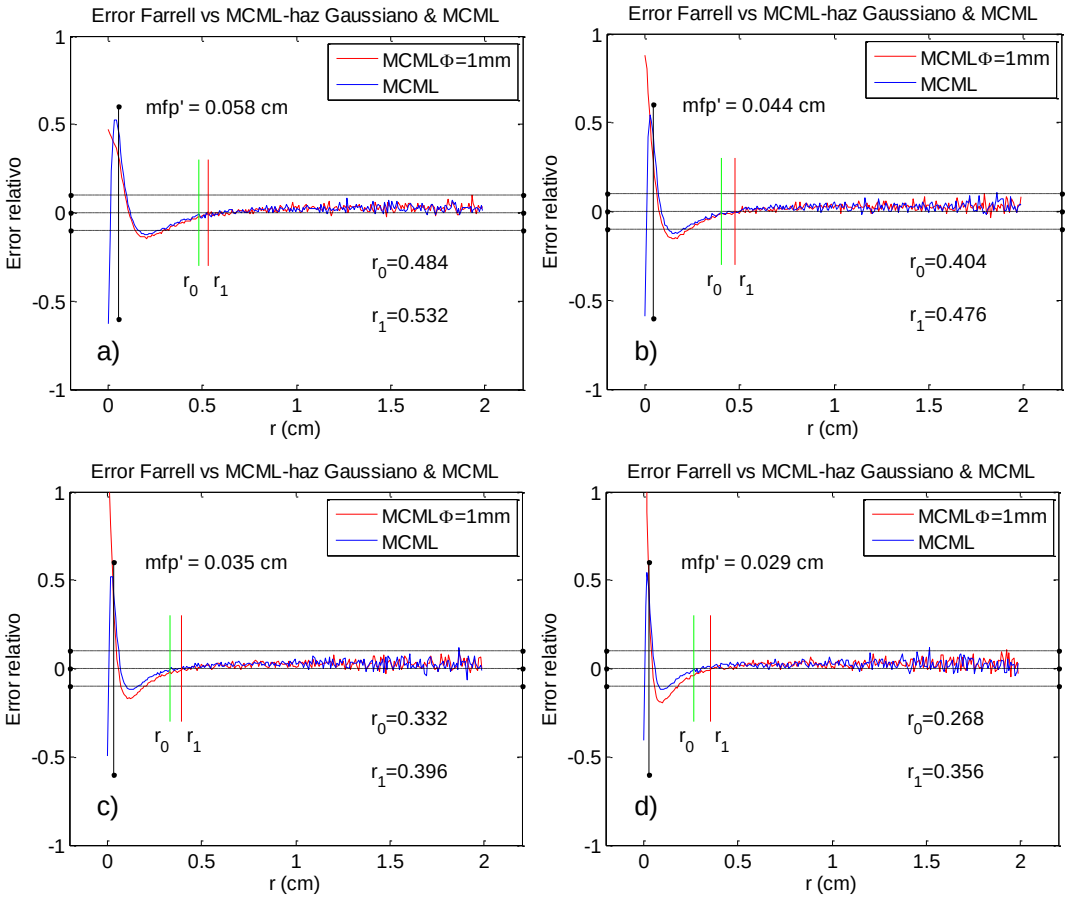

Figura 3.9. Error relativo del modelo analítico de Farrell con respecto a las curvas generadas con MCML-Gaussiano.exe (diámetro ϕ=1 mm) y respecto a las generadas con MCML.exe. Los valores r_1 y r_0 son las distancias radiales cuando el error relativo es próximo a cero, respectivamente. El error máximo se encuentra próximo al mfp' en todas las muestras. a) μ_s'=17.15 cm^{-1}, b) μ_s'=22.87 cm^{-1}, c) μ_s'=28.59 cm^{-1} y d) μ_s'=34.31 cm^{-1}.

Los parámetros ópticos de las muestras de estudio fueron extraídos realizando el ajuste no lineal del modelo analítico con las curvas sintéticas generadas con MCML-Gaussiano.exe, en el intervalo radial desde el valor r_1 hasta 2 cm, usando el mismo procedimiento descrito en el epígrafe anterior. Éstos se muestran en la tabla 3.3, como se puede observar los errores

relativos en la extracción del coeficiente de esparcimiento reducido fueron menores que un 1% y comparables con los obtenidos con MCML para el haz infinitamente fino (menores que un 2%) tal como se avizoró al realizar la comparación entre ambas curvas (ver figura 3.8). Sin embargo los errores relativos en la extracción del coeficiente de absorción continúan siendo comparablemente mayores y se encuentran desde un 10% hasta un 20%, siendo aproximadamente igual a los obtenidos para el haz infinitamente fino.

TABLA 3.3 Parámetros ópticos extraídos con el modelo analítico de Farrell desde la distancia radial r_1 hasta 2 cm. Se muestran los errores de extracción respecto de las propiedades ópticas usadas para la generación de las curvas con MCML modificado para el haz Gaussiano de diámetro igual a 1 mm (parámetros ópticos verdaderos).

Parámetros Ópticos Verdaderos (cm^{-1})		Parámetros Ópticos Extraídos (cm^{-1})			Error de Extracción (%)		
μ_t'	μ_{eff}	μ_t'	μ_{eff}	μ_a	$E(\mu_t')$	$E(\mu_{eff})$	$E(\mu_a)$
17.15	0.39	17.24	0.4322	0.0036	0.52	10.82	20.00
22.87	0.45	23.03	0.4920	0.0035	0.70	9.33	16.67
28.59	0.50	28.67	0.5537	0.0036	0.28	10.74	20.00
34.31	0.55	34.59	0.5887	0.0033	0.82	7.04	10.00

3.2.2 Influencia de la inclinación del haz

En el epígrafe 2.2.2 se realizó una breve descripción del modelo modificado de la fuente dipolar, donde vimos que la diferencia fundamental entre la luz con incidencia oblicua y normal al tejido consiste en el desplazamiento de las posiciones de las fuentes isotrópicas en la dirección X (figura 2.2 b) y que la reflexión difusa *Rd(x)* se puede calcular a través de la expresión 2.24. Realizando las simulaciones de la curva *Rd(x)* para cinco ángulos de incidencia α cercanos a la normal (α=0°), específicamente para los valores: 1°, 2°, 3°, 4° y 5°; y para las cuatro propiedades ópticas (PO) de los tejidos sintéticos de la tabla 3.1, se procedió a aplicar el algoritmo propuesto en el epígrafe 3.1 para la extracción de los parámetros ópticos. En la figura 3.10 a y b se muestran las curvas simuladas para los casos extremos (α=1° y α=5°) del ángulo de inclinación y las curvas correspondientes al modelo analítico de la fuente dipolar de Farrell, donde no se aprecian a simple vista diferencias significativas entre ellas.

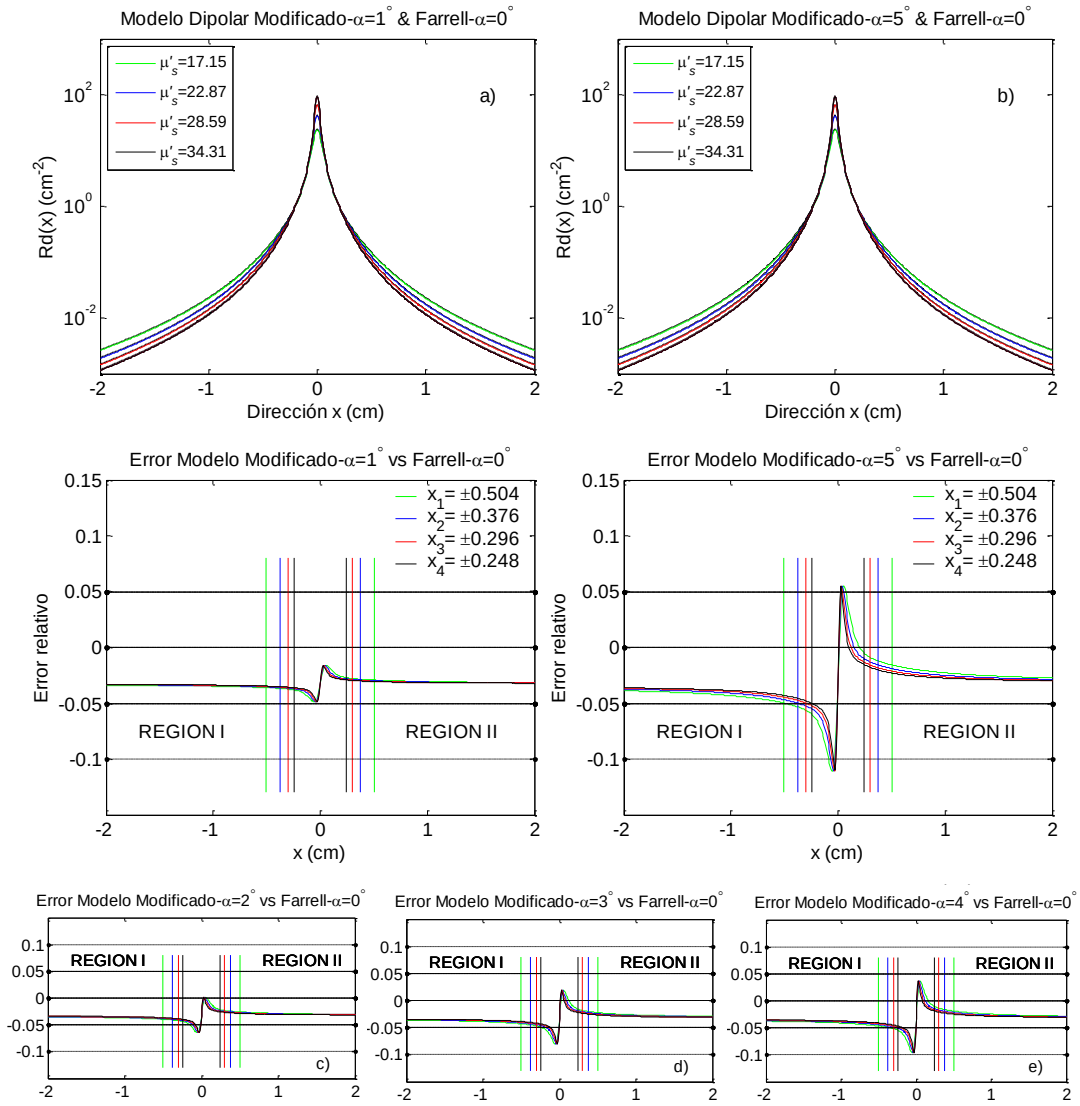

Figura 3.10. Comparación entre las curvas de reflexión difusa Rd(x) para un haz inclinado (α=1° y α=5°) y un haz con incidencia normal (α=0°) (fila superior) y su error relativo (fila intermedia). Error relativo para α=2°, 3° y 4°, respectivamente (fila inferior). El coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' es igual a 17.15, 22.87, 28.59 y 34.31 cm^{-1}.

Debajo de la figura 3.10 a y b, se muestran los errores relativos de cada curva con respecto a Rd(x) para α=0°, y dentro de éstas, los valores x_1, x_2, x_3 y x_4 donde ocurren aproximadamente el mínimo de error (distancia x_0 ideal) según el valor de μ_s', respectivamente, y en las dos regiones del espacio (Región I y Región II) de estas figuras. Por lo que se extrajo el valor de los parámetros ópticos realizando el ajuste no lineal del modelo analítico de la fuente dipolar de Farrell con cada una de las cuatro curvas simuladas para

los cinco valores de α, desde el valor correspondiente a xi (i=1…4) hasta 2 cm, en cada región. Se muestran también en esta figura las diferencias entre esas curvas para: c) α=2°, d) α=3° y e) α=4°. Como se puede observar las diferencias significativas ocurren próximas al cero (punto de incidencia) y crecen con el aumento del ángulo de incidencia (desde aproximadamente un 5% hasta un 11%).

En la tabla 3.4 se muestran los resultados de las PO extraídas, en cada región del espacio I y II de la figura 3.10, para las cuatro curvas con distintos μ_s', y para los cinco valores del ángulo de incidencia. Primero que todo observemos lo que ocurre en la Región I en cuanto a los errores extraídos para el valor del coeficiente de esparcimiento reducido (igualmente para μ_t'). Se aprecia que éstos aumentan ligeramente con el ángulo de incidencia, desde un valor promedio igual a 4.94% (para α=1°) hasta un 6.30% (para α=5°) como intuitivamente se esperaba, mientras que los errores para el coeficiente de absorción son comparativamente altos en todos los casos (en general mayores que un 10% y menores que un 31%).

En la Región II era de esperar que ocurriera el mismo comportamiento para los errores de extracción de μ_s', pero ocurre lo contrario según podemos observar, es decir disminuyen ligeramente con el aumento del ángulo de incidencia, desde un valor promedio igual a 4.28% (para α=1°) hasta un 3.06% (para α=5°). En cuanto a los errores de extracción de μ_a continúan siendo comparativamente altos en la mayoría de los casos, sin embargo son menores que los extraídos en la Región I y con una tendencia a disminuir con el aumento de α, alcanzando valores desde 3.45% hasta 17.24%.

TABLA 3.4 Propiedades ópticas (PO) extraídas mediante el ajuste del modelo analítico de Farrell con los datos simulados obtenidos con el modelo modificado de la fuente dipolar para incidencia oblicua del haz desde 1° hasta 5°, en dos regiones espaciales (como se observa en la figura 3.10). Se muestran los errores de extracción respecto de las propiedades ópticas usadas para la simulación (μ_s'=17.15, 22.87, 28.59 y 34.31 cm^{-1}; μ_a =0.0029 cm^{-1}; y g=0.7329).

PO extraídas (cm^{-1})				ERROR (%)					
REGIÓN I		REGIÓN II		REGIÓN I			REGIÓN II		
μ_t'	μ_{eff}	μ_t'	μ_{eff}	E(μ_s')	E(μ_{eff})	E(μ_a)	E(μ_s')	E(μ_{eff})	E(μ_a)
α=1°									
18.16	0.353	17.99	0.363	5.89	9.56	20.69	4.90	6.62	17.24
24.01	0.423	23.86	0.430	4.98	5.93	13.79	4.33	4.44	10.35
29.89	0.481	29.74	0.487	4.58	3.74	10.34	4.02	2.70	6.90
35.79	0.532	35.64	0.536	4.31	3.33	10.34	3.88	2.55	6.90
α=2°									
18.24	0.348	17.92	0.368	6.36	10.72	24.14	4.49	5.56	13.79
24.09	0.420	23.77	0.435	5.33	6.62	17.24	3.94	3.38	6.90
29.98	0.478	29.66	0.490	4.86	4.48	13.79	3.74	2.10	6.90
35.88	0.529	35.56	0.535	4.58	3.91	10.34	3.64	2.65	6.90
α=3°									
18.32	0.3439	17.83	0.3734	6.82	11.82	24.14	3.97	4.26	10.34
24.17	0.4159	23.70	0.4376	5.68	7.58	17.24	3.63	2.76	6.90
30.05	0.4754	29.58	0.4928	5.11	4.92	13.79	3.46	1.44	6.90
35.95	0.5268	35.47	0.5417	4.78	4.22	10.34	3.38	1.51	3.45
α=4°									
18.40	0.3383	17.76	0.3778	7.29	13.26	27.59	3.56	3.13	6.90
24.25	0.4130	23.62	0.4420	6.03	8.22	20.69	3.28	1.78	3.45
30.14	0.4719	29.50	0.4948	5.42	5.62	13.80	3.18	1.04	3.45
36.05	0.5237	35.47	0.5381	5.07	4.78	13.80	3.38	2.16	6.90
α=5°									
18.49	0.3325	17.67	0.3839	7.81	14.74	31.03	3.03	1.56	3.45
24.34	0.4088	23.54	0.4459	6.43	9.16	20.69	2.93	0.91	3.45
30.22	0.4699	29.47	0.4950	5.70	6.02	17.24	3.08	1.00	3.45
36.12	0.5223	35.41	0.5360	5.28	5.04	13.79	3.21	2.55	6.90

El comportamiento ocurrido en la Región II para los errores de extracción de μ_s', los cuales disminuyen ligeramente con el aumento del ángulo de incidencia, se explican a través de la figura 3.11 (a-c). En el inciso a de esta figura se presentan las curvas de reflexión difusa cuyo coeficiente de esparcimiento reducido es igual a 17.15 cm^{-1}, para los cinco valores del ángulo de incidencia y además para el ángulo de incidencia normal (α=0°);

dentro de ésta diferenciamos las dos regiones (ver figura 3.10) donde se aplicó el algoritmo para la extracción de los parámetros ópticos, es decir desde los valores de x_1= ±0.504 cm hasta x= ± 2 cm, respectivamente; y enmarcamos en rojo dos zonas (1 y 2) para mostrar una vista ampliada de éstas en la figura 3.11 b y c, respectivamente.

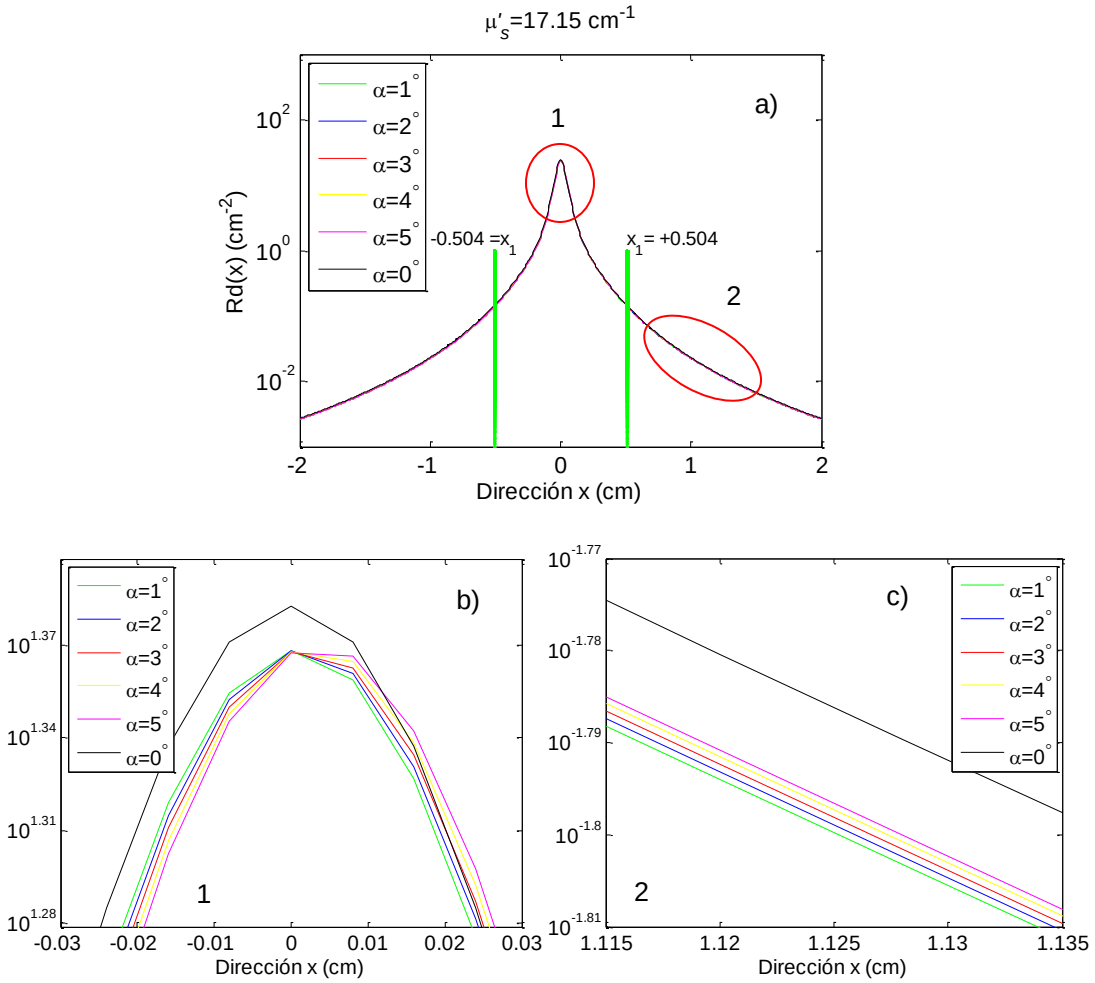

Figura 3.11. a) Simulación de la reflexión difusa Rd(x) con el modelo modificado de la fuente dipolar para α=1°, 2°, 3°, 4° y 5°, y además con incidencia normal al tejido (modelo de Farrell, α=0°) cuyo μ_s'=17.15 cm^{-1}. Se muestran los valores x_1=±0.504 cm donde el error relativo de estas curvas respecto del modelo de Farrell, es mínimo. Se enmarcan en color rojo dos zonas 1 y 2 para mostrar una vista ampliada de ellas en el inciso b) y c), respectivamente.

Como se puede apreciar en la figura 3.11 b, en la zona próxima al cero existe un punto de pivote donde el comportamiento de las curvas de reflexión

se invierte con respecto al incremento del ángulo de incidencia α. Si analizamos la región negativa de la dirección x de esta figura, se observa que la curva de reflexión para α=1° es la más cercana respecto de la curva de referencia para α=0° y le sigue en orden decreciente las curvas según aumenta el ángulo de incidencia, por lo que para α=5° la curva de reflexión es la que más alejada se encuentra respecto de la de incidencia normal. Este comportamiento se mantiene en todo el intervalo espacial hasta x= -2 cm. Por tal motivo los errores relativos para la extracción de μ_s' en la Región I (figura 3.10) aumentan ligeramente con el ángulo de incidencia. Sin embargo, en esta zona próxima al cero, en la región positiva de la dirección x, el comportamiento de estas curvas es diferente respecto de la curva de referencia para α=0°, observándose que ésta pasa casi por el medio de ellas. Se aprecia además el cambio del sentido de orientación entre las curvas para α≠0° como se comentó anteriormente y se mantiene en todo el intervalo espacial hasta x= 2 cm. Esta zona próxima al cero no contribuye al análisis de los errores de extracción porque nuestro algoritmo excluye a estos puntos.

Analicemos entonces la figura 3.11 c, la cual es una vista ampliada de la zona 2 de la figura 3.11 a, y que a su vez es un pequeño intervalo espacial representativo de la Región II (figura 3.10) donde se aplica el algoritmo de extracción de los parámetros ópticos. Como se puede observar la curva de reflexión para α=1° es la que se encuentra más alejada respecto de la curva de referencia para α=0° y le sucede en orden ascendente las curvas para los ángulos de incidencia mayores, por lo que para α=5° la curva de reflexión que le corresponde se encuentra más cerca de la de incidencia normal, siendo ésta la causa por la que se encuentran que los errores relativos de extracción de μ_s' disminuyen ligeramente con el aumento del ángulo de incidencia. Esta explicación es válida para todas las curvas con distintos coeficientes de esparcimiento usadas en nuestras simulaciones.

Aunque este comportamiento encontrado en la Región II, donde ocurre el desplazamiento de las fuentes puntuales isotrópicas respecto de la fuente

puntual con incidencia normal, los errores de extracción de μ_s' son aceptables y en promedio (teniendo en cuenta a todos los ángulos) son del orden de un 4%, mientras que en la Región I son ligeramente mayores y en promedio son del orden de un 6%. No obstante un error de 5° en la incidencia del haz de luz respecto de la normal, es significativamente visible, por lo que en la práctica el error en la colocación del ángulo normal al tejido se encuentra a lo sumo en 2°, quedando acotados los errores de extracción en un 5% (Región I) y en un 4% (Región II), respectivamente.

3.3 CONCLUSIONES

La investigación realizada muestra que el criterio de un 1 mfp' como distancia radial que marca el límite para el uso de la expresión analítica de Farrell *et al.* [1] no es totalmente válido para el conjunto de propiedades ópticas usadas en esta tesis.

Fue propuesto y probado un algoritmo que constituye una herramienta para realizar el ajuste de curvas sintéticas al modelo de Farrell encontrando previamente una distancia radial ideal r_0. Los errores de recuperación para μ_s' con este algoritmo son menores que un 2% mientras que para μ_a son comparativamente altos.

Se evaluó teóricamente la influencia de las dimensiones finitas del haz al considerar un haz Gaussiano en la simulación de las curvas sintéticas de reflexión difusa generadas con el código MCML-Gaussiano.exe. Se encontró que respecto al haz infinitamente fino (código MCML.exe) existen diferencias relevantes entre las curvas de reflexión para distancias próximas al origen ($r \leq 0.06$ cm). Además se encontró que no existen diferencias significativas en las propiedades ópticas extraídas para un haz Gaussiano con diámetro igual a 1 mm.

Fue evaluado teóricamente (con el modelo analítico) la influencia del ángulo de incidencia del haz en las curvas de reflexión difusa, y de forma similar al caso del haz normalmente incidente se encontró un criterio para el

ajuste de los datos sintéticos. Las simulaciones demostraron que la extracción de las propiedades ópticas puede hacerse con errores inferiores a un 5% para el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s'. Este tipo de análisis no lo hemos visto reportado en la literatura por lo que consideramos que es una aportación de esta tesis.

Los resultados de este capítulo brindan una guía para aplicar los criterios de ajustes encontrados a las mediciones experimentales de la reflexión difusa de muestras con propiedades ópticas como los aquí usados.

REFERENCIAS

[1] T. J. Farrell, M. S. Patterson, B. Wilson, “A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties *in vivo*”, Med. Phys. 19, 879-888 (1992).

[2] Lihong Wang and Steven L. Jacques, MCML&CONV Manual, “Monte Carlo Modeling of Light Transport in Multi-layered Tissues in Standard C”. Laser Biology Research Laboratory, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center. Reprinted with corrections January, 1993 & November, 1995.

[3] Hugo J. van Staveren, Christian J. M. Moes, Jan van Marle, Scott A. Prahl, and Martin J. C. van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm", Appl. Opt. 30, 4507-4514 (1991).

[4] Margarita Cunill Rodríguez, Jorge Castro Ramos, Sergio Vázquez y Montiel, José Alberto Delgado Atencio, “Algoritmo de extracción de las propiedades ópticas a partir de la medición de la reflexión difusa resuelta espacialmente”, Rev. Cub. Física vol. 27 No. 1 (2010) p.59-62, ISSN: 0253-9268.

[5] A. Kienle and M. S. Patterson, “Improved solutions of the steady-state and the time-resolved diffusion equations for reflectance from a semi-infinite turbid médium”, J. Opt. Soc. Am. 14, 246-254 (1997).

[6] Curve Fitting Toolbox User’s Guide. COPYRIGHT 2001-2002 by The MathWorks, Inc.

[7] E. Hecht, “Modern Optics: Lasers and Other Topics”, in *Optics,* eds (PEARSON, Addison Wesley, 2002), pp 581-648.

[8] http://en.wikipedia.org/wiki/Gaussian_beam

[9] Wang.L, Jacques.S.L, Zheng L, “CONV-Convolution for Responses to a Finite Diameter Photon Beam Incident on Multi-layered tissues”. Computers Methods and Programs in Biomedicine 54, 141-150 (1997).

Capítulo 4

Aspectos Instrumentales de la Video Reflectometría

En este capítulo se presentan algunos de los aspectos instrumentales que se debe considerar en la instalación de video reflectometría implementada en este trabajo para determinar las propiedades ópticas en muestras desconocidas. Entre ellos se encuentran: determinación del factor de escala K de la instalación experimental; investigación de la influencia del plano de enfoque en la obtención de las curvas experimentales de reflexión difusa Rd(r) y por tanto en la extracción de los parámetros ópticos; y evaluación de la influencia de las dimensiones del recipiente en la extracción de los parámetros ópticos. Además se presenta un análisis estadístico del proceso de extracción de las propiedades ópticas de varias muestras cuando se aplica el algoritmo de determinación de la constante instrumental K y se discute los resultados obtenidos tomando en cuenta los resultados reportados por otros autores.

Las investigaciones realizadas y presentadas en este capítulo se hicieron fundamentalmente utilizando muestras líquidas.

4.1 DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE ESCALA K DE LA INSTALACIÓN EXPERIMENTAL

Es conocido que los perfiles de reflexión difusa radial experimental Rd(r) obtenidos con una instalación de video reflectometría y los obtenidos teóricamente, por ejemplo con el modelo de Farrell, no se superponen. Por lo tanto, es imprescindible encontrar un factor de escala K, que minimice la distancia entre ambas curvas como paso previo al ajuste no lineal que conduce a la determinación de las propiedades ópticas de una muestra desconocida. Para encontrar este factor de escala se propuso emplear un disco de teflón con propiedades ópticas conocidas como el estándar óptico para calibrar la instalación experimental.

En este epígrafe se presenta un algoritmo y su implementación experimental para la determinación del factor de escala K, considerando el uso de un disco de teflón con propiedades ópticas conocidas. Este algoritmo fue aplicado para recuperar el coeficiente de esparcimiento reducido del teflón. Finalmente se investigó la influencia de los parámetros geométricos de nuestra instalación experimental sobre el valor de la constante K.

4.1.1 Propiedades ópticas del teflón obtenidas con IAD

El politetrafluoretileno (PTFE) conocido comúnmente como teflón, es un polímero descubierto en el año 1938. Es un material sólido altamente esparcidor en la región visible del espectro electromagnético. Contrariamente, es un material cuyo coeficiente de absorción es muy pequeño en esta zona del espectro (μ_a=0.01cm^{-1} [1,2]). Debido a estas propiedades ópticas, el teflón ha sido ampliamente usado como estándar de reflexión difusa en el rango espectral de 200 nm a 2500 nm por el National Institute of Standards and Technology (NIST), así como en el recubrimiento de las capas internas de las esferas integradoras para el estudio de la reflexión y transmisión difusa de otros materiales [3,4].

En este trabajo de tesis, las propiedades ópticas del teflón (GRUPO LBO, Barra Redonda de 50.8 mm de diámetro [5]) fueron determinadas previamente en Oregon (Oregon Medical Laser Center) mediante la técnica de dos esferas integradoras y usando el software Inverse Adding-Doubling (IAD) [6,7]. Para determinar sus propiedades ópticas y obtener una medición confiable, fue necesario definir tres discos de diferentes espesores los cuales fueron pulidos por ambas caras en el taller de óptica del INAOE con la calidad óptica necesaria para realizar las mediciones de reflexión y transmisión difusa con esta técnica, tal como se muestra en la figura 4.1. El software IAD requiere como parámetros de entrada el índice de refracción n y el coeficiente de anisotropía g del teflón. En este trabajo fueron tomados como 1.35 y 0.9 respectivamente, según los reportados por Kienle *et al..* en el año 1996 [1], aunque en la actualidad se reportan índices de refracción para barras sólidas de teflón hasta 1.38 [8], y valores de g entre 0.8 y 0.9. [2].

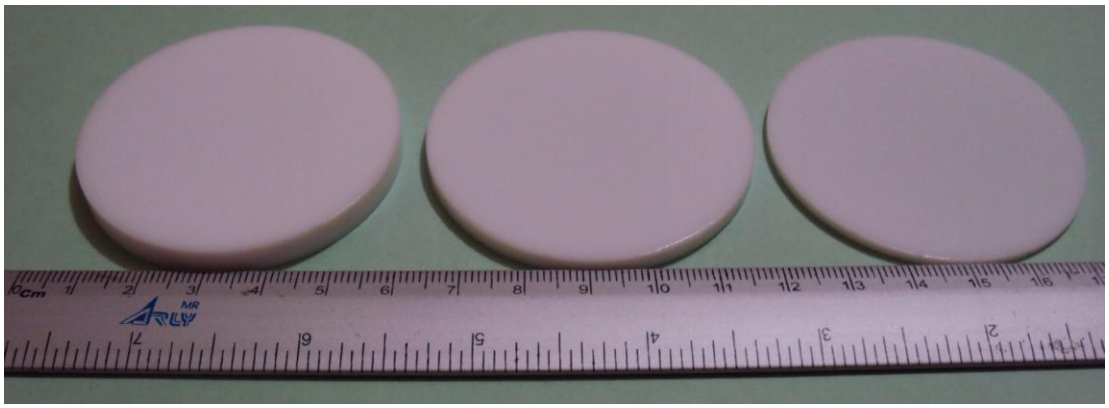

Figura 4.1 Tres discos de teflón de espesores de 5.92, 3.86 y 2.03 mm pulidos por ambas caras en el taller de óptica del INAOE y determinadas sus propiedades ópticas en Oregon con la técnica de Dos Esferas Integradoras usando el software Inverse Adding-Doubling (IAD).

Como resultado de la colaboración de la estancia de investigación en Oregon de una compañera (estudiante de doctorado) de nuestro grupo del GIOB, las mediciones de la reflexión y transmisión difusa fue realizada espectralmente para los tres discos de teflón, tabulándose los resultados para un rango espectral desde 349.8 nm hasta 878.1nm. Los mejores

resultados medidos fueron los reportados el 31 de enero de 2011, donde se tuvo en cuenta el escape lateral de la luz (debido al tamaño finito de las muestras) usando iteraciones Monte Carlo, lo que condujo a que las curvas del coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' fueran prácticamente la misma para los tres discos de teflón de espesores: 2.03, 3.86 y 5.92 mm, respectivamente. En este trabajo de tesis se tomaron los valores del coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' y de absorción μ_a, igual a 28.34 cm^{-1} y aproximadamente igual a cero, respectivamente, en la longitud de onda igual a 632.8 nm, según los valores tabulados en dicho reporte [comunicación vía e-mail con la estudiante].

4.1.2 Algoritmo para determinar K

Nosotros seleccionamos el método de encontrar un factor de escala experimental K para la instalación de video refletometria de forma tal que cumpliera con la propuesta de Farrell *et al.* [9] y Doornbos *et al.* [10]:

$$Rd(r)\ experimental = K * Rd(r)\ teórica \qquad (4.1)$$

El factor de escala fue calculado a partir de la expresión anterior, mediante el procedimiento del ajuste lineal por mínimos cuadrados de la curva de reflexión difusa Rd(r) experimental y teórica de la muestra de referencia de teflón.

Nosotros definimos un procedimiento de ajuste óptimo a partir de una distancia radial ideal r_0 que cumpliera la condición que las diferencias entre las curvas de reflexión difusa resuelta radialmente generadas con el modelo analítico (modelo de Farrell) y las generadas con el modelo estocástico (código MCML [11]) fuera mínima. Para la generación de las curvas con el código MCML, el número de fotones (Nf) usados fue de $20x10^6$. En este trabajo, el valor experimental de r_0 se encuentra aproximadamente en el intervalo radial donde fueron usados los filtros de densidad óptica DO= 1, 0.5 y cero, en la instalación experimental de video refelectometría.

4.1.3 Descripción del experimento

Como se explicó en el capítulo 2 nuestra instalación experimental de experimental de video reflectometria utiliza un láser de He-Ne incidiendo perpendicularmente sobre la superficie de la muestra de estudio, en este caso el teflón (espesor igual a 5 cm y diámetro de 5.08 cm). La cámara CCD en combinación con los cinco filtros de densidad óptica neutra (DO) permite el registro de la señal de reflexión difusa en un rango dinámico mayor. Con el propósito de generar las curvas experimentales Rd(r) se implementó un algoritmo computacional en MATLAB(R) para el procesamiento de las imágenes. De esta manera, fueron generadas cuatro curvas experimentales donde cada una de ellas es el resultado del promedio de cinco mediciones. A partir de estas curvas promedios fueron obtenidos cuatro valores para el factor de escala K (Ki, i=1...4). Una vez determinado el factor de escala de la instalación experimental, el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' del teflón fue extraído mediante el procedimiento del ajuste no lineal del modelo de Farrell con las curvas experimentales del teflón, usando tanto el factor de escala individual Ki como un único factor de escala Ku para el cual el error de extracción de μ_s' fuera el menor. Este procedimiento fue repetido tres veces con propósitos estadísticos y en dos configuraciones geométricas experimentalmente similares. Este último, con el fin de investigar la influencia de algunos parámetros geométricos de nuestra instalación experimental en el valor de la constante K: (a) la CCD colocada a una altura h_0 = 17.5 cm de la superficie de la muestra, y (b) la CCD colocada a una altura $h_0 + \Delta$ = 30.6 cm, como se muestra en la figura 4.2 [12].

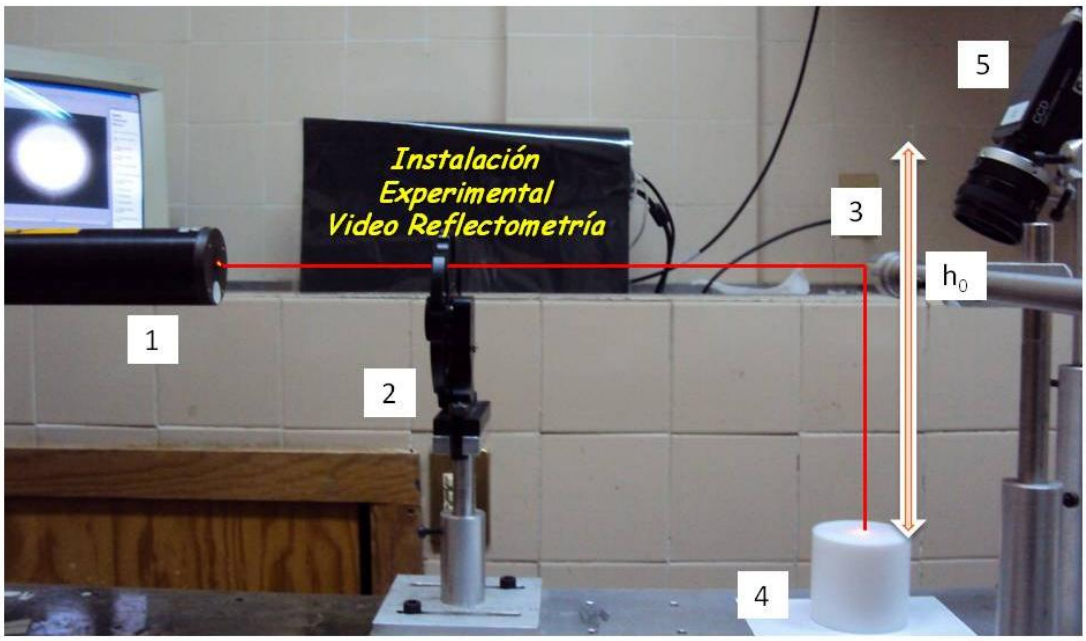

Figura 4.2 Fotografía de la instalación experimental de video reflectometría: 1) láser de He-Ne (λ=632.8nm, P0=35mW), 2) porta filtro rotatorio conteniendo 5 filtros neutrales, 3) espejo delgado, 4) disco de teflón de 5 cm de espesor, y 5) cámara CCD para la toma de las imágenes luminosas por cada filtro, colocada a la altura h_0=17.5cm.

4.1.4 Resultados

El valor encontrado para la distancia radial ideal r_0, requerida para realizar el procedimiento óptimo de ajuste, fue de 0.38 cm como se observa en la figura 4.3 a. El error de extracción del coeficiente de esparcimiento reducido, $E(\mu_s')$, con respecto a los datos sintéticos correspondientes a las propiedades ópticas conocidas del teflón, fue de 3.39% como se muestra dentro de la figura 4.3 b.

En la figura 4.4 a se muestra un típico ajuste lineal por mínimos cuadrados de la curva experimental y teórica para calcular el factor de escala Ki, desde la posición radial r_0 del orden de 0.5 cm hasta un valor máximo de 2 cm de distancia radial. Esta distancia coincide con el intervalo radial cuando son usados los filtros con densidad óptica igual a 1, 0.5 y cero.

Los resultados se muestran en la tabla 4.1. Como puede ser observado no existe diferencia significativa entre los factores de escala en ambas

configuraciones geométricas, aunque hay una ligera tendencia a ser mayor en el caso (b) donde la desviación estándar relativa a penas alcanza un 4%. Todos los valores reportados en la tabla 4.1 son valores promedios, excepto para el factor de escala Ki, el cual fue el seleccionado para realizar el ajuste no lineal. Resultados satisfactorios fueron obtenidos con este algoritmo porque los errores relativos en todos los casos fueron menores que un 4%, tal como se observa en esta misma tabla.

En la figura 4.4 b se muestra un ajuste típico no lineal de la curva experimental y teórica Rd(r), teniendo en cuenta el factor de escala Ki, que permite obtener el coeficiente de esparcimiento reducido del teflón.

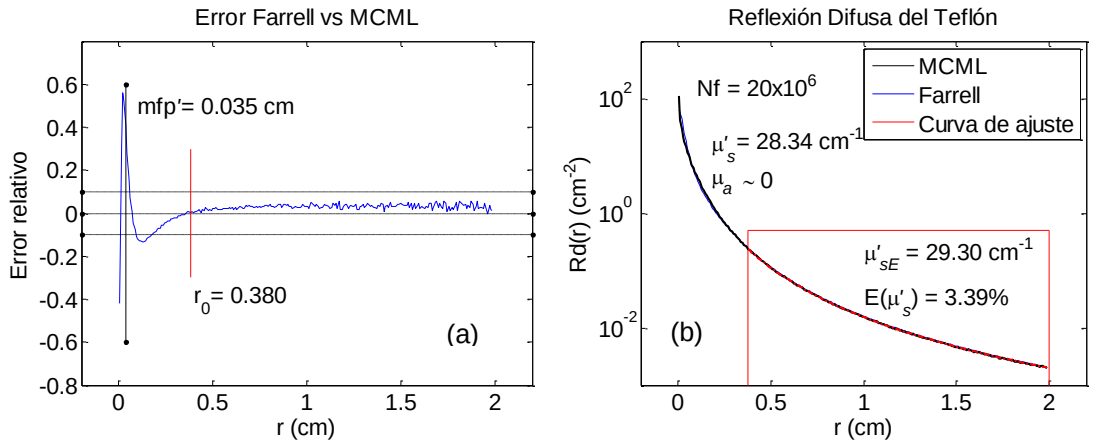

Figura 4.3 (a) Error relativo del modelo de Farrell con respecto a los datos sintéticos (generados con MCML): r_0 es la posición radial cuando este error es próximo a cero, y mfp' es el recorrido libre medio de transporte del teflón donde el error máximo es próximo a esta distancia. b) Resultado del ajuste no lineal de los datos sintéticos a partir de la posición radial r_0 (enmarcado en cuadro rojo).

TABLA 4.1 Valores del factor de escala y el correspondiente coeficiente de esparcimiento reducido (promedio), en dos configuraciones geométricas diferentes. Se muestra también el error relativo $E(\mu_s')$.

Configuración geométrica (a)				Configuración geométrica (b)			
Kp±σ	Ki	μ_{sE}' cm^{-1}	$E(\mu_s')$ %	Kp±σ	Ki	μ_{sE}' cm^{-1}	$E(\mu_s')$ %
17037±1261	18123	28.55	0.74	19177±523	18603	28.63	1.02
17328±1148	18266	28.58	0.85	19236±551	18820	29.26	3.25
18642±574	18236	28.53	1.07	18187±756	19125	28.16	2.75

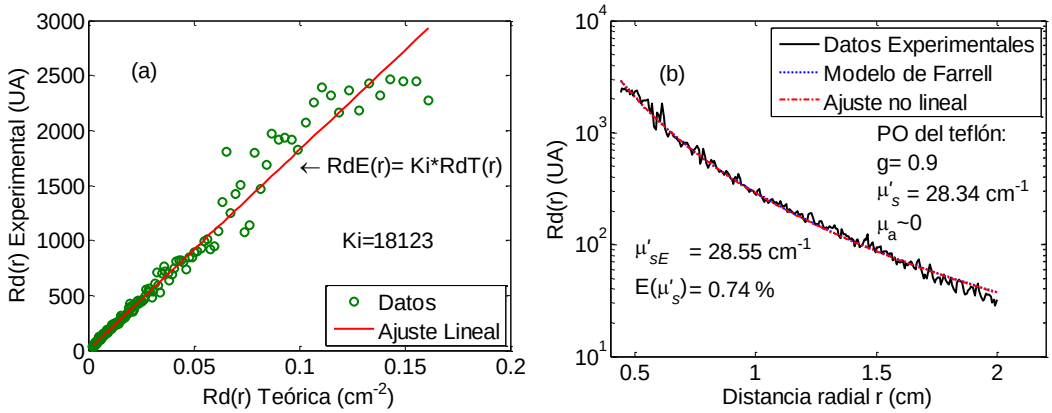

Figura 4.4 (a) Típico ajuste lineal, de la curva de reflexión difusa experimental y teórica para calcular el factor de escala Ki. (b) Resultado del ajuste de los datos experimentales a partir de la posición radial r_0≈0.5 cm para determinar el coeficiente de esparcimiento reducido del teflón.

4.2 INFLUENCIA DEL PLANO DE ENFOQUE EN LA EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTICOS

Otro aspecto a investigar que pudiera influir en la obtención de las curvas experimentales de reflexión difusa Rd(r) y por tanto en la extracción de los parámetros ópticos con la instalación de video reflectometría, es la sensibilidad de la colocación del plano de enfoque de la CCD sobre la superficie de las muestras. Este epígrafe está dedicado a explorar este aspecto, el cual hasta donde hemos revisado en la literatura, no se ha reportado un estudio similar.

4.2.1 Efecto del desenfoque de la cámara CCD en las curvas Rd(r)

El desenfoque de la cámara CCD con respecto a la superficie del phantom es un problema que puede originarse por ejemplo debido a errores al momento de la preparación del phantom, específicamente en la etapa en que se hace el enrazado de la muestra al nivel de referencia establecido, donde dicho nivel podría quedar ligeramente por encima o por debajo del nivel de referencia.

Descripción del experimento

Un conjunto de cuatro phantoms líquidos, con diferentes coeficientes de esparcimiento, fueron preparados con el objetivo de estudiar el efecto del desenfoque de la CCD en las curvas Rd(r). Brevemente, una cantidad de 15, 20, 25 y 30 ml de Lipofundin-10% fue depositada en cuatro contenedores plásticos (7 cm de diámetro por 4 cm de alto), respectivamente y se les añadió agua destilada hasta que la mezcla alcanzó un nivel de 112 ml (muestras de la 2 a la 5 de la tabla 4.4). La mezcla resultante fue disuelta revolviéndolo a mano, hasta que se visualizó una mezcla homogénea obtenida a una temperatura ambiente de aproximadamente 22 °C.

Los phantoms fueron colocados para realizar las mediciones sobre una plataforma micrométrica cuyo incremento vertical en su altura, es de 10 µm (THORLABS LJ750). Seguidamente, la lente de enfoque tipo zoom (Electrophysics) de la instalación experimental fue ajustada para un enfoque sobre la superficie de la muestra hasta que se observó la mejor imagen sobre la pantalla de la computadora personal. Esta lente tiene una distancia focal de 25.0 mm y un f-número en el rango de 1.4 a 16. El diafragma de la lente fue ajustado para un f-número de aproximadamente igual a 5.6 en todos los experimentos que se explican en este epígrafe. Bajo estas condiciones de enfoque la altura de la plataforma fue considerada como un plano de referencia, y las imágenes fueron registradas en esta posición. La posición de la superficie de los phantoms fue aumentada o disminuida en 1.00 mm, sin re-enfoque, y fueron capturadas las imágenes correspondientes para construir la curva Rd(r), en cada posición. Este procedimiento fue repetido cinco veces para tener en cuenta la presencia de errores estadísticos durante la evaluación de la diferencia entre las curvas de reflexión Rd(r)+ y Rd(r)- con respecto a Rd(r)0. Aquí el símbolo +,-,0 acompañando a Rd(r) indica la reflexión difusa resuelta radialmente registrada cuando la posición de las superficies de los phantoms fue incrementada 1 mm (denotada como

h=+1mm) o disminuida 1 mm (denotada como h=-1mm) con respecto al plano de referencia h=0, respectivamente.

Resultados

En la figura 4.5 a se muestran las curvas Rd(r) obtenidas en las tres posiciones explicadas anteriormente y para los cuatro phantoms con distintos esparcimientos. Como se puede apreciar, no se observan diferencias significativas entre las curvas Rd(r)+, Rd(r)- con respecto a Rd(r)0 de cualquiera de las muestras estudiadas y en todo el intervalo radial. Una vista ampliada donde se puede detallar esto último, se muestra en la figura 4.5 b para el phantom con 30 ml de Lipofundin-10% (se omiten para el resto de las muestras porque el comportamiento es el mismo), y aproximadamente en el intervalo radial donde se realiza el ajuste correspondiente para la extracción de los parámetros ópticos. Se corrobora además, que la instalación experimental permite diferenciar las curvas con distintos coeficientes de esparcimiento.

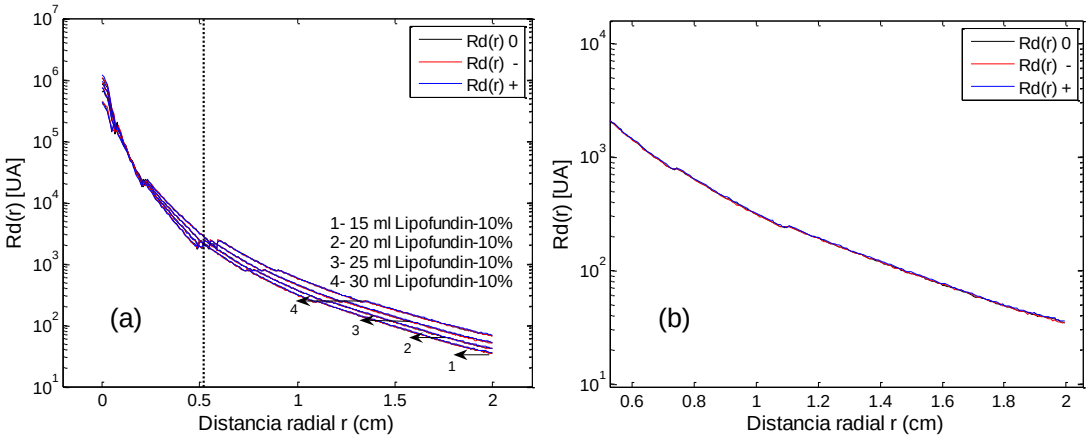

Figura 4.5 (a) Curvas de reflexión Rd(r)+, Rd(r)- y Rd(r)0 para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento. El símbolo +,-,0 acompañando a Rd(r) indica la reflexión difusa registrada cuando la posición de los phantoms fue incrementada o disminuida en 1 mm con respecto al plano de referencia h=0, respectivamente (b) Vista ampliada de estas curvas para el phantom 4, en el intervalo radial r_0>0.5cm.

Las diferencias cuantitativas entre las curvas de reflexión Rd(r)+ y Rd(r)- con respecto a Rd(r)0 en el intervalo radial desde r_0~0.5 cm hasta 2 cm, se observan en la figura 4.6 para cada uno de los phantoms. Dentro de cada

figura se muestra el error relativo promedio expresado en porciento. Como se puede ver, en general todos los errores son menores que un 2%.

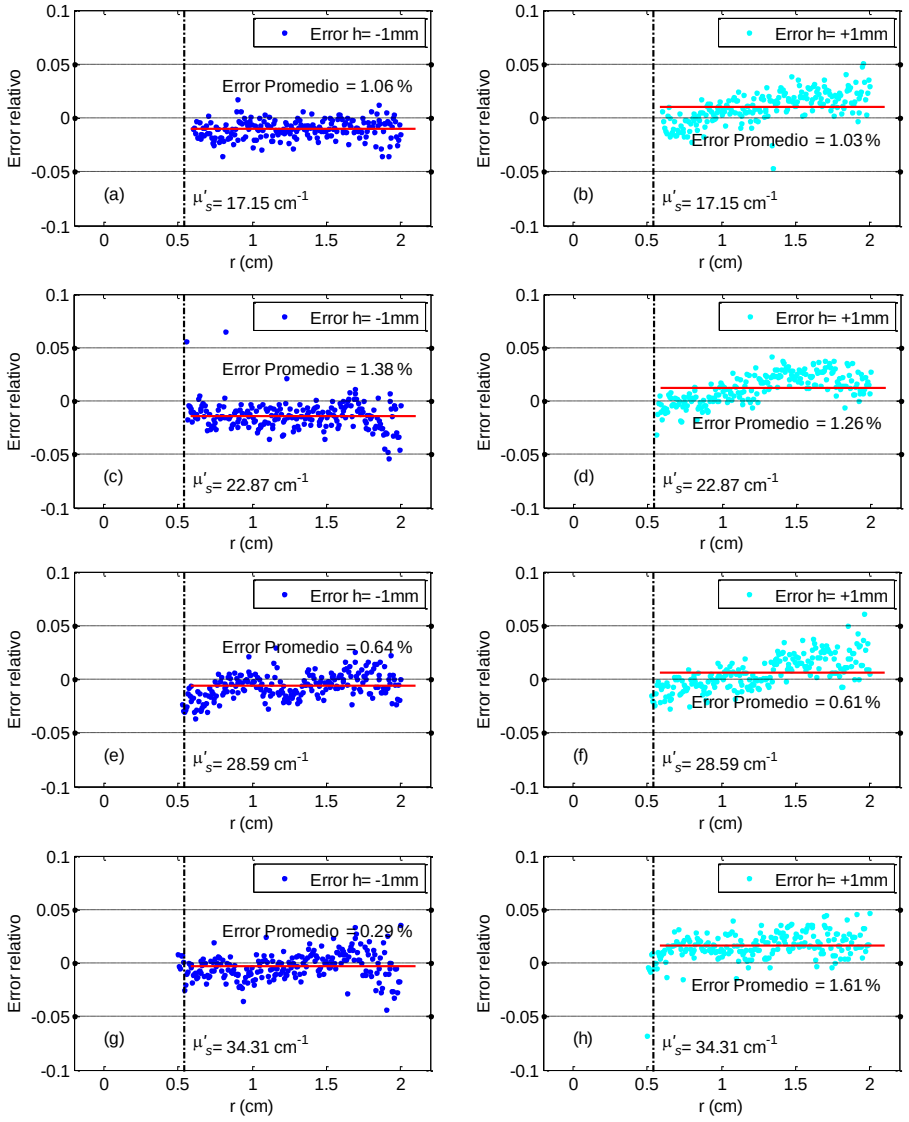

Figura 4.6 (a-h) Diferencias cuantitativas entre las curvas de reflexión Rd(r)+, Rd(r)- y Rd(r)0 para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento. El símbolo +,-,0 acompañando a Rd(r) indica la reflexión difusa registrada cuando la posición de los phantoms fue incrementada 1 mm (h=+1mm) o disminuida 1 mm (h=-1mm) con respecto al plano de referencia h=0, respectivamente, en el intervalo radial r_0>0.5cm.

Este resultado indica que si durante el experimento se cometen errores de hasta 1 mm en la colocación del plano focal de la CCD sobre la superficie de las muestras, éstos solamente afectan las curvas de reflexión en menos de un 2% para distancias radiales donde $r_0 > 0.5$ cm o $r > r_0$. Cabe señalar que

es difícil cometer errores mayores que 1 mm en la colocación del plano de enfoque sobre la muestra.

4.2.2 Efecto del desenfoque de la CCD en la extracción de los parámetros ópticos

Finalmente, se evaluó la sensibilidad de la colocación del plano de enfoque de la CCD sobre la superficie de las muestras en la extracción de los parámetros ópticos. Para esto, se siguió el mismo procedimiento y algoritmo desarrollado para extraer los PO a cada una de las curvas Rd(r)+, Rd(r)- y Rd(r)0 en los cuatro phantoms estudiados. Los resultados se muestran en la tabla 4.2.

TABLA 4.2 Valores de los PO extraídos para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento cuando la posición de la superficie de éstos fue incrementada en 1 mm (h=+1mm) o disminuida en 1 mm (h=-1mm) con respecto al plano de referencia h=0, respectivamente.

PO	PO (cm^{-1}) Fórmula Staveren	PO Extraída (cm^{-1})		
		h=0	h=-1mm	h=+1mm
15 ml Lipofundin-10%				
μ'_s	17.15	11.75	12.13	12.14
μ_a		0.0084	0.0076	0.0064
20 ml Lipofundin-10%				
μ'_s	22.87	17.03	17.20	17.36
μ_a		0.0043	0.0045	0.0031
25 ml Lipofundin-10%				
μ'_s	28.59	21.78	21.93	22.33
μ_a		0.0027	0.0026	0.0019
30 ml Lipofundin-10%				
μ'_s	34.31	26.83	26.61	26.61
μ_a		0.0015	0.0023	0.0013

Como se puede apreciar no existen diferencias significativas entre los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraídos cuando se desenfoca la CCD tanto por encima como por debajo del plano de referencia h=0 en 1 mm, para ninguno de los cuatro phantoms estudiados. Los

resultados obtenidos para los dos primeros phantoms con menor esparcimiento se encuentran dentro de los valores presentados en el análisis estadístico mostrado en la tabla 4.5.

4.3 INFLUENCIA DE LAS DIMENSIONES DEL RECIPIENTE EN LA EXTRACCIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTICOS

Es conocido que los contenedores donde se elaboran los phantoms definen las dimensiones finitas de las muestras. Existen criterios que garantizan que el efecto de borde en la distribución de la luz debido a la frontera, sea despreciable. Según Farrell *et al.* [9], estas dimensiones deben ser mayores que 40 veces el recorrido libre medio de transporte (mfp'), lo cual se cumple para las muestras preparadas en este trabajo de tesis (ver tabla 4.4), donde las dimensiones de la vasija o contenedor usado es de 7 cm de diámetro por 4 cm de alto. No obstante, con el objetivo de evaluar preliminarmente la influencia de las fronteras del recipiente que contiene a los phantoms en el perfil de las curvas Rd(r) y por tanto en la extracción de los parámetros ópticos, se diseñó el experimento que se explica a continuación.

Descripción del experimento

En una vasija plástica, transparente y cilíndrica de 11.5 cm de diámetro por 6.3 cm de alto se preparó un phantom líquido conteniendo 459 ml de H_2O destilada más 45 ml Lipofundin-10% de manera tal que el coeficiente de esparcimiento reducido calculado con la fórmula de van Staveren *et al.* [13] fuera igual a 11.44 cm^{-1}, a ésta le llamamos muestra 1. Una vez realizada las mediciones de Rd(r) con esta muestra, de esta vasija se extrajeron 112 ml y se vertió en la vasija pequeña cilíndrica habitualmente usada (7 cm de diámetro por 4 cm de alto) y a ésta le llamamos muestra 2, y por último una muestra 3 preparada individualmente en la vasija pequeña conteniendo 10 ml de Lipofundin-10% más 102 ml de H_2O cuyo μ_s' es igual a 11.44 cm^{-1}.

Resultados

En la figura 4.7 se muestran las curvas promedios Rd(r) de las tres muestras. Como se puede apreciar, estas curvas son muy semejantes para los dos tipos de vasijas en todo el intervalo radial, por lo tanto podemos afirmar que las fronteras del contenedor no influyen en la distribución radial de la luz.

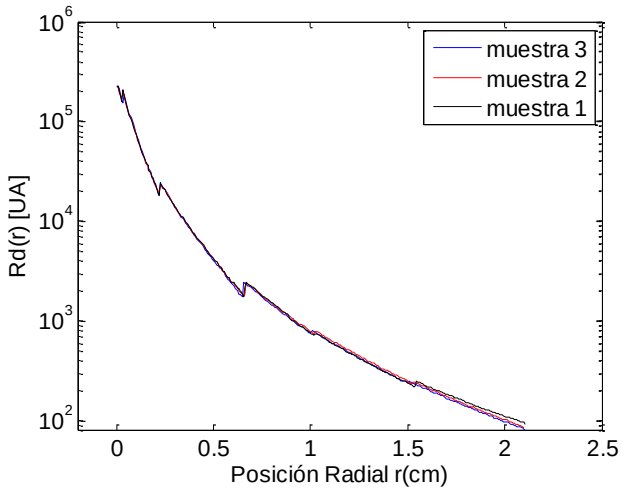

Figura 4.7 Comparación de las curvas Rd(r) de tres muestras con igual coeficiente de esparcimiento reducido en dos vasijas diferentes: muestra 1 (vasija grande); muestra 2 es un subconjunto de la muestra 1 luego de medida (vasija pequeña); y muestra 3 (vasija pequeña).

Aplicando posteriormente el algoritmo propuesto para determinar el factor de escala de la instalación de video reflectometría en la condición experimental (a) es decir para h_0=17.5 cm, y procediendo con la metodología propuesta en el epígrafe 4.4.1, se determinó las propiedades ópticas de las tres muestras cuyos resultados se muestran en la tabla 4.3. Como se puede apreciar, éstas son muy semejantes entre sí, confirmándose que las propiedades ópticas extraídas con ambos recipientes se encuentran dentro de los valores presentados en el análisis estadístico mostrado en la tabla 4.5, y por tanto el error de extracción para el coeficiente de esparcimiento reducido respecto de van Staveren *et al.* [13], se mantiene en el mismo orden de magnitud.

TABLA 4.3 Valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraído con nuestro algoritmo e instalación de video reflectometría, en tres muestras con igual coeficiente de esparcimiento reducido contenidas en dos vasijas de diferentes dimensiones.

K=18769	PO extraídas			Error respecto de van Staveren *et al.*
μ_s'=11.44 (cm^{-1})	μ'_t (cm^{-1})	μ_{eff} (cm^{-1})	μ_a (cm^{-1})	E(μ_s') %
Muestra 1	7.75	0.1384	0.0008	32.28
Muestra 2	7.34	0.0000	0.0000	35.84
Muestra 3	7.70	0.1196	0.0006	32.72

4.4. EXTRACCIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS

En este epígrafe se presenta el análisis estadístico de la extracción de las propiedades ópticas de phantoms líquidos preparados a base de intralípido-10% y procesados de acuerdo al algoritmo de extracción desarrollado en este trabajo de tesis. El análisis abarca la comparación de las extracciones de las PO efectuadas en diferentes ocasiones manteniendo la metodología de preparación de los phantoms y el método de extracción. Se reporta además los resultados cuando las condiciones geométricas fueron variadas a voluntad para investigar la influencia de factores geométricos en las PO extraídas.

También se presenta un estudio comparativo de la determinación de las propiedades ópticas de estos phantoms líquidos mediante la técnica de Video Reflectometria y la técnica de Dos Esferas Integradoras, que a su vez son comparadas con las propiedades ópticas de estos phantoms determinados con la formulación de van Staveren *et al.* [13]. Se aborda además la variabilidad de las PO del intralípido10-% de acuerdo a lo reportado por varios autores.

4.4.1 Phantoms líquidos

En esta tesis doctoral se estudiaron en general seis phantoms líquidos a base de Lipofundin-10% (BRAUN) preparados con coeficientes de esparcimiento según la formulación de van Staveren *et al.* [13] (capítulo 2).

Éstas fueron elaboradas en vasijas plásticas de 7 cm de diámetro por 4 cm de alto, conteniendo diferentes proporciones del intralípido-10% (Vint) hasta completar un volumen total de 112 ml con la proporción correspondiente de agua destilada (VH_2O). Los parámetros ópticos hallados para estos modelos de tejidos se muestran en la tabla 4.4. Éstos fueron calculados en la longitud de onda de 633 nm, en donde se consideró sólo el coeficiente de absorción del agua igual a 0.0029 cm^{-1} [14], el índice de refracción n igual a 1.4 [13], y el factor de anisotropía g igual a 0.7329 [13].

Los phantoms que se estudiaron con una estadística significativa para la extracción de los parámetros ópticos, fueron las muestras 1, 2 y 3 de la tabla 4.4. A continuación se describe el procedimiento seguido para la extracción de los PO de las muestras de estudio:

1. Determinación del factor de escala K de la instalación experimental, tal como se explicó en el epígrafe 4.1, y teniendo en cuenta cuatro curvas promedios Rd(r) para el teflón: dos antes de medir a las muestras, y dos al final de las mediciones de estas muestras. Se seleccionó el factor de escala Ki tal que cumpliera la condición que el error de extracción de μ_s' fuera el menor.

2. Se construyeron cinco curvas de reflexión difusa para cada muestra, y a la curva promedio resultante Rd(r) se le aplicó el procedimiento del ajuste no lineal con la curva analítica multiplicada por el factor de escala K, determinándose los parámetros ópticos involucrados: el coeficiente de interacción total μ_t' y el coeficiente de atenuación efectivo μ_{eff} los cuales conducen a los cálculos de los coeficientes de esparcimiento reducido μ_s' y de absorción μ_a (a través de las ecuaciones 2.16 y 2.18), que para el caso particular de estos phantoms como el coeficiente de absorción es tan pequeño entonces μ_t' es igual a μ_s'. El ajuste se realizó en la distancia radial 0.5 cm < r < 2 cm, el cual coincide con el uso de los filtros de DO= 0, 0.5 y 1.

3. El procedimiento de ajuste no lineal se realizó a través de la ventana de ajuste de curvas no lineales implementado en MATLAB®R2006a (Curve Fitting Tool), utilizando el algoritmo Trust Region [15].

TABLA 4.4 Parámetros ópticos de los phantoms calculados en λ=633 nm y para un volumen total de 112 ml conteniendo 10, 15, 20, 25, 30 o 35 ml de Lipofundin-10% (Vint), según la formulación de van Staveren *et al.* [13].

No. muestra	Vint (ml)	VH_2O (ml)	μ_s (cm^{-1})	μ_s' (cm^{-1})	μ_t' (cm^{-1})	μ_{eff} (cm^{-1})	mfp' (cm)
1	10	102	42.81	11.44	11.44	0.32	0.087
2	15	97	64.21	17.15	17.15	0.39	0.058
3	20	92	85.62	22.87	22.87	0.45	0.044
4	25	87	107.02	28.59	28.59	0.50	0.035
5	30	82	128.43	34.31	34.31	0.55	0.029
6	35	77	149.83	40.02	40.02	0.59	0.025

En la tabla 4.5 se presenta el análisis estadístico de los parámetros ópticos extraídos en diferentes ocasiones (desde noviembre de 2011 a febrero de 2012) con el valor correspondiente del factor de escala K de la instalación experimental. Según el caso, se reportan los resultados cuando se cambiaron las condiciones geométricas para investigar la influencia de factores geométricos en las PO extraídas, es decir la condición (a) la CCD colocada a una altura h_0 igual a 17.5 cm de la superficie de la muestra, y la condición (b) la CCD colocada a una altura $h_0 + \Delta = 30.6$ cm.

Como se observa en la tabla 4.5, la desviación estándar relativa en la extracción del coeficiente de interacción total μ'_t es del orden de 1% para la muestra con menor volumen de esparcidores (10 ml IL-10%), y es menor a un 4% para el resto de la muestras. Sin embargo con el algoritmo propuesto no es posible recuperar el coeficiente de atenuación efectivo, y por tanto tampoco el coeficiente de absorción de las muestras en el que supusimos constante y aproximadamente igual a $0.0029 cm^{-1}$, además que no hay repetibilidad en los resultados para estos coeficientes. No obstante, el método propuesto para la extracción del coeficiente de esparcimiento

reducido es robusto porque la repetibilidad de la extracción de este parámetro óptico es alta para los tres phantoms estudiados.

TABLA 4.5 Análisis estadístico de los parámetros ópticos extraídos de phantoms líquidos en distintas ocasiones y procesados de acuerdo al algoritmo de extracción desarrollado.

muestra 1 (10 ml IL-10% + 102 ml H_2O)				
Fecha	**Valor de K**	**μ'_t (cm^{-1})**	**μ_{eff} (cm^{-1})**	**μ_a (cm^{-1})**
17-11-11	(a) K=18461	7.92	0.2375	0.0024
05-12-11	(a) K=18123	7.99	0.2066	0.0018
	(b) K=18603	7.88	0.2283	0.0022
26-01-12	(a) K=18266	7.92	0.1333	0.0007
	(b) K=18820	7.78	0.1582	0.0011
27-01-12	(a) K=18233	7.81	0.1236	0.0007
	(b) K=19125	7.78	0.1562	0.0010
07-02-12	(a) K=18526			
	V_1^a	7.94	0.2261	0.0021
	V_2^b	7.99	0.2245	0.0021
PROMEDIO		7.89±0.08	0.1883±0.0451	0.0016±0.0007
σ relativa		1.07%	23.95%	42.88%
muestra 2 (15 ml IL-10% + 97 ml H_2O)				
21-09-11	(a) K=20656	11.18	0.5053	0.0076
17-11-11	(a) K=18461	10.73	0.5937	0.0109
05-12-11	(a) K=18123	10.60	0.6048	0.0115
	(b) K=18603	10.29	0.6018	0.0117
26-01-12	(a) K=18266	10.07	0.6039	0.0121
	(b) K=18820	10.53	0.5791	0.0106
27-01-12	(a) K=18233	9.93	0.6106	0.0125
	(b) K=19125	9.95	0.6087	0.0124
07-02-12	(a) K=18526			
	V_1^a	10.58	0.5921	0.0110
	V_2^b	10.41	0.6082	0.0118
PROMEDIO		10.44±0.39	0.5908±0.0316	0.0112±0.0014
σ relativa		3.70%	5.35%	12.5%
muestra 3 (20 ml IL-10% + 92 ml H_2O)				
21-09-11	(a) K=20656	16.56	0.3966	0.0032
17-11-11	(a) K=18461	15.52	0.5358	0.0062
07-02-12	(a) K=18526			
	V_1^a	15.55	0.5114	0.0056
	V_2^b	15.21	0.5618	0.0069
PROMEDIO		15.71±0.59	0.5014±0.0728	0.0055±0.0016
σ relativa		3.74%	14.53%	29.35%

a y b: se refiere a dos vasijas iguales preparadas el mismo día con el mismo phantom.

4.4.2 Análisis de los resultados

a) Comparación con IAD y van Staveren

A continuación se presenta un estudio comparativo de la extracción de las propiedades ópticas de phantoms líquidos mediante la técnica de Video reflectometria y la técnica de Dos Esferas Integradoras usando IAD, la cual también fue implementada en nuestro laboratorio del GIOB por otros compañeros del grupo. Los resultados obtenidos con ambas técnicas fueron comparados con las propiedades ópticas de estos phantoms determinados con la formulación de van Staveren *et al.* [13].

Este estudio comparativo fue realizado en dos ocasiones y en una única condición experimental (a) h_0=17.5 cm:

1. En la primera ocasión con fecha 17-11-11, se midieron las seis muestras de la tabla 4.4, con las dos técnicas y el mismo día.

2. En la segunda ocasión con fecha 07-02-12, se midieron las tres primeras muestras de la tabla 4.4, pero se prepararon dos de cada una resultando un total de seis muestras a medir con ambas técnicas y el mismo día.

Los resultados se muestran en las tablas 4.6 y 4.7, respectivamente. En estas se reportan las parámetros ópticos (PO) extraídos μ_s' y μ_a con ambas técnicas: Video e IAD. Se muestra además el coeficiente de esparcimiento reducido calculado según la fórmula de van Staveren *et al.* para cada muestra de estudio calculándose el error de extracción del coeficiente de esparcimiento reducido E(μ_s') con ambas técnicas, respecto de dicha formulación.

Como puede observarse, en todas las muestras el coeficiente de esparcimiento reducido extraído con la técnica de video reflectometría es menor que el extraído con el método de IAD, y ambos son menores que los calculados con la formulación de van Staveren. Sin embargo, ninguna de las dos técnicas implementadas en nuestro laboratorio permite determinar adecuadamente el coeficiente de absorción puesto que todas las muestras

deberían tener el mismo valor o al menos encontrase en el mismo orden de magnitud. Finalmente se corroboró que ambas técnicas son sensibles a los cambios del coeficiente de esparcimiento de las muestras, por lo que permiten distinguir las diferencias entre ellas.

TABLA 4.6 Comparación de las propiedades ópticas extraídas (PO) de seis phantoms líquidos diferentes, a base de intralípido-10%, con la técnica de Video reflectometria (Video) y la técnica de Dos Esferas Integradoras (IAD), mostrándose los errores de extracción $E(\mu_s')$ respecto de la formulación de van Staveren *et al.*. Este estudio fue realizado el día 17-11-11.

PO	PO (cm^{-1}) Fórmula Staveren	PO (cm^{-1}) extraída Video	PO (cm^{-1}) extraída IAD	$E(\mu_s')$% IAD respecto Staveren	$E(\mu_s')$ % Video respecto Staveren
muestra 1 (10 ml IL-10%)					
μ'_s	11.44	7.92	10.19	10.93	30.77
μ_a		0.0024	0.1265		
muestra 2 (15 ml IL-10%)					
μ'_s	17.15	10.73	13.94	18.72	37.43
μ_a		0.0109	0.0031		
muestra 3 (20 ml IL-10%)					
μ'_s	22.87	15.52	21.34	6.69	32.14
μ_a		0.0062	0.0409		
muestra 4 (25 ml IL-10%)					
μ'_s	28.59	20.63	23.20	18.85	27.84
μ_a		0.0032	0.1604		
muestra 5 (30 ml IL-10%)					
μ'_s	34.31	24.19	27.37	20.23	29.50
μ_a		0.0032	0.0085		
muestra 6 (35 ml IL-10%)					
μ'_s	40.02	27.89	31.90	20.29	30.31
μ_a		0.0026	0.0252		

Si solamente prestamos atención a los errores de extracción de la técnica de video reflectometria respecto de la formulación de van Staveren en todas las muestras 1, 2 y 3 de ambas tablas, vemos que se mantiene casi constante y en promedio es de un 33%, además se observa una repetibilidad en cuanto al parámetro óptico extraído para las muestras de estudio. Esto condujo al análisis de encontrar un factor de escalado (FE) entre el

coeficiente de esparcimiento reducido medido y el que se debe reportar si suponemos que en una primera aproximación la formulación de van Staveren se cumple para cualquier intralípido-10% usado como elemento esparcidor en la preparación de phantoms líquidos.

TABLA 4.7 Comparación de las propiedades ópticas extraídas (PO) de tres phantoms líquidos diferentes a base de IL-10% (dos de cada una), con la técnica de Video reflectometria (Video) y la técnica de Dos Esferas Integradoras (IAD), mostrándose los errores de extracción E(μ_s') respecto de la formulación de van Staveren *et al.* [13]. Este estudio fue realizado el día 07-02-12.

PO	PO (cm^{-1}) Fórmula Staveren	PO (cm^{-1}) extraída Video	PO (cm^{-1}) extraída IAD	E(μ_s')% IAD respecto Staveren	E(μ_s') % Video respecto Staveren
muestra 1_1 (10 ml IL-10%)					
μ'_s	11.44	7.94	9.684	15.38	30.58
μ_a		0.0021	0.0017		
muestra 1_2 (10 ml IL-10%)					
μ'_s	11.44	7.99	9.867	13.72	30.15
μ_a		0.0021	0.0180		
muestra 2_1 (15 ml IL-10%)					
μ'_s	17.15	10.58	14.653	14.58	38.31
μ_a		0.0110	0.0082		
muestra 2_2 (15 ml IL-10%)					
μ'_s	17.15	10.41	14.089	17.84	39.30
μ_a		0.0118	0.000		
muestra 3_1 (20 ml IL-10%)					
μ'_s	22.87	15.21	18.890	17.45	32.01
μ_a		0.0069	0.0148		
muestra 3_2 (20 ml IL-10%)					
μ'_s	22.87	15.52	21.340	17.40	33.49
μ_a		0.0062	0.0409		

El error de extracción *E* se calcula a través de la siguiente expresión:

$$E = \left(\frac{\mu_{sv}' - \mu_{sE}'}{\mu_{sv}'} \right) * 100 \qquad (4.2)$$

donde: μ_{sv}' es el valor del coeficiente de esparcimiento reducido verdadero (en este caso considerando a la formulación de van Staveren *et al.* [13] como

el valor verdadero); y μ_{sE}' es el valor del coeficiente de esparcimiento reducido extraído con la técnica de video reflectometría.

Si consideramos que el error *E* ≈ constante, entonces se podría calcular el valor del coeficiente de esparcimiento reducido a través de la siguiente relación:

$$\mu_{sE}' = FE * \mu_{sv}' \tag{4.3}$$

donde FE es el factor de escalado:

$$FE = (1 - \frac{E}{100}) \tag{4.4}$$

Entonces aplicando las fórmulas 4.3 y 4.4 con los valores correspondientes reportados en las tablas 4.6 y 4.7 se obtienen los valores de los coeficientes de esparcimiento reducido corregidos cuyos resultados se muestran en la tabla 4.8. Como se observa, éstos se calcularon para un factor de escalado promedio igual a 0.66, lo que condujo a que los errores disminuyeran notablemente.

En la figura 4.8 se muestra gráficamente los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraídos con ambas técnicas respecto de los valores calculados según la fórmula empírica de van Staveren *et al.* [13], mostrándose además los valores corregidos para este coeficiente según el factor de escalado propuesto con la técnica de video reflectometría.

Hasta aquí, el hecho de asumir que la expresión de van Staveren *et al.* para $\mu_s(\lambda)$ y $g(\lambda)$ [13] deducida para el Intralípido-10% de la firma Kabivitrum, Stockholm es cierta para el Lipofundin-10% de la firma Braun nos conduce a aceptar que el método de extracción propuesto para la instalación desarrollada tiene un error sistemático que puede ser corregido con las expresiones 4.3 y 4.4. Sin embargo, como veremos en el próximo epígrafe no es totalmente adecuado asumir como válida las propiedades ópticas derivadas por van Staveren *et al.* para describir al Lipofundin-10% de la firma Braun.

TABLA 4.8 Valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraído y el que se debe reportar (corregido) a través del cálculo del factor de escalo FE. Hemos supuesto que en primera aproximación los PO calculados con la formulación de van Staveren *et al.* [13] es válida para cualquier intralípido-10% usado en la preparación de phantoms líquidos.

PO	PO (cm^{-1}) Staveren	PO (cm^{-1}) extraída	E(μ_s') %	FE	μ'_s Corregido para FE=0.66	Error % μ_s' corregido
muestra 1						
μ_s'	11.44	7.94	30.58		**12.05**	**-5.29**
		7.99	30.15			
		7.92	30.73			
valor promedio		**7.95**	**31**	**0.69**		
muestra 2						
μ_s'	17.15	10.58	38.31		**16.02**	**6.62**
		10.41	39.30			
		10.73	37.43			
valor promedio		**10.57**	**38**	**0.62**		
muestra 3						
μ_s'	22.87	15.65	32.01		**23.42**	**-2.42**
		15.21	33.49			
		15.52	32.14			
valor promedio		**15.46**	**33**	**0.67**		
Factor de escalado promedio FE				**0.66**		

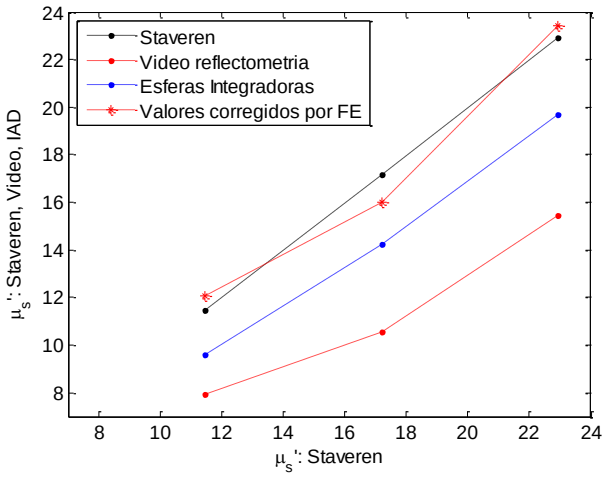

Figura 4.8 Valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraídos con la técnica de Video reflectometria e IAD respecto de los calculados según formulación de van Staveren, mostrándose además los valores corregidos para este coeficiente según el factor de escalado propuesto para la técnica de video reflectometría.

b) Variabilidad de las propiedades ópticas del Intralípido-10%

En el capítulo 2 de esta tesis doctoral se dedicó un epígrafe sobre el estudio realizado por van Staveren *et al.* [13] acerca de la dependencia

espectral del esparcimiento y del factor de anisotropía para una suspensión de Intralípido-10%, de la firma Kabivitrum, Stockholm. Un año posterior a esa publicación (1992), Flock *et al.* [16] publicaron la dependencia también espectral de estos coeficientes y para el mismo tipo de intralípido-10% (Kabivitrum Inc., California and Stockholm). Las diferencias espectrales entre los resultados de ambas publicaciones son mostradas en la página web de Jacques [17] donde además incluye las PO obtenidas por él pero para una sola longitud de onda (543.5 nm). Estas dependencias fueron resumidas por Jacques como sigue:

Según Flock *et al.* [16]:

$$\mu_s = (1.17 \times 10^9) * (nm^{-2.33}) \; [cm^{-1}] \quad (4.5)$$

$$g = 2.25 *(nm)^{-0.155} \quad (4.6)$$

Según van Staveren *et al.* [13]*:*

$$\mu_s = (2.54 \times 10^9) * (nm^{-2.4}) \; [cm^{-1}] \quad (4.7)$$

$$g = 1.1 - (0.58 \times 10^{-3}) *(nm) \quad (4.8)$$

Programando las fórmulas de la 4.5 a la 4.8 en el lenguaje de programación MATLAB®R2006a, en el intervalo espectral en que son válidas, podemos reproducir los gráficos para el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s', e incluir este coeficiente calculado según Jacques [17] en 543.5 nm, tal como se muestra en la figura 4.9.

Como se observa en esta figura, existen diferencias significativas entre los resultados reportados en cada trabajo, confirmándose una vez más que aunque el esparcimiento de los intralípidos puede ser semejante al esparcimiento de los tejidos biológicos, no constituyen un estándar óptico porque sus propiedades ópticas pueden variar entre los frascos de hasta una misma firma comercial, en este caso fue el Kabivitrum Inc., California and Stockholm. Por tal razón Jacques explica en su publicación [17] que es necesario documentar las propiedades ópticas del intralípido utilizado en un experimento y describir la técnica de medición usada para determinarlos.

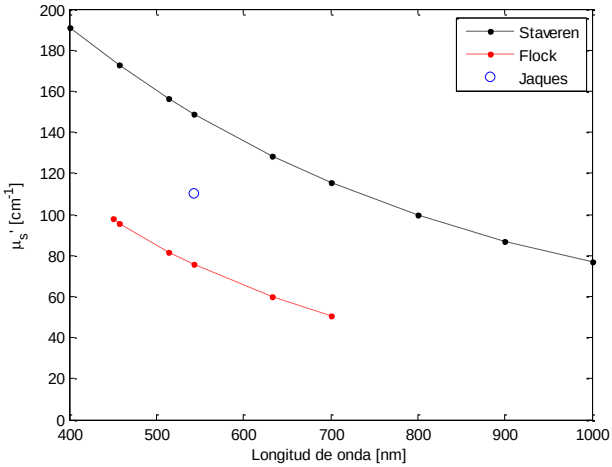

Figura 4.9 Dependencia espectral del coeficiente de esparcimiento reducido del Intralipido-10% según van Staveren *et al.* [13], Flock *et al.* [16], y el valor obtenido en λ=543.5 nm según Jaques [17].

De esta figura se puede apreciar que el error relativo E(μ_s') obtenido por Jacques es aproximadamente igual a un 26%, mientras que el obtenido por Flock *et al.* es aproximadamente igual a un 49%, respecto de van Staveren.

Realizando los cálculos de μ_s' en λ=632.8 nm con ambas formulaciones (4.5-4.8) y teniendo en cuenta la concentración usada en las tres primeras muestras de la tabla 4.4: c_1= 10ml/112ml, c_2=15ml/112ml y c_3=20ml/112ml, observamos que los valores promedios extraídos con nuestro algoritmo e instalación experimental (reportados en la tabla 4.8), son mayores que los calculados con la fórmula de Flock *et al.* [16] y menores que los calculados con la de van Staveren *et al.* [13], como se puede observar en la tabla 4.9.

TABLA 4.9 Comparación de los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraído con nuestro algoritmo e instalación de video reflectometría, en tres phantoms líquidos, con respecto a los calculados según van Staveren *et al.*, y Flock *et al.*.

Concentración phantoms líquidos	**μ'$_s$ (cm^{-1}) Staveren *et al.* [13]**	**μ'$_s$ (cm^{-1}) Extraída Video**	**μ'$_s$ (cm^{-1}) Flock *et al.* [16]**
C_1=10ml/112ml	11.46	7.95	5.34
C_2=15ml/112ml	17.19	10.57	8.01
C3=20ml/112ml	22.92	15.46	10.69

De lo que hemos explicado, observamos que en la literatura revisada existe variabilidad respecto de las propiedades ópticas de phantoms a base

de Intralípidos 10-%, por lo que no es válido suponer que la formulación de van Staveren *et al.* se cumple para cualquier tipo de intralípido-10% adquirido comercialmente y luego usado como elemento esparcidor en la preparación de phantoms líquidos. Podemos concluir que el coeficiente de esparcimiento reducido determinado con nuestro algoritmo e instalación experimental para los phantoms preparados con las concentraciones anteriormente descritas, pudiera ser correcto ya que de forma semejante al valor reportado por Jaques, el nuestro se encuentra entre los valores calculados por la fórmula de Flock *et al.* y van Staveren *et al.*.

4.5 CONCLUSIONES

Ha sido propuesto y evaluado satisfactoriamente un algoritmo relativamente simple para la determinación del factor de escala de una instalación experimental típica de video reflectometría. El algoritmo fue basado en el uso de un disco de teflón.

Se propuso un método para extraer el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' el cual fue probado para phantoms líquidos (a base de Lipofundin-10%). Se demostró que es un método robusto dada la alta repetibilidad obtenida en la extracción de dicho coeficiente.

La comparación del valor determinado del coeficiente de esparcimiento reducido con los valores esperados según las fórmulas reportadas en la literatura (van Staveren *et al.* y Flock *et al.*), nos permiten asumir que los valores determinados pudieran ser correctos ya que quedan enmarcados en el amplio rango de variabilidad que existen entre las soluciones de intralípidos de una misma firma productora.

Se corroboró que las fronteras del contenedor habitualmente usado para preparar las muestras de estudio, no influyen en la distribución radial de la luz, con nuestra instalación experimental.

Durante el experimento pueden cometerse errores de hasta 1mm en la colocación del plano de enfoque de la CCD sobre la superficie de las

muestras. Nuestros resultados indican que estos errores solamente afectan las curvas de reflexión difusa resuelta radialmente en menos de un 2%, no encontrándose diferencias significativas entre los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraídos cuando ocurre tal desenfoque.

REFERENCIAS

[1] A. Kienle, M.S. Patterson, L. Ott, and R. Steiner, “Determination of the scattering coefficient and the anisotropy factor from laser Doppler spectra of liquids including blood”. Appl.Opt. 35, 3404–3412 (1996).

[2] Q. Li, “Light Scattering of Semitransparent Media”. Thesis for the Degree Master of Science in the School of Mechanical Engineering. Georgia Institute of Technology. May 2008.

[3] V.R. Weidner, J.J. Hsia, and B. Adams, "Laboratory Intercomparison Study of Pressed Polytetrafluoroethylene Powder Reflectance Standards," Applied Optics 24, 2225-2230 (1985).

[4] V.R. Weidner, and J.J. Hsia, "Reflection Properties of Pressed Polytetrafluoroethylene Powder," *Journal of Optical Society of America*, A, 71, 856-861 (1981).

[5] http://www.grupolbo.com/lbo.htm, Grupo LBO Metalero de Puebla.

[6] S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert and A. Welch, “Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method”, Applied Optics 32, 559-568 (1993).

[7] http://omlc.ogi.edu/software/iad/index.html, Inverse Adding-Doubling by Scott Prahl (2012).

[8] www.goodfellow.com, Politetrafluoretileno, Goodfellow Corporation 2012.

[9] T. J. Farrell, M. S. Patterson and B. Wilson, “A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties *in vivo*”, Med. Phys. 19, 879-888 (1992).

[10] M. P. Doornbos, R. Lang, M. C. Aalders, F. W. Cross, and H. J. C. M. Sterenborg, “The determination of in vivo human tissue optical properties and absolute chromophore concentrations using spatially resolved steady state diffuse reflectance spectroscopy,” Phys. Med. Biol. 44, 967-981 (1999).

[11] L. Wang, S. L. Jacques and L. Zheng, “MCML-Monte Carlo modeling of light transport in multi layered tissues,” Computers Methods and Programs in

Biomedicine 47, 131-146 (1995).

[12] Cunill-Rodríguez, M., Delgado-Atencio, J.A., Vázquez-Montiel, S., and Morales-Cruzado, B., “Determining the Scale Factor of a Video-Reflectometry Set-Up”. Aceptado para su publicación: In AIP Conference Proceeding, 2012.

[13] H. J. van Staveren, C. J. M. Moes, J. van Marle, S. A. Prahl, and M. J. C.van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of400-1100 nm," Appl. Opt. 30, 4507-4514 (1991).

[14] G. M. Hale and M. R. Querry, “Optical constants of water in the 200-nm to 200-µm wavelength region,” Appl. Opt. 12, 555–563, (1973).

[15] Curve Fitting Toolbox User’s Guide. COPYRIGHT 2001-2002 by The MathWorks, Inc.

[16] S.T. Flock, S.L. Jacques, B.C. Wilson, W.M Star, M.J.C. van Gemert, "Optical Properties of Intralipid: A phantom medium for light propagation studies," Lasers in Surgery and Medicine, 12, 510-519 (1992).

[17] http://omlc.ogi.edu/spectra/intralipid/index.html, by Steven Jacques, Oregon Medical Laser Center, Optical properties of “Intralipid™”, an aqueous suspension of lipid droplets” (1998).

Capítulo 5

Estudio Experimental del Efecto de la Superficie Rugosa sobre Rd(r)

En este capítulo se presenta un estudio experimental sobre el efecto de la rugosidad en las curvas de reflexión difusa resuelta radialmente Rd(r) mediante la técnica de video reflectometría, en muestras de imitadores de tejidos humanos (phantoms gelatinosos) con propiedades ópticas semejantes a la dermis de la piel humana, y con una interfase rugosa con relación al medio ambiente lograda con una lija de tela, la cual imprime una rugosidad superficial promedio de aproximadamente 1µm. Se brinda el procedimiento usado para inducir esta rugosidad en las superficies de las muestras de estudio, cuyo valor fue medido con un perfilómetro óptico, mostrándose además el registro de las imágenes tomográficas de estas superficies para evaluar su homogeneidad.

Se muestran los resultados mediante la comparación entre las curvas de reflexión difusa promedio para la rugosidad básica y la rugosidad inducida para el mismo valor del coeficiente de esparcimiento reducido. Se presentan también, las propiedades ópticas extraídas con el algoritmo que hemos propuesto en esta tesis, para un conjunto de cuatro phantoms con rugosidad superficial básica e inducida. Finalmente, se realiza un análisis comparativo de los resultados experimentales reportados por Sun *et al.* [1] con los

resultados de investigación reportados en este capítulo, dada la semejanza con que fueron determinados los parámetros ópticos con el modelo del dipolo propuesto por Farrell *et al.* [2] basado en la aproximación de la difusión, entre otros aspectos.

5.1 INTRODUCIÓN

En un gran número de publicaciones se han reportado los parámetros ópticos (PO) de la piel en muestras *ex-vivo* o *in-vivo*, usando instrumentación variada, y generalmente despreciando el carácter intrínsecamente rugoso de este órgano [2-4]. También, pero en menor número, desde principios de la década del 2000 se han realizado estudios experimentales sobre la influencia de la rugosidad en la determinación de los parámetros ópticos en los tejidos biológicos, sugiriéndose que la rugosidad superficial se debe tener en cuenta para determinar dichos parámetros [5], por ejemplo Ma *et al*. en el año 2005 [6] reportaron los PO de la dermis de la piel porcina en ocho longitudes de ondas encontrando diferencias cuando éstos se determinan sin considerar la rugosidad. Éstas fueron determinadas con la técnica de dos esferas integradoras. Posteriormente Sun *et al.* en el año 2007 [1] estudiaron el efecto de la superficie rugosa en muestras de tejidos sintéticos sólidos en la determinación de los PO corroborando que existe una dependencia con la rugosidad. Éstos fueron obtenidos mediante la aproximación de la difusión y a partir de la medición de la reflexión difusa resuelta radialmente con el uso de un arreglo de fibras ópticas.

Hasta donde hemos investigado no se han reportado trabajos similares usando la técnica de video reflectometría en la cual una cámara CCD es usada como sistema de detección y registro de la distribución radial de la luz reflejada difusamente Rd(r) por el tejido, cuando sobre éste incide un haz infinitamente fino de luz (ver epígrafe 2.6).

En este epígrafe se presenta un estudio experimental sobre el efecto de la rugosidad en las curvas de reflexión difusa obtenidas con la técnica de video reflectometría implementada en nuestro laboratorio. Este estudio fue realizado en cuatro muestras de phantoms gelatinosos, con propiedades ópticas semejantes a la dermis de la piel humana, para la longitud de onda de 632.8 nm, y con una interfase rugosa con respecto al medio ambiente

inducida con una lija de tela de la marca Fandeli X-86, grano 40, cuya rugosidad promedio es igual a 0.676 mm.

5.1.1 Materiales y métodos

Instalación experimental

Las curvas de reflexión difusa resuelta radialmente Rd(r) fueron obtenidas con la instalación experimental de video reflectometría descrita en los capítulos precedentes (capítulo 2) a partir del registro de la distribución radial de la luz reflejada difusamente Rd(r) mediante una cámara CCD como sistema de detección y los algoritmos computacionales explicados en los capítulos precedentes. Como ya se ha demostrado durante el desarrollo de esta tesis, para utilizar correctamente esta técnica, el tejido debe ser considerado homogéneo y semi-infinito y se debe aplicar el modelo del dipolo propuesto por Farrell *et al.* [2] basado en la aproximación de la difusión, cuya expresión matemática resulta adecuada para explicar la distribución de la luz en el tejido biológico para distancias relativamente lejanas a la fuente y cuando el coeficiente de esparcimiento es superior al coeficiente de absorción.

Preparación de tejidos sintéticos gelatinosos

Con el objetivo de estudiar la repetibilidad de las mediciones, se prepararon cinco conjuntos de cuatro phantoms gelatinosos (figura 5.1) siguiendo la misma metodología. Se empleó para la matriz de los phantoms polvo de agar altamente purificado (MERCK) el cual se disolvió en agua destilada a una concentración de 0.5 g por cada 112 ml de agua destilada. El Lipofundin-10% (BRAUN) fue usado como sustancia para aportar los centros de esparcimiento del phantom habiendo prefijado un volumen del mismo para cuatro valores: 15, 20, 25 y 30 ml.

La matriz de los cuatro phantoms gelatinosos se elaboró con la metodología que se describe seguidamente, aplicado a un volumen total de 470 ml de agua destilada, en los que se tuvo en cuenta una pérdida de 22 ml

por evaporación. Una cantidad de 2.00 g de agar fue diluida previamente en una fracción (74 ml) del volumen total de agua destilada. La cantidad remanente de éste se vertió en un beaker y se puso a calentar hasta que alcanzó el punto de ebullición, momento en que fue retirada del calentamiento hasta que enfrió 10 °C, instante en que se le añadió la solución de agar. Este contenido fue agitado manualmente alrededor de 10 segundos e inmediatamente puesto a calentar en la parrilla (Cimarec) con agitación variable de aproximadamente 90 rpm, hasta que alcanzó la temperatura de ebullición manteniéndola en estado de evaporación durante 2 minutos, garantizando así que se disuelvan todas las partículas de agar. El beaker fue retirado del calentamiento, hasta que alcanzó la temperatura de 70 °C. La matriz de agar fue vertida en cada contenedor plástico hasta que la mezcla entre éste y el Lipofundin-10% alcanzara el nivel de 112 ml. Este nivel se garantiza vertiendo previamente el volumen de la matriz de agar que le corresponde a cada contenedor en una probeta graduada de 100 ml (±1ml). Para lograr la homogeneidad de cada mezcla, éstas fueron agitadas manualmente hasta que su temperatura descendió aproximadamente a 50 °C y finalmente dejada a enfriar a la temperatura del medio ambiente (22 °C) hasta que solidificó (aproximadamente en 4 horas).

Figura 5.1 Fotografía de los phantoms a base de agar (concentración de 0.5g por cada 112 ml de agua destilada) conteniendo 15, 20, 25 y 30 ml de Lipofundin-10%, cuyos coeficientes de esparcimiento reducidos fueron estimados como μ_s'= 17.15, 22.87, 28.59 y 34.31 cm-^{1}, respectivamente.

Estas cuatro muestras tienen aproximadamente los siguientes parámetros ópticos para λ= 632.8 nm (los cuales fueron calculados tal como se explicó en los epígrafes 2.5.1 y 3.1.1 y se muestran en la tabla 3.1): índice de refracción n=1.4; coeficiente de absorción μ_a= 0.0029 cm^{-1}; factor de

anisotropía g= 0.7329; y coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' igual a: 17.15, 22.87, 28.59 y 34.31cm^{-1}, respectivamente.

5.1.2 Procedimiento para imprimir rugosidad adicional en las muestras

Los conjuntos de phantoms gelatinosos explicados en el epígrafe anterior presentan una rugosidad natural debido al modo y proceso de preparación usado, la cual hemos designado como *rugosidad básica* y que denotamos por Rab. A cada uno de los conjuntos preparados, se le imprimió una rugosidad adicional aproximadamente pasada 15 horas de su preparación. Esta rugosidad la llamamos en lo adelante *rugosidad inducida* y la denotamos por Rai. La rugosidad inducida se generó presionando la superficie de los phantoms con un disco de aluminio (diámetro igual a 6 cm) cuyo peso es igual a 118 g, al cual se le pegó una lija de tela de la marca Fandeli X-86, grano 40, tal como se ilustra en la figura 5.2 (a-d). Este disco fue colocado durante 3 minutos sobre cada superficie (figura 5.2 c) para garantizar que la presión ejercida por el peso del disco fuera similar en todas las muestras. Es importante señalar que se imprimió la rugosidad adicional inmediatamente después de haber registrado los valores de la intensidad con la rugosidad básica y sin mover la muestra del espacio donde se realizan las mediciones.

La rugosidad inducida sobre cada superficie fue medida cuantitativamente con el perfilómetro óptico (WYKO) [7], en los dos últimos conjuntos de phantoms, así como también su rugosidad básica para poder determinar las diferencias entre ambas.

El perfilómetro de superficie WYKO, es un perfilómetro óptico de no-contacto que su funcionamiento se basa en la interferometría de la luz blanca para medir las alturas de la superficie. Las franjas de interferencia se producen cuando la luz blanca reflejada de un espejo de referencia se combina con la luz reflejada de la superficie de una muestra usando un lente objetivo de microscopio, ocurriendo las franjas de mejor contraste en la mejor

zona de enfoque. Éste opera en dos modos de trabajo: el modo PSI (de las siglas en inglés *phase shift interference*) el cual se utiliza para medir superficies suaves con pequeños pasos de alturas del orden de 150 nm, y el modo VSI (de las siglas en inglés *vertical shift interference*) que se utiliza para medir superficies rugosas con un paso de altura máxima de 1 mm, siendo esta la distancia vertical mayor que el perfilómetro puede medir con precisión, donde la resolución lateral es del orden de 2 mm^2 [7].

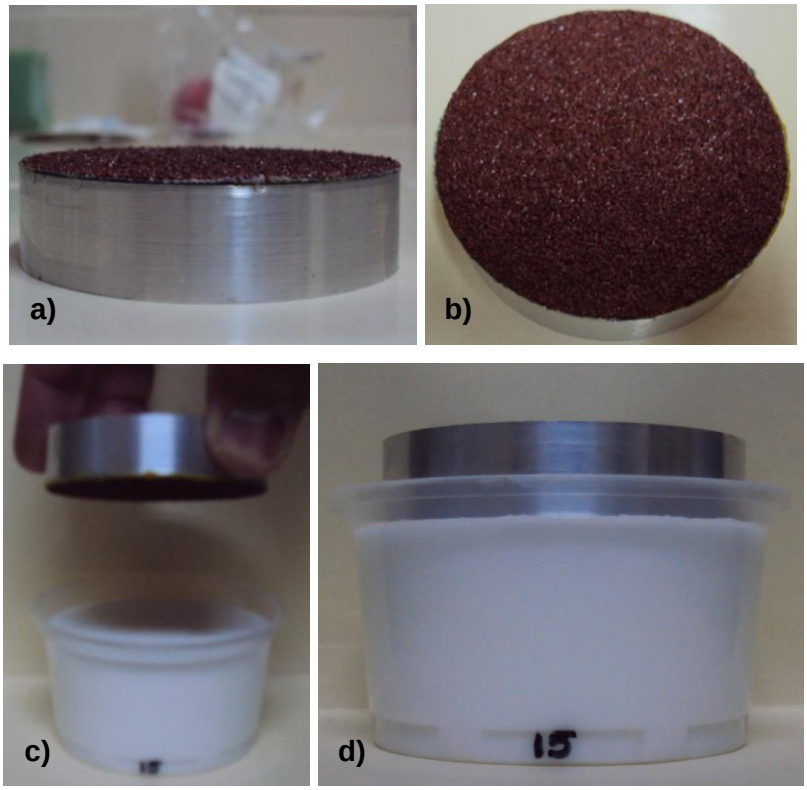

Figura 5.2 Método de impresión de la rugosidad adicional (Rai) en la superficie de los phantoms gelatinosos a base de agar con un disco de aluminio (a) cuyo diámetro es igual a 6 cm y peso igual a 118 g al cual se le pegó una lija de tela de la marca Fandeli X-86, grano 40 (b). Este disco fue colocado durante 3 minutos sobre la superficie (c y d) para garantizar que la presión ejercida por el peso del disco fuera similar en todas las muestras.

Los parámetros estadísticos de la superficie de las muestras medidas que entrega el software que procesa las mediciones realizadas con el perfilómetro, son los siguientes: Rq, es la raíz cuadrática media (RMS) de la rugosidad; Rt, es la distancia vertical entre el punto más alto y el más bajo de la superficie (pico-valle), y por último Ra, que representa el valor promedio

de la rugosidad, siendo éste el valor estadístico que nos interesa para este trabajo porque detecta las variaciones generales en promedio de la altura de la superficie medida relativas a un plano medio de referencia.

Cada superficie de los phantoms fueron medidas en cinco regiones, como se muestra en la figura 5.3 a: una primera región colocada en el centro de la muestra (c) y cuatro regiones desplazando el objetivo del microscopio aproximadamente un cm desde el centro hacia el norte (N), sur (S), oriente (O) y poniente (P), respectivamente. Luego promediamos el valor de Ra de estas cinco regiones, y calculamos el valor promedio de la rugosidad de la superficie de todos los phantoms tanto para la rugosidad básica Rab, como para la inducidad Rai, encontrando que en promedio el intervalo de valores para cada una de ella son los siguientes: 0.14 µm < Rab < 0.21 µm y 0.63 µm < Rai < 1.09 µm. En la figura 5.3 b y c se muestra un ejemplo de la superficie de un phantom con rugosidad natural e inducida, respectivamente, apreciándose a simple vista las diferencias entre ellas. Dos perfiles típicos de una de las cinco regiones escaneada con el perfilómetro óptico con ambas rugosidades se muestran en la figura 5.4 a y b, como se observa es posible medir cuantitativamente los valores de la rugosidad (Ra) y son diferentes aproximadamente en un orden de magnitud.

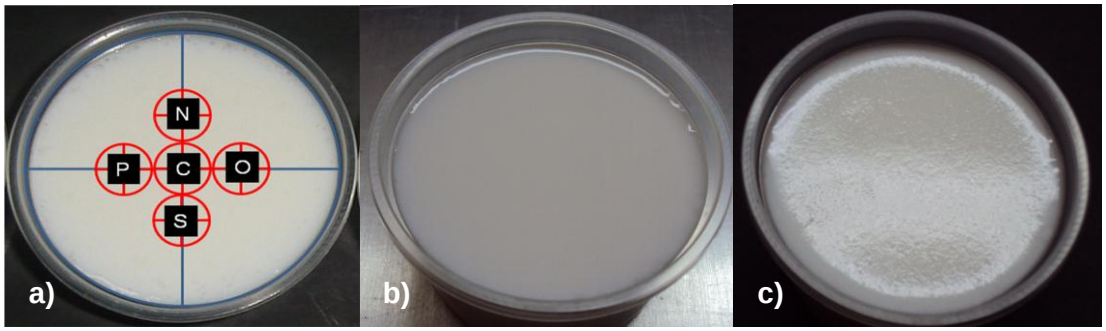

Figura 5.3 a) Regiones medidas en la superficie de los phantoms con el perfilómetro óptico WYKO: en el centro de la muestra (c) y en cuatro regiones desplazando el objetivo del microscopio aproximadamente un cm desde el centro hacia el norte (N), sur (S), oriente (O) y poniente (P), respectivamente. Superficie típica de un phantom a base de agar: b) con rugosidad básica 0.14 µm < Rab < 0.21 µm y c) con rugosidad inducida 0.63 µm < Rai < 1.09 µm.

Previamente, antes de realizar las mediciones de las superficies con el perfilómetro, se midió la rugosidad de la lija con el Spectral Radar OCT [8], siendo en promedio igual a 0.676 mm. Además fueron registradas las imágenes tomográficas de las superficies de las muestras en los tres primeros conjuntos de phantoms, para evaluar su homogeneidad.

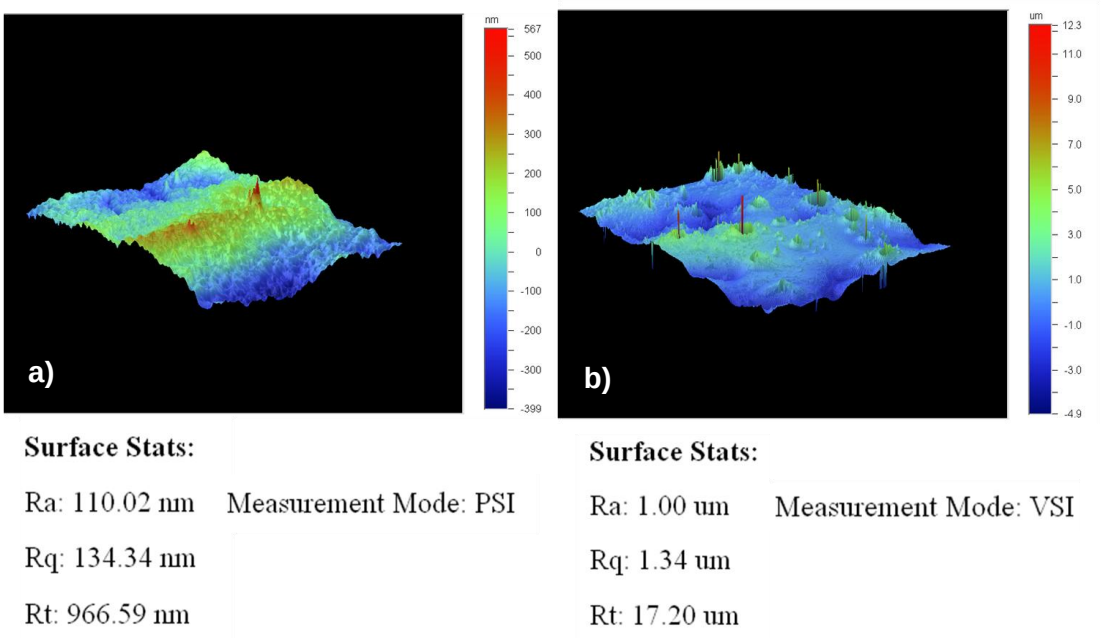

Figura 5.4 Perfiles típicos de la superficie medida con el perfilómetro WYKO, en una de las cinco regiones de un phantom, donde se muestran los valores estadísticos de la rugosidad (Ra,Rq y Rt) así como el modo de medición PSI para la rugosidad básica (a) y para la rugosidad inducida el VSI (b). Se observa que la escala de colores de los valores de la rugosidad es diferente para ambas superficies, la primera está en nanómetros (nm) y la segunda en micrómetros (um).

El Spectral Radar OCT, es un equipo comercial (THORLABS) de Tomografía Óptica Coherente (TOC) cuya fuente de luz es un diodo súper luminiscente que emite en 930 nm, con una potencia típica de 2 mW. Con este equipo se pueden obtener imágenes de alta resolución en tiempo real de medios turbios tales como los tejidos biológicos. Estas imágenes se obtienen debido a la interferencia de las ondas electromagnéticas que provienen de la fuente luminosa de una coherencia limitada, con las ondas electromagnéticas provenientes de la muestra de estudio, basado

fundamentalmente en un interferómetro del tipo Michelson que dispone el equipo para su funcionamiento. Este equipo tiene una resolución axial de 6.2 µm y una profundidad de imagen máxima igual a 1.6 mm [8].

5.1.3 Resultados

La distribución radial de la luz reflejada difusamente en las muestras con rugosidad básica para los cuatro coeficientes de esparcimiento reducido se muestra en la figura 5.5 a, mientras que el resultado de graficar la reflexión difusa en las muestras con la rugosidad adicional (inducida con la lija) para estos mismos coeficientes se presenta en la figura 5.5 b. Tanto para la rugosidad básica como para la inducida se aprecia de la figura 5.5 que la instrumentación implementada y el método de obtención de Rd(r) permite diferenciar las curvas de reflexión difusa para los 4 valores de μ_s' usados. Estos resultados se aprecian en los 5 conjuntos de tejidos sintéticos, omitiéndose las curvas por ser prácticamente iguales.

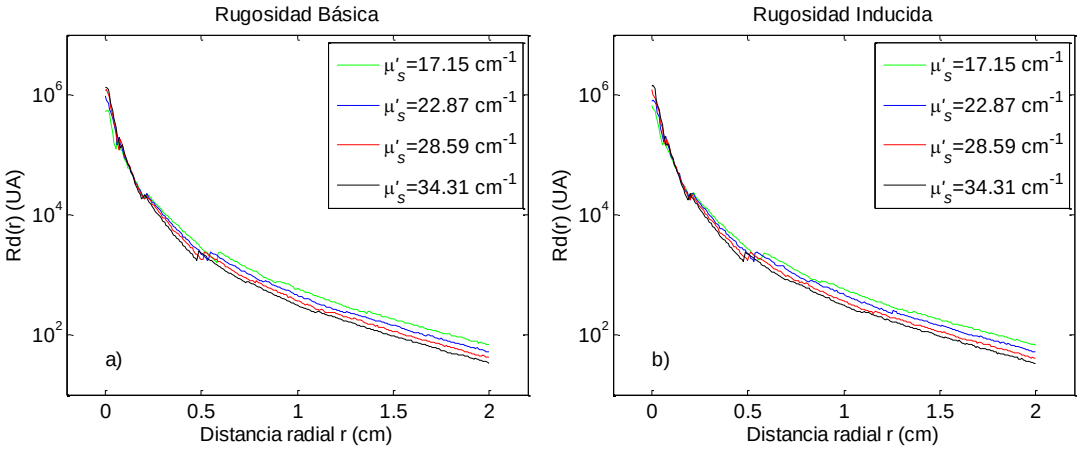

Figura 5.5 Reflexión difusa radial experimental Rd(r) en tejidos sintéticos a base de agar, variando el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s': a) para la rugosidad básica, b) para la rugosidad inducida.

En la figura 5.6 (a-d) se muestra una comparación entre las curvas de reflexión difusa promedio para phantoms con rugosidad básica e inducida para un mismo valor del coeficiente de esparcimiento reducido. Como se puede observar, no se distinguen a simple vista diferencias significativas

entre ellas para ninguno de los cuatro valores del coeficiente de esparcimiento reducido usado. Las curvas para este gráfico fueron seleccionadas del último conjunto de los phantoms preparados, pero se obtienen estos mismos resultados en todos los conjuntos de phantoms estudiados, por lo que se omiten estas curvas por ser muy semejantes.

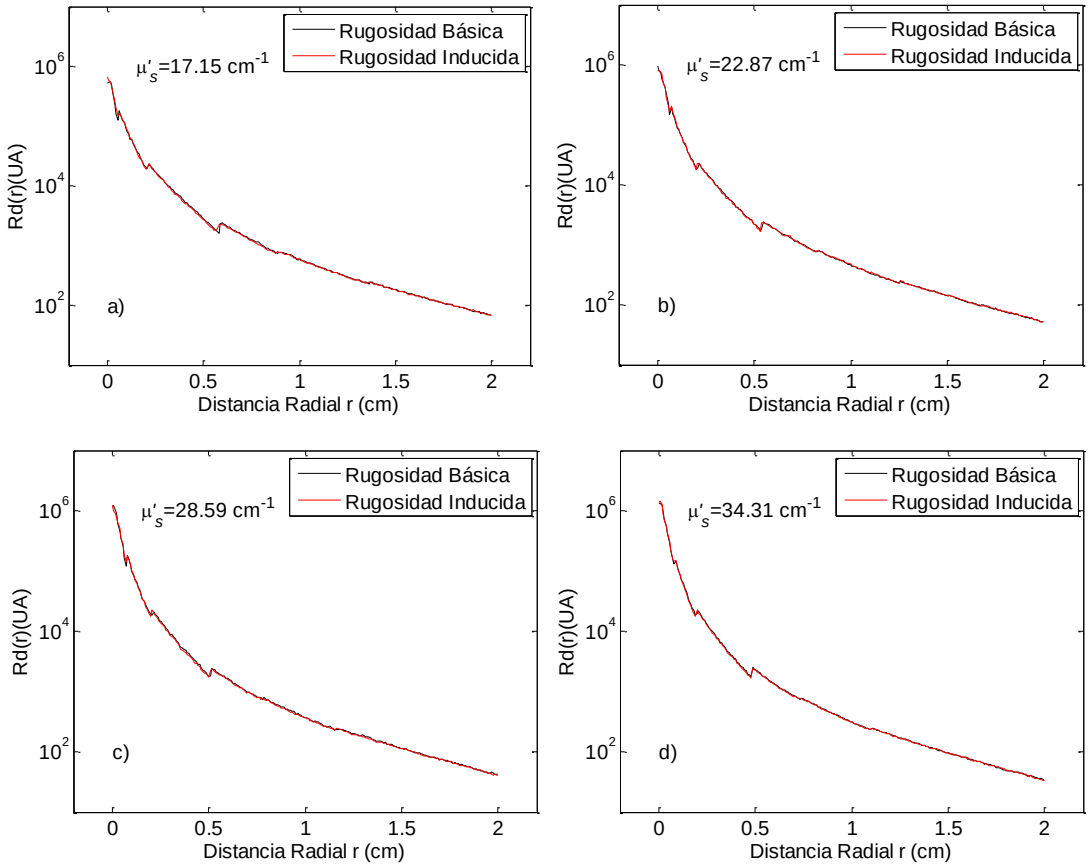

Figura 5.6 Comparación entre las curvas de reflexión difusa promedio con igual coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' con rugosidad básica e inducida: a) μ_s'=17.15cm^{-1}; b) μ_s'=22.87cm^{-1}; c) μ_s'=28.59cm^{-1}; d) μ_s'=34.31cm^{-1}.

En la figura 5.7 (a-d) se muestra las diferencias cuantitativas entre las curvas de reflexión difusa con rugosidad básica e inducida, para los cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento reducido en el intervalo radial desde r_0≈0.5 cm hasta 2 cm. Estas diferencias se expresan como el error relativo de las curvas obtenidas con rugosidad inducida respecto de las obtenidas con rugosidad básica. Se muestra dentro de cada figura, el error

relativo promedio en este intervalo radial, expresado en porciento, corroborándose que no se aprecian diferencias significativas entre ellas, siendo menores que 2.5%. Se debe destacar, que hemos dejado solamente los valores de la reflexión difusa correspondientes al intervalo radial donde fueron usados los filtros de densidad óptica 0, 0.5 y 1 en la instalación experimental, porque como hemos explicado durante el desarrollo de esta tesis el valor experimental de la distancia radial r_0 ideal para aplicar el algoritmo óptimo de ajuste, se encuentra aproximadamente en este intervalo.

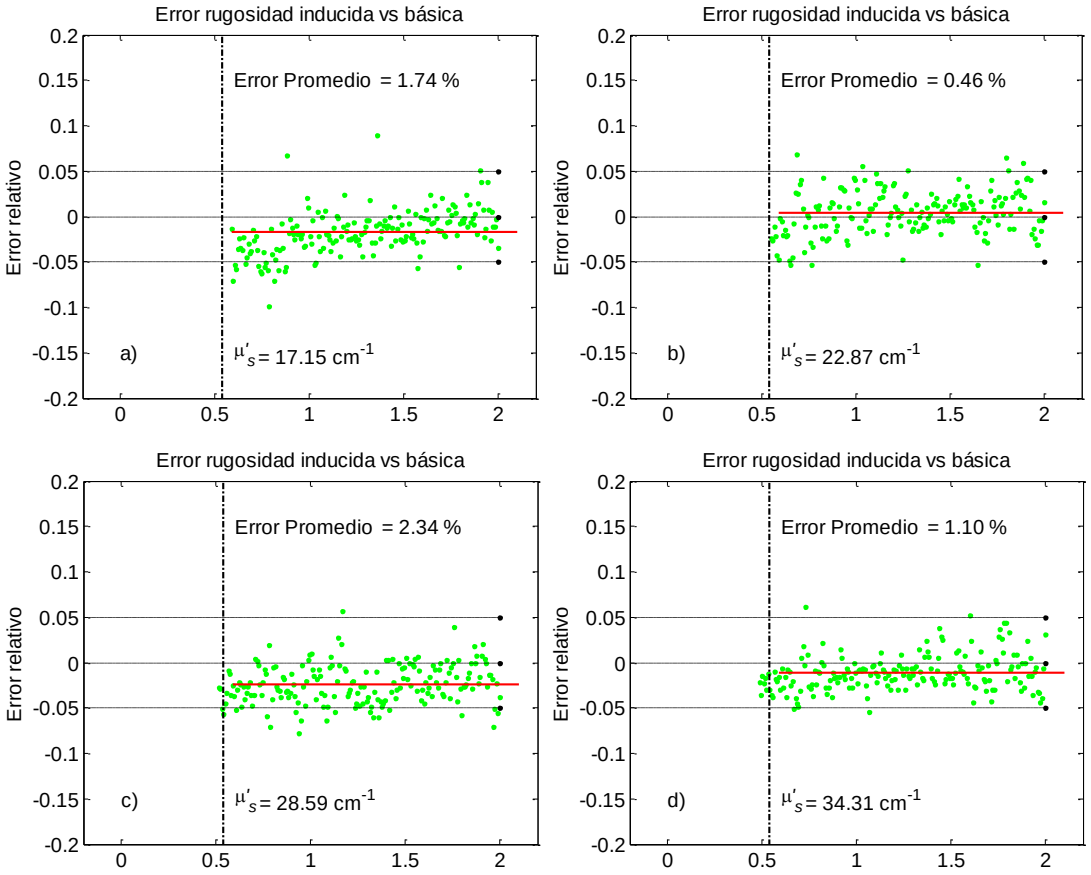

Figura 5.7 (a-d) Diferencias cuantitativas entre las curvas de reflexión difusa con rugosidad básica e inducida, para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento reducido a partir de la posición radial $r_0 \approx 0.5$ cm. Estas diferencias se expresan como el error relativo de las curvas obtenidas con rugosidad inducida respecto de las obtenidas con rugosidad básica. Se muestra el error relativo promedio en este intervalo radial expresado en porciento.

Como se mencionó anteriormente, las diferencias encontradas se obtienen para el último conjunto de los 5 estudiados, pero se encuentran valores promedios de hasta 2.75% en los conjuntos estudiados.

Una imagen típica de la superficie de las muestras tomadas con el Spectral Radar OCT, tanto con rugosidad básica como inducida, se muestra en la figura 5.8 (a y b).

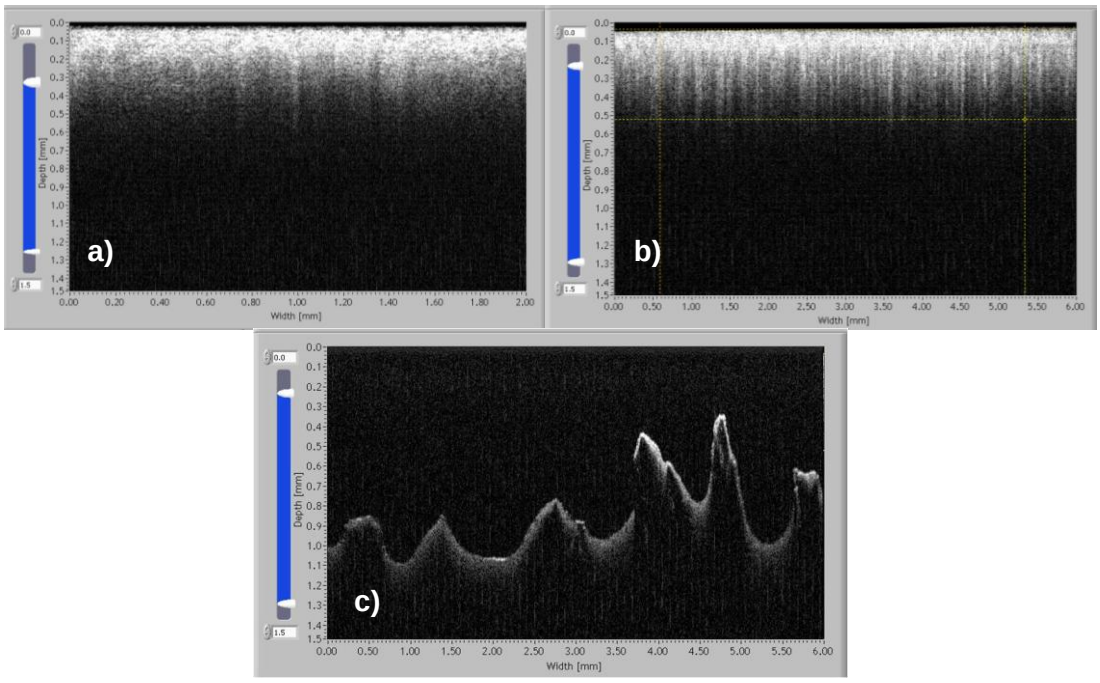

Figura 5.8 Imágenes tomográficas característica de la superficie de las muestras: a) rugosidad básica en un rango lateral de la imagen de 2 mm, b) rugosidad inducida en un rango lateral de la imagen de 6 mm. c) Imagen tomográfica de una región de la superficie del papel de la lija de tela de la marca Fandeli X-86, grano 40 en un rango lateral de la imagen de 6 mm.

En estas imágenes a penas se observan rugosidad superficial por lo que este método no es el indicado para medirlas, no obstante se observa la presencia de inhomogeneidades a una profundidad de hasta 0.6 mm, demostrándose así que mediante la Tomografía Óptica Coherente (TOC) se pueden caracterizar a las muestras en su volumen y que específicamente el método y los materiales usados para la obtención de estos phantoms debe revisarse con vista a evaluar si la homogeneidad volumétrica de los centros de esparcimiento puede ser mejorada y cómo esta inhomogeneidad influye

en las curvas de reflexión difusa medidas. Pero esto será objeto de estudio en trabajos futuros. En esta misma figura 5.8 c se muestra además una imagen tomográfica de una región de la superficie del papel de la lija, donde se aprecia notablemente la rugosidad, por lo que este método fue suficiente para medirla. Se tomaron en total 6 mediciones en la región central, izquierda y derecha del área usada para imprimir la rugosidad en los phantoms, siendo el valor promedio igual a 0.676 mm.

5.2 EXTRACCIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS

En este epígrafe se presentan las propiedades ópticas extraídas con el algoritmo que hemos propuesto en esta tesis, para los cuatro phantoms con rugosidad básica e inducida del epígrafe anterior (último de los 5 conjuntos de phantoms estudiados).

Como ya sabemos, para poder extraer las propiedades ópticas de las muestras de estudio es necesario determinar el factor de escala K de la instalación experimental. Para esto se utilizó un disco de teflón patrón con propiedades ópticas conocidas y aplicando el algoritmo desarrollado en el capítulo 4, se determinó el factor de escala siendo igual a 18376. En la figura 5.9 se muestra el ajuste no lineal de la curva experimental del teflón con el modelo analítico de Farrell *et al.* [2]. Se observa que con este ajuste el valor del coeficiente de interacción total μ_t' obtenido es igual a 28.75 cm^{-1}, por lo que el error de recuperación $E(\mu_t')$ es igual a 1.45%, asumiendo que el valor verdadero es igual a 28.34 cm^{-1}.

En la figura 5.10 se presenta el ajuste no lineal de los datos experimentales con el modelo analítico de Farrell, para las curvas de reflexión difusa obtenidas en los cuatro phantoms con rugosidad básica (a, c, e y g) y con rugosidad inducida (b, d, f y h). Dentro de cada gráfico se muestran las propiedades ópticas “estimadas” (calculadas según la formulación de van Staveren *et al.* [9]) y las extraídas con nuestro algoritmo.

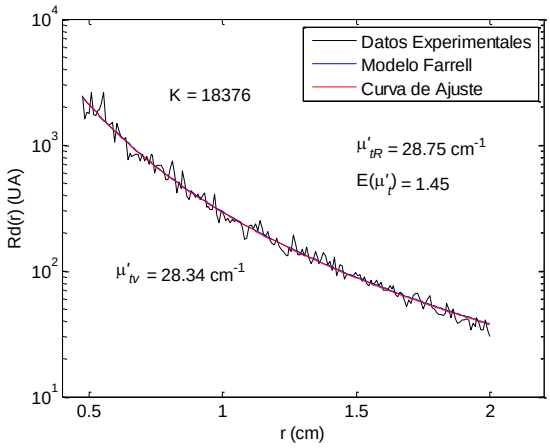

Figura 5.9 Ajuste no lineal de los datos experimentales (curva de reflexión difusa del teflón) a partir de la posición radial $r_0 \approx 0.5$ cm, con el modelo analítico de Farrell para extraer el coeficiente de esparcimiento reducido del teflón. Se muestran las propiedades ópticas verdadera (μ_{tv}') y recuperada (μ_{tR}'), así como el error de recuperación E(μ_t'). Se muestra también el factor de escala de la instalación experimental K.

Si se comparan los valores extraídos en los phantoms con iguales propiedades ópticas, pero con diferentes rugosidad (básica e inducida) se puede ver que ambos coeficientes de interacción total μ_t' se encuentran en el mismo orden de magnitud y son similares entre sí con una tendencia general a ser ligeramente mayor en los phantoms con rugosidad inducida, mientras que para el valor del coeficiente de atenuación efectivo μ_{eff} no es posible compararlos entre sí porque con el algoritmo propuesto no se recupera este coeficiente, y por tanto tampoco el coeficiente de absorción de las muestras en el que supusimos constante y aproximadamente igual a 0.0029cm^{-1}, tal como ocurre en las muestras líquidas estudiadas en el capítulo 4.

En la tabla 5.1 se resumen los resultados de la extracción de los coeficientes de esparcimiento reducido μ_s' y de absorción μ_a de las muestras con rugosidad básica e inducida, donde se incluye además el error relativo de estas magnitudes, respecto del valor obtenido en las muestras con rugosidad básica. Se observa que existen diferencias entre los valores de μ_s' desde un 4% hasta un 11%, salvo en la segunda muestra donde el error es negativo. Con estos resultados no se puede concluir si los coeficientes extraídos en las muestras con rugosidad inducida aproximadamente igual a 1

µm son siempre ligeramente mayores, menores o prácticamente iguales, que los extraídos en las muestras con la rugosidad superficial natural.

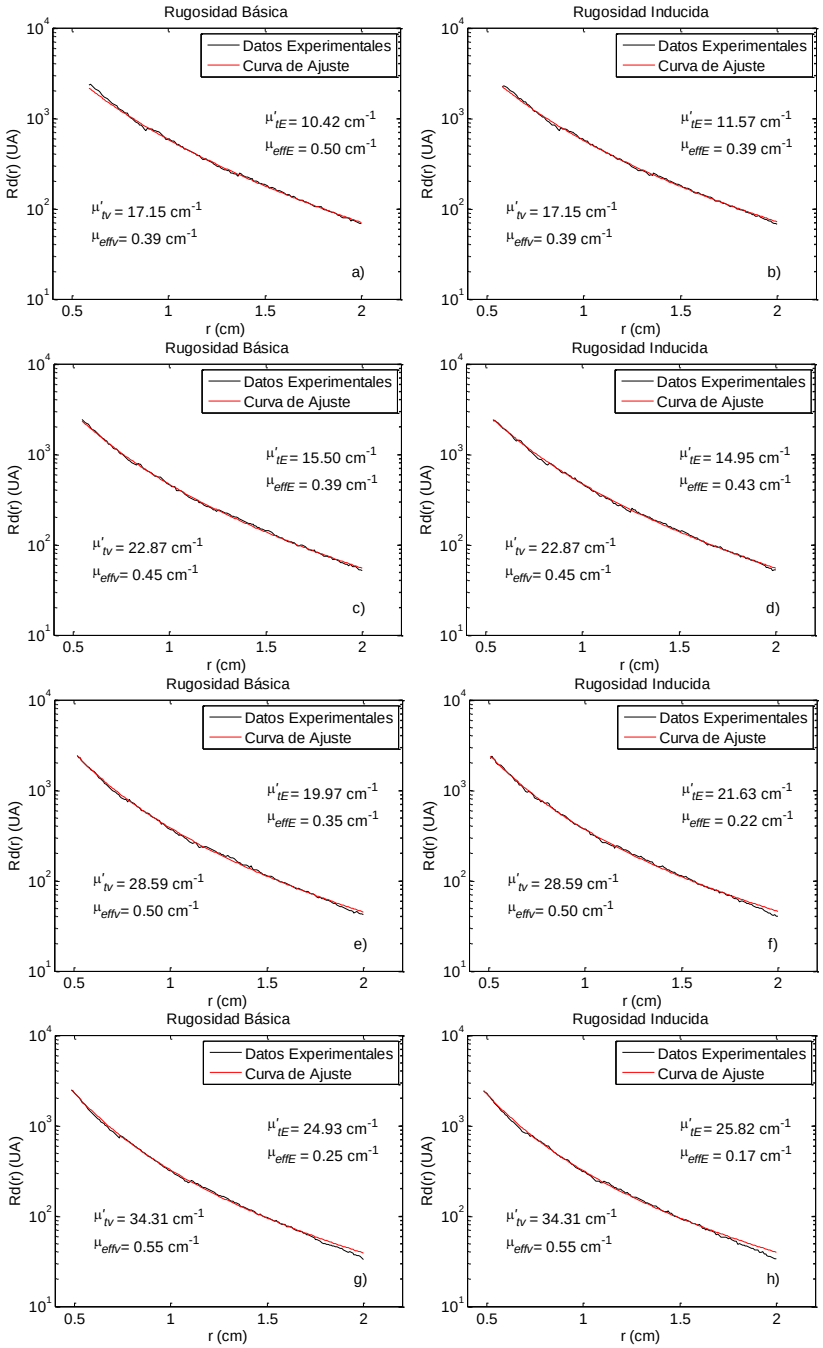

Figura 5.10 Ajuste no lineal de los datos experimentales con el modelo analítico de Farrell a partir de la posición radial $r_0 \approx 0.5$ cm, para las curvas de reflexión difusa de los phantoms (con distintos μ_s') con rugosidad básica (a, c, e y g) y con rugosidad inducida (b, d, f y h). Dentro de cada gráfico se muestran las propiedades ópticas "estimadas" (con subíndice v) y las extraídas (con subíndice E).

Sería necesario realizar el procedimiento descrito en este epígrafe para extraer las propiedades ópticas, al menos 10 veces y obtener un valor estadístico del comportamiento de los coeficientes según la rugosidad superficial de las muestras. Pero esto sería parte de una investigación futura debido a que no se pudo determinar las propiedades ópticas en el resto de los conjuntos porque no se conocían en ese momento las propiedades ópticas del disco de teflón patrón.

Lo que sí podemos asegurar es que los valores extraídos para el coeficiente de esparcimiento reducido en las muestras con rugosidad básica se encuentran dentro del rango de valores obtenidos en las muestras líquidas del capítulo 4 (ver tablas 4.5 y 4.6). Este resultado corrobora que el algoritmo que hemos propuesto es adecuado para extraer el coeficiente de esparcimiento reducido en las muestras usadas en esta tesis, con distintas proporciones de Lipofundin-10%, corroborándose además que el agar a una concentración de 0.5g/112 ml de agua destilada, no contribuye significativamente al proceso de esparcimiento de los phantoms gelatinosos.

TABLA 5.1 Comparación de las propiedades ópticas extraídas en cuatro phantoms a base de agar con diferentes coeficientes de esparcimiento reducido μ_{sv}', y distintas rugosidad superficial (rugosidad básica Rab e inducida Rai) mostrándose los errores relativos E(μ_s') y E(μ_a) respecto de los obtenidos con la rugosidad básica.

μ_{sv}' (Staveren) (cm^{-1})	**PO extraídas (phantoms Rab) (cm^{-1})**		**PO extraídas (phantoms Rai) (cm^{-1})**		**Error relativo PO (Rai respecto Rab) (%)**	
	μ_s'	**μ_a**	**μ_s'**	**μ_a**	**E(μ_s')**	**E(μ_a)**
17.15	10.42	0.0081	11.57	0.0045	11.04	-44.73
22.87	15.50	0.0033	14.95	0.0042	-3.55	26.58
28.59	19.97	0.0020	21.63	0.0007	8.31	-63.39
34.31	24.93	0.0009	25.82	0.0004	3.57	-57.54

5.2.1 Comparación de los resultados con los obtenidos por Sun *et al.* [1]

En este epígrafe haremos un análisis comparativo de los resultados experimentales reportados por Sun *et al.* [1] con los resultados de investigación reportados en este capítulo, dada la semejanza con que fueron obtenidos los parámetros ópticos, entre otros aspectos. Como se comentó en

la introducción, estos autores estudiaron el efecto de la superficie rugosa en tejidos sintéticos sólidos en la determinación de los parámetros ópticos, usando el modelo analítico de Farrell *et al.* [2], encontrando que existe una dependencia de las propiedades ópticas con la rugosidad.

En la tabla 5.2 se muestra una comparación de las características generales reportadas por estos autores con las nuestras, tales como: instalación experimental, tipos de tejidos sintéticos, forma en que se induce la rugosidad, valores de la rugosidad inducida en las superficies de las muestras, modelo analítico usado y los parámetros ópticos de las muestras de estudio.

La dependencia reportada por Sun *et al.* de los coeficientes de esparcimiento reducido μ_s' y de absorción μ_a con la rugosidad de la superficie de las barras de nailon, se muestran en la figura 5.11 a y b, respectivamente, donde hemos adaptado estos gráficos para analizar los resultados. Como se observa el coeficiente de esparcimiento reducido tiende a ser constante e igual a 16.40 cm^{-1} para valores de la rugosidad entre 0.620 µm y aproximadamente 2 µm, y comienza a crecer con el aumento de la rugosidad, alcanzando un valor del orden de 16.90 cm^{-1} para el valor máximo de rugosidad estudiado (3.194 µm). Contrariamente, el coeficiente de absorción disminuye con el aumento de la rugosidad, desde 0.018 cm^{-1} hasta 0.0075 cm^{-1}.

En este artículo no se brinda el valor de la rugosidad natural (Rab) de las barras de nailon y por tanto no fueron determinados los parámetros ópticos μ_s' y μ_a para esta superficie, de modo que si quisiéramos evaluar las diferencias relativas entre las curvas simuladas con el modelo de Farrell Rd(r) obtenidas con una rugosidad inducida por ejemplo igual a 1 µm, respecto de las obtenidas con la rugosidad básica, tendríamos una idea aproximada del valor de esta diferencia y compararlas con nuestros resultados. Sin embargo, el intervalo de rugosidad superficial entre 0.6 y 1

µm coincide con el rango de valores promedios de la rugosidad inducida obtenida en nuestros phantoms a base de agar.

TABLA 5.2 Comparación de las características generales reportadas por Sun *et al.* [1] con este trabajo de investigación.

Características generales	Sun *et al.* [1]	Este trabajo de investigación
Instalación experimental	Medición de Rd(r) mediante un arreglo de fibras ópticas λ=632.8 nm incidencia normal	Medición de Rd(r) con video reflectometría λ=632.8 nm incidencia normal
Tejido sintético	Barra sólida cuadrada de nailon: 7 cm ancho x 7 cm de largo x 4 cm de alto. Único valor de μ_s	Phantoms gelatinosos de agar + IL-10%: 7 cm de diámetro x 4 cm de alto. Varios valores de μ_s
Inducción rugosidad	Erosión controlada de la superficie de las muestras con 10 papeles de lijas de distintos tamaños de granos.	Presionando la superficie con disco de aluminio (peso=118 g) al cual se le pegó una lija de tela con un único tamaño de grano.
Rugosidad básica Rab (µm)	No se brinda	valor promedio: 0.14 < Rab < 0.21
Rugosidad inducida Rai (µm)	10 superficies con los siguientes valores: 0.620, 0.781, 0.934, 1.253, 1.348, 1.661, 2.409, 2.636, 2.912, 3.194.	Una superficie con valor promedio: 0.63 < Rai < 1.09
Modelo analítico	Modelo de la fuente dipolar de Farrell.	Modelo de la fuente dipolar de Farrell.
Parámetros ópticos	n=1.53, g=0.552 μ_a y μ_s' constantes	n=1.4, g=0.7329 μ_a constante y μ_s' variable

Si escogemos los parámetros ópticos determinados para el valor de la rugosidad igual a 1 µm, y los determinados para el valor máximo de la rugosidad igual a 3.194 µm, podemos evaluar las diferencias entre las curvas Rd(r) simuladas con el modelo de Farrell con estas propiedades ópticas. Asumiendo que el coeficiente de absorción es casi constante en la proximidad de 1 µm (señalado con un óvalo de color verde dentro de la figura 5.11 b) e igual a 0.0168 cm^{-1}, realizamos estas simulaciones las cuales se muestran en la figura 5.12 a.

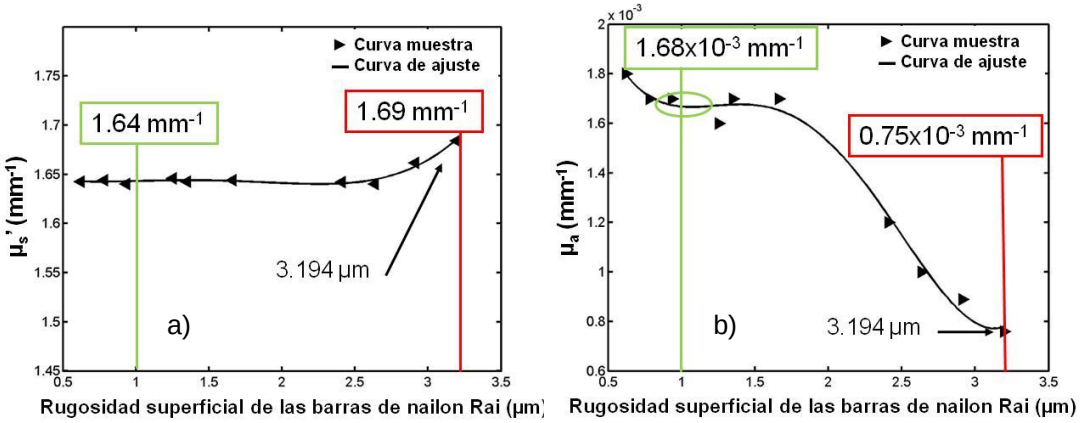

Figura 5.11 Coeficientes de esparcimiento reducido μ_s' (a) y de absorción μ_a (b), en función de la rugosidad Rai de la barra de nailon. Tomado y adaptado de Sun *et al.* [1].

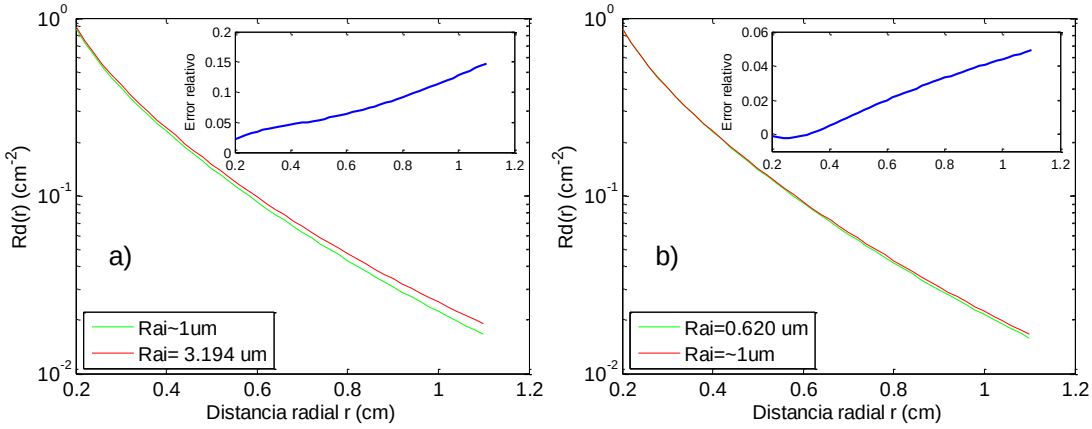

Figura 5.12 Simulación de las curvas de reflexión difusa Rd(r), con el modelo analítico de Farrell, usando las propiedades ópticas determinadas por Sun *et al.*: a) en los valores de la rugosidad Rai igual a 1 µm y 3.194 µm y b) en los valores de la rugosidad Rai igual a 0.620 µm y 1 µm. Dentro de cada figura se muestra el error relativo respecto de la curva obtenida con la menor rugosidad.

También se realizó estas simulaciones para los valores de las propiedades ópticas correspondiente a la menor rugosidad de la superficie (0.620 µm) y evaluadas las diferencias con la curva de reflexión para la rugosidad igual a 1 µm, tal como se observa en la figura 5.12 b. Dentro de cada figura se muestran las diferencias entre ellas. Como se puede apreciar las curvas de reflexión difusa correspondientes a la superficie de mayor rugosidad siempre queda por encima de las correspondientes a las curvas de reflexión difusa de las superficies de menor rugosidad y las diferencias relativas entre ellas

crece con la distancia radial desde ≈ 0% hasta un 15% o un 6%, respectivamente.

En la tabla 5.3 se presentan las propiedades ópticas (PO) con que fueron realizadas las simulaciones anteriores, donde se incluyen las diferencias relativas entre las propiedades ópticas determinadas con la rugosidad superficial mayor respecto de la menor. Según estos resultados para diferencias relativas entre las curvas de reflexión de hasta un 6% (o 15%) se deben esperar diferencias importantes sólo entre los valores del coeficiente de absorción (ver figura 5.11).

TABLA 5.3 Comparación de las propiedades ópticas (PO) determinadas por Sun *et al.*, en tres diferentes rugosidad superficial de la barra sólida de nailon, mostrándose además los errores relativos $E(\mu_s')$ y $E(\mu_a)$ respecto de los obtenidos con la rugosidad menor, según le corresponde.

Rugosidad inducida (µm)	**PO determinadas (cm^{-1})**		**Diferencia relativa entre las PO Rai_mayor respecto Rai_menor (%)**		
	μ_s'	**μ_a**	**$Rai_{2,3}$ vs $Rai_{1,2}$**	**$E(\mu_s')$**	**$E(\mu_a)$**
Rai_1= 0.620	16.40	0.0180			
Rai_2= 1.000	16.40	0.0168	Rai_2 vs Rai_1	0.00	-6.67
Rai_3= 3.194	16.90	0.0075	Rai_3 vs Rai_2	3.05	-55.36

Por otra parte en el capítulo 2 (epígrafe 2.4.2) vimos que la rugosidad de la piel a escala microscópica es del orden de 0.3 µm en una distancia lateral de 20 µm; y a escala macroscópica depende del patrón glífico y de las arrugas de la piel desde 1 a unos pocos milímetros en una escala lineal, y que éstos varían considerablemente según la edad, la región del cuerpo o enfermedades de la piel. Por ejemplo los patrones glíficos alcanzan profundidades de hasta 68 µm como promedio en edades comprendidas entre 0 y 30 años, y tienden a desaparecer con la edad en el cuero cabelludo y la punta de la nariz; mientras que por ejemplo las arrugas o pliegues de la piel alrededor de los ojos varían con la edad tanto en profundidad como en amplitud, alcanzando valores del orden de 190 y 210 µm, respectivamente, a los 30 años de edad. Estos son sólo ejemplos donde se confirma la necesidad de investigar primero cuál es la región de la piel (o tipo de tejido)

que se estudiará para extraer sus propiedades ópticas teniendo en cuenta a la rugosidad de su superficie.

5.3 CONCLUSIONES

Son inapreciables las diferencias entre las curvas de reflexión difusa obtenidas con rugosidad básica e inducida con la lija de tela grano 40, la cual imprime una rugosidad superficial promedio de aproximadamente 1µm.

El equipo SR-OCT 930 no nos proporciona información de la rugosidad inducida en la superficie de los phantoms estudiados, sin embargo sus imágenes tomográficas sí nos brindan información del grado de homogeneidad volumétrica, apreciándose un aumento del grado de inhomogeneidad para el volumen próximo a la superficie.

Proponemos continuar este estudio enfocando la atención al empleo de rugosidades mayores a 1 micra para encontrar la existencia de valores de la rugosidad que afecten notablemente las curvas de reflexión difusa medidas con la técnica de video reflectometría.

Se corroboró que el algoritmo que hemos propuesto es adecuado para extraer el coeficiente de esparcimiento reducido en las muestras tanto líquidas como gelatinosas, usadas en esta tesis doctoral.

Se realizó un análisis comparativo de los resultados experimentales reportados por Sun *et al.* [1] con los resultados de investigación reportados en este capítulo, dada la similitud con que fueron determinadas las propiedades ópticas con el modelo de la fuente dipolar de Farrell *et al.* [2], entre otros aspectos, demostrándose con las simulaciones teóricas que realizamos que la existencia de valores de rugosidad mayores a 3 µm afecta notablemente las curvas de reflexión difusa donde se obtienen diferencias de hasta un 15% para distancias radiales mayores.

REFERENCIAS

[1] Meixiu Sun, Chunping Zhang, Zhaofeng Hao, and Jianguo Tian, “Effect of surface roughness on determination of tissue optical properties obtained by diffusion approximation”, Appl. Opt. 46, 3649-3652 (2007).

[2] T. J. Farrell, M. S. Patterson and Brian Wilson, “A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo,” Med. Phys. 19, 879-888 (1992).

[3] R.Rox Anderson,B.S. and John A. Parrish M.D., “The Optics of Human Skin”, The Journal of investigative Dermatology, 77, 13-19 (1981).

[4] C Rebecca Simpson, Matthias Kohl, Matthias Essenpreis and Mark Cope, “Near-infrared optical properties of *ex vivo* human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo inversion technique”, Phys. Med. Biol. 43 2465–2478 (1998).

[5] Xiaoyan Ma, Jun Qing Lu, and Xin-Hua Hu, “Effect of surface roughness on determination of bulk tissue optical parameters”, Optics Letters 28, 2204-2206 (2003).

[6] Xiaoyan Ma, Jun Qing Lu, Huafeng Ding, and Xin-Hua Hu, “Bulk optical parameters of porcine skin dermis at eight wavelengths from 325 to 1557 nm”, Optics Letters 30, 412-414 (2005).

[7] WYKO Surface Profilers Technical Reference Manual. Veeco Metrology Group, ©1999.

[8] Thorlabs, “Spectral Radar OCT, Operating Manual” , Manual (2007).

[9] Hugo J. van Staveren, Christian J. M. Moes, Jan van Marle, Scott A. Prahl, and Martin J. C. van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm", Appl. Opt. 30, 4507-4514 (1991).

Capítulo 6

Conclusiones

6.1 CONCLUSIONES GENERALES

En este trabajo de tesis doctoral se ha realizado un estudio teórico y experimental de una instalación de video reflectometría implementada para determinar las propiedades ópticas de muestras líquidas y gelatinosas (a base de intralípido-10%) con propiedades ópticas similares a la dermis de la piel humana. Lo cual contribuye a las investigaciones actuales para un adecuado diagnóstico o tratamiento de las lesiones de la piel humana.

La investigación teórica de la reflexión difusa resuelta radialmente en un medio semi-infinito con propiedades de esparcimiento altas donde incide un haz de luz infinitamente fino con incidencia normal, demostró que el criterio de un 1 mfp' como distancia radial que marca el límite para el uso de la expresión analítica del modelo dipolar no es totalmente válido. Este hallazgo sirvió de pauta para proponer un procedimiento de ajuste óptimo de los datos experimentales al modelo analítico en un intervalo radial (r_0, 2 cm) donde la distancia radial r_0 cumple la condición que las diferencias entre las curvas de reflexión difusa generadas con el modelo analítico y el modelo estocástico fuera mínima. Además, se demostró que al emplear este algoritmo para la extracción de las propiedades ópticas de un medio simulado (curvas sintéticas) se obtienen errores de recuperación para el coeficiente de

esparcimiento reducido μ_s' inferiores a un 2%. Sin embargo para el coeficiente de absorción μ_a son comparativamente altos.

La simulación teórica de Rd(r) para una fuente de luz láser similar a la de la instalación experimental usada fue realizada mediante simulación estocástica usando el método Monte Carlo (MCML modificado). Se demostró que no existen diferencias significativas en la extracción de las propiedades ópticas cuando se trata de un haz Gaussiano con diámetro igual a 1 mm para medios semi-infinitos con las propiedades de esparcimiento referidas anteriormente.

Por último en el campo teórico, se realizó la simulación analítica (modelo fuente dipolar modificado) de Rd(r) para el caso de incidencia oblicua de un haz de luz infinitamente fino con ángulos próximos a la normal. En este caso se rompe la simetría y se debe describir la reflexión difusa como Rd(x,y). Los resultados obtenidos con este modelo brindaron un criterio para el ajuste de los datos experimentales, cuando existen errores pequeños respecto a la supuesta incidencia normal del haz de luz sobre el tejido. Se demostró que los errores de extracción de μ_s', en la zona donde ocurre el desplazamiento de las fuentes puntuales son inferiores a un 4%, mientras que en la región contraria, son inferiores a (5%). Sin embargo los errores de extracción para μ_a son en general comparativamente altos en ambas regiones. Hasta donde conocemos un análisis como este no aparece reportado en la literatura consultada.

Los estudios experimentales combinados con los teóricos permitieron proponer un algoritmo de determinación de las propiedades ópticas de las muestras de interés basado en el uso de un disco de teflón como estándar de referencia. Este algoritmo tiene como primera etapa la determinación del factor de escala K de la instalación experimental de video reflectometría. Este algoritmo mostró resultados reproducibles y precisos para la extracción del coeficiente de esparcimiento reducido del teflón. El algoritmo propuesto fue aplicado en la extracción de las propiedades ópticas de muestras líquidas a base de Lipofundin-10%, demostrándose que éste es robusto dado que se

obtuvo una alta repetibilidad en la extracción del coeficiente de esparcimiento reducido. La comparación del valor determinado de este coeficiente con los valores esperados según las fórmulas reportadas en la literatura nos permiten asumir que pudieran ser correctos ya que quedan enmarcados en el amplio rango de variabilidad que existen entre las soluciones de intralípidos de una misma firma productora.

Otro aspecto investigado experimentalmente fue la influencia del plano de enfoque de la cámara CCD en la determinación de las curvas Rd(r) y de las propiedades ópticas. Se demostró que ante variaciones de incluso 1mm en la colocación del plano de enfoque de la cámara CCD sobre la superficie de las muestras las curvas de reflexión difusa solo se afectan en menos de un 2%, y no se encontraron diferencias significativas entre los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraídos cuando ocurre tal desenfoque.

Por último, también se abordó un estudio experimental para evaluar el efecto de la rugosidad en las curvas de reflexión difusa, en muestras gelatinosas (a base de agar y Lipofundin-10%) con propiedades ópticas similares a la dermis humana y con una interfase rugosa respecto al medio ambiente lograda con una lija de tela, cuya rugosidad promedio es igual a 0.676 mm. Los resultados mostraron que son inapreciables las diferencias entre las curvas de reflexión difusa obtenidas con rugosidad básica e inducida, para el mismo valor del coeficiente de esparcimiento reducido, al menos cuando la rugosidad superficial promedio toma valores en el intervalo entre 0.6 y 1.1 µm. Las imágenes tomográficas de las superficies rugosas de estas muestras, proporcionaron información del grado de homogeneidad volumétrica, apreciándose un aumento del grado de inhomogeneidad para el volumen próximo a la superficie. Por otra parte, se determinó las propiedades ópticas de un conjunto de estas muestras (con rugosidad básica e inducida) encontrándose en el rango de valores esperados. Con este resultado se corroboró una vez más que el algoritmo propuesto es el adecuado para

extraer el coeficiente de esparcimiento reducido tanto en las muestras líquidas como gelatinosas estudiadas en este proyecto de tesis.

6.2 TRABAJO FUTURO

Se propone caracterizar a las muestras de estudio mediante la Tomografía Óptica Coherente (TOC) con vista a evaluar si la homogeneidad volumétrica de los centros de esparcimiento puede ser mejorada y cómo esta inhomogeneidad influye en las curvas de reflexión difusa medidas.

Por otra parte, se deberá incluir en las muestras de estudio centros de absorción, de tal forma que el coeficiente de absorción pueda ser variado y tomar valores cercanos a los reportados para la dermis humana. En este sentido se deberá caracterizar nuevamente la instalación experimental antes de proceder a la determinación de los parámetros ópticos en tejidos *ex vivos.*

Proponemos continuar el estudio del efecto de la rugosidad no sólo en las curvas de reflexión difusa, sino en la determinación de las propiedades ópticas con un valor estadístico, enfocando la atención al empleo de rugosidades superficiales mayores a 1 µm para encontrar la existencia de valores de la rugosidad que afecten notablemente a estas curvas.

Lista de Figuras

Figura 2.1 Elemento de volumen cilíndrico usado para deducir heurísticamente la ecuación de Transferencia Radiativa……..12

Figura 2.2 (a) Posición de la fuente puntual positiva y su imagen negativa en el modelo de la fuente dipolar para un haz de luz con incidencia normal al tejido, cuya escala se muestra a la derecha. (b) Posiciones de las fuentes puntuales para un haz de luz con incidencia oblicua, cuya escala se muestra a la izquierda. El eje Y se encuentra apuntando hacia fuera del plano de la hoja…….21

Figura 2.3 Trayectoria típica de un fotón a través de un medio homogéneo calculado por MCML. Cada paso S entre las posiciones del fotón es aleatorio (representado por puntos).Tomado del manual MCML&CONV elaborado por Wang y Jacques [26] ……..24

Figura 2.4 a) Corte histológico de la piel mostrando su estructura estratificada. b) Corte histológico de la epidermis, mostrando parte de la dermis. [Tomado y adaptado de la referencia 27] …….27

Figura 2.5 Corte histológico de la epidermis mostrando su estructura estratificada [27] ……..29

Figura 2.6 Arrugas finas o patrones glíficos a) en la mejilla y b) en el antebrazo, de la misma persona. c) Arrugas o pliegues de la piel, superficiales y profundas. Tomado de Igarashi *et al*. [28] ……30

Figura 2.7 Cambios morfológicos en las arrugas finas en la cara frontal del antebrazo. Éstas son más profundas con la edad. Tomado y adaptado de Igarashi *et al*.[28] …….31

Figura 2.8 Cambios morfológicos en las arrugas o pliegues de la piel, en el borde de los ojos: a) profundidad y b) ancho, según la edad. Tomado y adaptado de Igarashi *et al*. [28] …….31

Figura 2.9 Espectro de absorción de los principales cromóforos de la piel. Tomado y adaptado de Vo-Dinh [7] …….33
Figura 2.10 Coeficiente de absorción de la epidermis (mua.epi) donde: mua.skinbaseline es el coeficiente de absorción básico y mua.mel es el coeficiente de absorción de la melanina con una fracción volumétrica de melanosomas igual a un 10%. Tomado y adaptado de Jaques [30] ……..33
Figura 2.11 Coeficiente de esparcimiento reducido de la dermis donde: la curva roja son los datos del tejido; la verde son los datos de la teoría de Mie para los cilindros de colágeno; la azul son los datos del esparcimiento Rayleigh por las fibras de colágeno de estructuras más pequeñas; y la curva negra es la suma de Mie más Rayleigh, la cual coincide bastante con la curva del tejido. Tomado y adaptado de Jaques [30] ……..35
Figura 2.12 Fotografía de la instalación experimental de video reflectometría: 1) láser de He-Ne (λ=632.8nm, P_0=35mW), 2) porta filtro rotatorio conteniendo 5 filtros neutrales, 3) espejo delgado, 4) phantom líquido, y 5) cámara CCD para la toma de las imágenes luminosas por cada filtro……40
Figura 3.1 Archivo típico de entrada de los datos para las simulaciones realizadas con MCML.exe……..50
Figura 3.2 Representación esquemática del sistema bidimensional y homogéneo de rejillas colocadas en la dirección r y z en un tejido homogéneo e infinito, intrínsecamente usado por MCML.exe para la simulación de la reflexión difusa resuelta radialmente……51
Figura 3.3 Comparación entre las curvas de reflexión difusa Rd(r) simuladas con MCML y con el modelo analítico de Farrell, para diferentes coeficientes de esparcimiento reducido: a) 17.15 cm^{-1}, b) 22.87 cm^{-1}, c) 28.59 cm^{-1} y d) 34.31 cm^{-1}. El símbolo Nf dentro de la figura se refiere al número de fotones usados para la simulación con MCML…….52
Figura 3.4 Error relativo del modelo analítico de Farrell con respecto a las curvas generadas con MCML, donde r_0 es la posición radial cuando el error relativo es próximo a cero, y mfp' es el camino libre medio de transporte de

las muestras, donde existe un error próximo al máximo. a) μ_s'=17.15 cm^{-1}, b) μ_s'=22.87 cm^{-1}, c) μ_s'=28.59 cm^{-1} y d) μ_s'=34.31 cm^{-1}……54

Figura 3.5 a) Curvas de reflexión difusa Rd(r) generadas con MCML para cuatro valores diferentes del coeficiente de esparcimiento reducido, y usando para la simulación $5X10^6$ fotones. b) Comportamiento de r_0 (posición radial óptima propuesta para realizar los ajustes) con la difusividad del tejido……54

Figura 3.6 a) Diagrama esquemático del punto luminoso de un láser de He-Ne (λ=632.8 nm) operando en el modo TEM_{00} cuyo perfil es Gaussiano. b) Perfil de irradiancia del láser en función del radio c) Radio del haz Gaussiano w(z) en función de la distancia de propagación z donde: w_0 es la cintura del haz, b es la profundidad de campo, ZR el intervalo de Rayleigh, y Θ es la divergencia angular total. Figuras tomadas de la referencia [8] ……57

Figura 3.7 Distancia que recorre el haz de luz proveniente del láser de He-Ne, pasando a través del porta filtros giratorio y del espejo colocado a 45° para la incidencia normal a la superficie de la muestra……....58

Figura 3.8 Comparación entre las curvas de reflexión difusa Rd(r) simuladas con MCML-Gaussiano.exe (diámetro ϕ=1 mm) y con MCML.exe (haz infinitamente fino) para diferentes coeficientes de esparcimiento reducido: a) 17.15 cm^{-1}, b) 22.87 cm^{-1}, c) 28.59 cm^{-1} y d) 34.31 cm^{-1}……60

Figura 3.9 Error relativo del modelo analítico de Farrell con respecto a las curvas generadas con MCML-Gaussiano.exe (diámetro ϕ=1 mm) y respecto a las generadas con MCML.exe. Los valores r_1 y r_0 son las distancias radiales cuando el error relativo es próximo a cero, respectivamente. El error máximo se encuentra próximo al mfp' en todas las muestras. a) μ_s'=17.15 cm^{-1}, b) μ_s'=22.87 cm^{-1}, c) μ_s'=28.59 cm^{-1} y d) μ_s'=34.31 cm^{-1}……..61

Figura 3.10 Comparación entre las curvas de reflexión difusa Rd(x) para un haz inclinado (α=1° y α=5°) y un haz con incidencia normal (α=0°) (fila superior) y su error relativo (fila intermedia). Error relativo para α=2°, 3° y 4°, respectivamente (fila inferior). El coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' es igual a 17.15, 22.87, 28.59 y 34.31 cm^{-1}……63

Figura 3.11 a) Simulación de la reflexión difusa Rd(x) con el modelo modificado de la fuente dipolar para α=1°, 2°, 3°, 4° y 5°, y además con incidencia normal al tejido (modelo de Farrell, α=0°) cuyo μ_s'=17.15 cm^{-1}. Se muestran los valores x_1=±0.504 cm donde el error relativo de estas curvas respecto del modelo de Farrell, es mínimo. Se enmarcan en color rojo dos zonas 1 y 2 para mostrar una vista ampliada de ellas en el inciso b) y c), respectivamente……66

Figura 4.1 Tres discos de teflón de espesores de 5.92, 3.86 y 2.03 mm pulidos por ambas caras en el taller de óptica del INAOE y determinadas sus propiedades ópticas en Oregon con la técnica de Dos Esferas Integradoras usando el software Inverse Adding-Doubling (IAD) ……..73

Figura 4.2 Fotografía de la instalación experimental de video reflectometría: 1) láser de He-Ne (λ=632.8nm, P0=35mW), 2) porta filtro rotatorio conteniendo 5 filtros neutrales, 3) espejo delgado, 4) disco de teflón de 5 cm de espesor, y 5) cámara CCD para la toma de las imágenes luminosas por cada filtro, colocada a la altura h_0=17.5 cm……76

Figura 4.3 (a) Error relativo del modelo de Farrell con respecto a los datos sintéticos (generados con MCML): r_0 es la posición radial cuando este error es próximo a cero, y mfp' es el recorrido libre medio de transporte del teflón donde el error máximo es próximo a esta distancia. b) Resultado del ajuste no lineal de los datos sintéticos a partir de la posición radial r_0 (enmarcado en cuadro rojo) ……..77

Figura 4.4 (a) Típico ajuste lineal, de la curva de reflexión difusa experimental y teórica para calcular el factor de escala Ki. (b) Resultado del ajuste de los datos experimentales a partir de la posición radial r_0≈0.5 cm para determinar el coeficiente de esparcimiento reducido del teflón……78

Figura 4.5 (a) Curvas de reflexión Rd(r)+, Rd(r)- y Rd(r)0 para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento. El símbolo +,-,0 acompañando a Rd(r) indica la reflexión difusa registrada cuando la posición de los phantoms fue incrementada o disminuida en 1 mm con respecto al

plano de referencia h=0, respectivamente (b) Vista ampliada de estas curvas para el phantom 4, en el intervalo radial r_0>0.5cm……80

Figura 4.6 (a-h) Diferencias cuantitativas entre las curvas de reflexión Rd(r)+, Rd(r)- y Rd(r)0 para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento. El símbolo +,-,0 acompañando a Rd(r) indica la reflexión difusa registrada cuando la posición de los phantoms fue incrementada 1 mm (h=+1mm) o disminuida 1 mm (h=-1mm) con respecto al plano de referencia h=0, respectivamente, en el intervalo radial r_0>0.5cm ……..81

Figura 4.7 Comparación de las curvas Rd(r) de tres muestras con igual coeficiente de esparcimiento reducido en dos vasijas diferentes: muestra 1 (vasija grande); muestra 2 es un subconjunto de la muestra 1 luego de medida (vasija pequeña); y muestra 3 (vasija pequeña) ……..84

Figura 4.8 a) Simulación de la reflexión difusa Rd(x) con el modelo modificado de la fuente dipolar para α=1°, 2°, 3°, 4° y 5°, y además con incidencia normal al tejido (modelo de Farrell, α=0°) cuyo μ_s'=17.15 cm^{-1}. Se muestran los valores x_1=±0.504 cm donde el error relativo de estas curvas respecto del modelo de Farrell, es mínimo. Se enmarcan en color rojo dos zonas 1 y 2 para mostrar una vista ampliada de ellas en el inciso b) y c), respectivamente……93

Figura 4.9 Dependencia espectral del coeficiente de esparcimiento reducido del Intralipido-10% según van Staveren *et al*. [13], Flock *et al*. [16], y el valor obtenido en λ=543.5 nm según Jaques [17] ……...95

Figura 5.1 Fotografía de los phantoms a base de agar (concentración de 0.5g por cada 112 ml de agua destilada) conteniendo 15, 20, 25 y 30 ml de Lipofundin-10%, cuyos coeficientes de esparcimiento reducidos fueron estimados como μ_s'= 17.15, 22.87, 28.59 y 34.31 cm^{-1}, respectivamente...104

Figura 5.2 Método de impresión de la rugosidad adicional (Rai) en la superficie de los phantoms gelatinosos a base de agar con un disco de aluminio (a) cuyo diámetro es igual a 6 cm y peso igual a 118 g al cual se le pegó una lija de tela de la marca Fandeli X-86, grano 40 (b). Este disco fue

colocado durante 3 minutos sobre la superficie (c y d) para garantizar que la presión ejercida por el peso del disco fuera similar en todas las muestras.106

Figura 5.3 a) Regiones medidas en la superficie de los phantoms con el perfilómetro óptico WYKO: en el centro de la muestra (c) y en cuatro regiones desplazando el objetivo del microscopio aproximadamente un cm desde el centro hacia el norte (N), sur (S), oriente (O) y poniente (P), respectivamente. Superficie típica de un phantom a base de agar: b) con rugosidad básica 0.14 µm < Rab < 0.21 µm y c) con rugosidad inducida 0.63 µm < Rai < 1.09 µm……...107

Figura 5.4 Perfiles típicos de la superficie medida con el perfilómetro WYKO, en una de las cinco regiones de un phantom, donde se muestran los valores estadísticos de la rugosidad (Ra,Rq y Rt) así como el modo de medición PSI para la rugosidad básica (a) y para la rugosidad inducida el VSI (b). Se observa que la escala de colores de los valores de la rugosidad es diferente para ambas superficies, la primera está en nanómetros (nm) y la segunda en micrómetros (um)……...108

Figura 5.5 Reflexión difusa radial experimental Rd(r) en tejidos sintéticos a base de agar, variando el coeficiente de esparcimiento reducido μ_s': a) para la rugosidad básica, b) para la rugosidad inducida……..109

Figura 5.6 Comparación entre las curvas de reflexión difusa promedio con igual coeficiente de esparcimiento reducido μ_s' con rugosidad básica e inducida: a) μ_s'=17.15cm^{-1}; b) μ_s'=22.87 cm^{-1}; c) μ_s'=28.59 cm^{-1}; d) μ_s'=34.31 cm^{-1}……...110

Figura 5.7 (a-d) Diferencias cuantitativas entre las curvas de reflexión difusa con rugosidad básica e inducida, para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento reducido a partir de la posición radial r_0≈0.5 cm. Estas diferencias se expresan como el error relativo de las curvas obtenidas con rugosidad inducida respecto de las obtenidas con rugosidad básica. Se muestra el error relativo promedio en este intervalo radial expresado en porciento ……111

Figura 5.8 Imágenes tomográficas característica de la superficie de las muestras: a) rugosidad básica en un rango lateral de la imagen de 2 mm, b) rugosidad inducida en un rango lateral de la imagen de 6 mm. c) Imagen tomográfica de una región de la superficie del papel de la lija de tela de la marca Fandeli X-86, grano 40 en un rango lateral de la imagen de 6 mm……112

Figura 5.9 Ajuste no lineal de los datos experimentales (curva de reflexión difusa del teflón) a partir de la posición radial r_0≈0.5 cm, con el modelo analítico de Farrell para extraer el coeficiente de esparcimiento reducido del teflón. Se muestran las propiedades ópticas verdadera (μ_{tv}') y recuperada (μ_{tR}'), así como el error de recuperación E(μ_t'). Se muestra también el factor de escala de la instalación experimental K……114

Figura 5.10 Ajuste no lineal de los datos experimentales con el modelo analítico de Farrell a partir de la posición radial r_0≈0.5 cm, para las curvas de reflexión difusa de los phantoms (con distintos μ_s') con rugosidad básica (a, c, e y g) y con rugosidad inducida (b, d, f y h). Dentro de cada gráfico se muestran las propiedades ópticas "estimadas" (con subíndice v) y las extraídas (con subíndice E)……..115

Figura 5.11 Coeficientes de esparcimiento reducido μ_s' (a) y de absorción μa (b), en función de la rugosidad Rai de la barra de nailon. Tomado y adaptado de Sun *et al*. [1]……..119

Figura 5.12 Simulación de las curvas de reflexión difusa Rd(r), con el modelo analítico de Farrell, usando las propiedades ópticas determinadas por Sun *et al.*: a) en los valores de la rugosidad Rai igual a 1 μm y 3.194 μm y b) en los valores de la rugosidad Rai igual a 0.620 μm y 1 μm. Dentro de cada figura se muestra el error relativo respecto de la curva obtenida con la menor rugosidad……119

Lista de Tablas

TABLA 3.1 Parámetros ópticos de los phantoms calculados en λ=633 nm y para un volumen total de 112 ml conteniendo 15, 20, 25 o 30 ml de Lipofundin-10% (Vint), según la formulación de van Staveren *et al*. [3]. El factor de anisotropía g calculado con esta formulación es igual a 0.7329 para todas las muestras. 49

TABLA 3.2 Parámetros ópticos extraídos con el modelo analítico de Farrell desde la distancia radial r_0 hasta 2 cm. Se muestran los errores de extracción respecto de las propiedades ópticas usadas para la generación de las curvas con MCML (parámetros ópticos verdaderos). 56

TABLA 3.3 Parámetros ópticos extraídos con el modelo analítico de Farrell desde la distancia radial r_1 hasta 2 cm. Se muestran los errores de extracción respecto de las propiedades ópticas usadas para la generación de las curvas con MCML modificado para el haz Gaussiano de diámetro igual a 1 mm (parámetros ópticos verdaderos).....62

TABLA 3.4 Propiedades ópticas (PO) extraídas mediante el ajuste del modelo analítico de Farrell con los datos simulados obtenidos con el modelo modificado de la fuente dipolar para incidencia oblicua del haz desde 1° hasta 5°, en dos regiones espaciales (como se observa en la figura 3.10). Se muestran los errores de extracción respecto de las propiedades ópticas usadas para la simulación (μ_s'=17.15, 22.87, 28.59 y 34.31 cm^{-1}; μ_a =0.0029 cm^{-1}; y g=0.7329). 65

TABLA 4.1 Valores del factor de escala y el correspondiente coeficiente de esparcimiento reducido (promedio), en dos configuraciones geométricas diferentes. Se muestra también el error relativo E(μ_s'). 77

TABLA 4.2 Valores de los PO extraídos para cuatro phantoms con distintos coeficientes de esparcimiento cuando la posición de la superficie de éstos fue

incrementada en 1 mm (h=+1mm) o disminuida en 1 mm (h=-1mm) con respecto al plano de referencia h=0, respectivamente..... 82

TABLA 4.3 Valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraído con nuestro algoritmo e instalación de video reflectometría, en tres muestras con igual coeficiente de esparcimiento reducido contenidas en dos vasijas de diferentes dimensiones. 85

TABLA 4.4 Parámetros ópticos de los phantoms calculados en λ=633 nm y para un volumen total de 112 ml conteniendo 10, 15, 20, 25, 30 o 35 ml de Lipofundin-10% (Vint), según la formulación de van Staveren *et al*. [13]..... 87

TABLA 4.5 Análisis estadístico de los parámetros ópticos extraídos de phantoms líquidos en distintas ocasiones y procesados de acuerdo al algoritmo de extracción desarrollado. 88

TABLA 4.6 Comparación de las propiedades ópticas extraídas (PO) de seis phantoms líquidos diferentes, a base de intralípido-10%, con la técnica de Video reflectometria (Video) y la técnica de Dos Esferas Integradoras (IAD), mostrándose los errores de extracción E(μ_s') respecto de la formulación de van Staveren *et al*.. Este estudio fue realizado el día 17-11-11. 90

TABLA 4.7 Comparación de las propiedades ópticas extraídas (PO) de tres phantoms líquidos diferentes a base de IL-10% (dos de cada una), con la técnica de Video reflectometria (Video) y la técnica de Dos Esferas Integradoras (IAD), mostrándose los errores de extracción E(μs') respecto de la formulación de van Staveren *et al*. [13]. Este estudio fue realizado el día 07-02-12..... 91

TABLA 4.8 Valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraído y el que se debe reportar (corregido) a través del cálculo del factor de escalo FE. Hemos supuesto que en primera aproximación los PO calculados con la formulación de van Staveren *et al*. [13] es válida para cualquier intralípido-10% usado en la preparación de phantoms líquidos. 93

TABLA 4.9 Comparación de los valores del coeficiente de esparcimiento reducido extraído con nuestro algoritmo e instalación de video reflectometría,

en tres phantoms líquidos, con respecto a los calculados según van Staveren *et al.*, y Flock *et al*.. 95

TABLA 5.1 Comparación de las propiedades ópticas extraídas en cuatro phantoms a base de agar con diferentes coeficientes de esparcimiento reducido μ_{sv}', y distintas rugosidad superficial (rugosidad básica Rab e inducida Rai) mostrándose los errores relativos E(μ_s') y E(μ_a) respecto de los obtenidos con la rugosidad básica……..116

TABLA 5.2 Comparación de las características generales reportadas por Sun *et al*. [1] con este trabajo de investigación…….....118

TABLA 5.3 Comparación de las propiedades ópticas (PO) determinadas por Sun *et al*., en tres diferentes rugosidad superficial de la barra sólida de nailon, mostrándose además los errores relativos E(μ_s') y E(μ_a) respecto de los obtenidos con la rugosidad menor, según le corresponde……120

Apéndice A

Publicaciones y Participación en Congresos

Lista de publicaciones:

1. J.A. Delgado Atencio, E.E. Orozco Guillén, S. Vázquez y Montiel, **M. Cunill Rodríguez**, J. Castro Ramos, J. L. Gutiérrez and F. Martínez, "Influence of Probe Pressure on Human Skin Diffuse Reflectance Spectroscopy Measurements", ISSN 1060-992X, Optical Memory and Neural Networks (Information Optics), **2009**, Vol. 18, No. 1, pp. 6–14. © Allerton Press, Inc., 2009.
2. **Margarita Cunill Rodríguez**, Jorge Castro Ramos, Sergio Vázquez y Montiel, José Alberto Delgado Atencio, "Algoritmo de extracción de las propiedades ópticas a partir de la medición de la reflexión difusa resuelta espacialmente", Rev. Cub. Física vol. 27 No. 1 (**2010**) p.59-62, ISSN: 0253-9268.
3. A.M. Martinez Rodríguez, S. Vázquez y Montiel, J.A. Delgado Atencio, **M. Cunill Rodríguez**, J. Castro Ramos, A. Vázquez Villa, "Experimental Study of Diffuse Reflectance Spectral Signals at Very Close Skin-Probe Distances". Edited by M.E.Brandan, F. Herrera-Matinez, V. Ramirez-R, M. Rodriguez-Villafuerte, AIP Conference Proceedings, XI *Mexican Symposium on Medical Physics, **2010**, Vol. 1310, 102-105.*

4. A. Vázquez Villa, J. A. Delgado Atencio, S. Vázquez y Montiel, **M. Cunill Rodríguez**, A.E. Martínez Rodríguez, J. Castro Ramos, A. Villanueva, "Theoretical and Experimental Study of Optical Coherence Tomography (OCT) signals an Analytical Transport Model". Edited by M.E.Brandan, F. Herrera-Matinez, V. Ramirez-R, M. Rodriguez-Villafuerte, AIP Conference Proceedings, XI *Mexican Symposium on Medical Physics, **2010**, Vol. 1310, 154-157.*

5. **M. Cunill Rodríguez**, José. A. Delgado, Sergio Vázquez, Beatriz Morales, Scott A. Prahl, Jorge Castro, "A Comparative Theoretical-Experimental Analysis of a Video Reflectometry Setup". Póster publicado en la página web: http://omlc.ogi.edu/~prahl/people/prahl.html, **2011**.

6. **Cunill-Rodríguez**, **M.**, Delgado-Atencio, J.A., Vázquez-Montiel, S., and Morales-Cruzado, B., "Determining the Scale Factor of a Video-Reflectometry Set-Up". Aceptado para su publicación: In AIP Conference Proceeding, **2012**.

Lista de participación en congresos:

1. LI Congreso Nacional de Física y II Congreso Latinoamericano de Física. Zacatecas, México, octubre de **2008**, con los siguientes trabajos:

1.1 J. A. Delgado Atencio, S.Vázquez-Montiel, **M. Cunill-Rodríguez**, E. E. Orozco-Guillén, J. Castro-Ramos "Diffusion Theory for Short Source-Detector Distances: Application to Fiber Optic Probes". Presentación póster

1.2 E. E. Orozco-Guillén, J. A. Delgado Atencio, S.Vázquez-Montiel, J. Castro-Ramos, **M. Cunill-Rodríguez,** J. L. Gutiérrez "Estudio del contenido de melanina en la piel humana mediante espectroscopía de reflexión difusa". Presentación póster

1.3 A. E. Villanueva-Luna, J. Castro-Ramos, J. A. Delgado Atencio, **M. Cunill-Rodriguez**, E. Orozco-Guillén, S. Vázquez y Montiel "Obtención de espectros de la piel mediante espectroscopía Raman". Presentación póster

1.4 **Margarita Cunill Rodríguez**, Jorge Castro Ramos, Sergio Vázquez Montiel, José A. Delgado Atencio "Algoritmos para la recuperación de los parámetros ópticos de modelos de tejidos biológicos". Presentación Oral

2. VI Taller Internacional TECNOLÁSER 2009 y II Reunión de Óptica, Vida y Patrimonio. La Habana, Cuba, abril de **2009**, con los siguientes trabajos:

2.1 **M. Cunill**, J. Castro, S.Vázquez y J. A.Delgado, "Algoritmo de extracción de las propiedades ópticas a partir de la medición de la reflexión difusa resuelta espacialmente". Presentación póster

2.2 J. A. Delgado, S. Vázquez, E.E.Orozco, **M. Cunill** y J. Castro, "Espectroscopía de reflexión difusa de la piel humana: I-Análisis de la validez de la aproximación de la difusión." Presentación oral

2.3 M. López, A. M. Combarro, **M. Cunill**, A. A. Orellana, P. J. Larrea y A. Hernández, "Empleo del equipo laserterapéutico Fisser 21 en dehiscencias de heridas de cirugía estética". Presentación póster

3. XI Mexican Symposium on Medical Physics, **2010**, México, DF, con los siguientes trabajos:

3.1 A.M. Martínez Rodríguez, S. Vázquez y Montiel, J.A. Delgado Atencio, **M. Cunill Rodríguez**, J. Castro Ramos, A. Vázquez Villa, "Experimental Study of Diffuse Reflectance Spectral Signals at Very Close Skin-Probe Distances. Presentación en Póster.

3.2 A. Vázquez Villa, J. A. Delgado Atencio, S. Vázquez y Montiel, **M. Cunill Rodríguez**, A.E. Martínez Rodríguez, J. Castro Ramos, A. Villanueva, "Theoretical and Experimental Study of Optical Coherence Tomography (OCT) signals an Analytical Transport Mode". Presentación en Póster.

4. Undécimo Encuentro de Investigación, INAOE, Tonantzintla, Puebla, México, noviembre de **2010**, con el siguiente trabajo:

4.1 **Margarita Cunill Rodríguez**, José A. Delgado Atencio, Sergio Vázquez y Montiel, "Influencia de la Rugosidad de la Superficie en las

Curvas de Reflexión Difusa de Phantoms a Base de Agar". Presentación Oral.

5. 22nd General Congress of International Commission for Optics, agosto de **2011**, Puebla, México, con los siguientes trabajos:

5.1 Delgado Atencio JA, Prahl S.A, Vázquez y Montiel S, **Cunill Rodríguez M**, Gutiérrez Delgado F, Castro Ramos J, "Theoretical Analysis and Experimental Validation of a Two-Fiber Probe for Biomedical Spectroscopy Applications". Presentación Cartel.

5.2 **M. Cunill Rodríguez**, José. A. Delgado, Sergio Vázquez, Beatriz Morales, Scott A. Prahl, Jorge Castro, "A Comparative Theoretical-Experimental Analysis of a Video Reflectometry setup". Presentación Cartel.

6. XVI Encuentro Regional de Investigación y Enseñanza de la Física, octubre de **2011**, con el siguiente trabajo:

6.1 B. Morales Cruzado, J.A. Delgado Atencio, S. Vázquez y Montiel, **M. Cunill Rodríguez**, "Determinación de esparcimiento reducido en phantoms de teflón mediante el programa Recupera-IAD y un sistema de dos esferas integradoras".

7. XII Mexican Symposium on Medical Physics, Oaxaca, México, marzo de **2012**, con el siguiente trabajo:

7.1 **Cunill-Rodríguez**, **M.**, Delgado-Atencio, J.A., Vázquez-Montiel, S., and Morales-Cruzado, B., "Determining the Scale Factor of a Video-Reflectometry Set-Up"