

Puente entre **MEDICINA e INGENIERIA**
Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

LIBRO DE ACTAS

Ciudad Politécnica de la Innovación (UPV) | VALENCIA

23 AL 25 DE NOVIEMBRE DE 2016

 @caseib16

 <http://caseib16.es>



Organizado por:



UNIVERSITAT
POLITÀCNICA
DE VALÈNCIA

Avelado por:



Patrocinado por:





CASEIB
2016
XXXIV

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

LIBRO DE ACTAS



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Centro de Investigación
e Innovación en Bioingeniería



VALÈNCIA CAMPUS DE INVESTIGACIÓ I INNOVACIÓ



Sociedad Española de
INGENIERÍA BIOMÉDICA

Valencia, 23, 24 y 25 de noviembre de 2016

Congresos UPV

CASEIB 2016 XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por el Comité Científico que en ella se relaciona y según el procedimiento que se recoge en www.caseib16.es

Editor científico

Raimon Jané Campos

Maquetación

Jose M. Bueno Barrachina

Yiyao Ye Lin

Diseño de portada

Carlos Garrigues

Editorial

Editorial Universitat Politècnica de València.

www.lalibreria.upv.es / Ref.: 6342_01_01_01

ISBN: 978-84-9048-531-6 (versión CD)



CASEIB 2016 XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Se distribuye bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional.

Estudio de la espectroscopía de ruptura inducida por láser aplicada a tejidos biológicos craneales

F. Fanjul-Vélez, M. A. Rodríguez-Colmenares, L. Arévalo-Díaz, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av de los Castros s/n, 39005 Santander, España

fanjulf@unican.es, arcedj@unican.es

Resumen

Las técnicas ópticas de tratamiento, diagnóstico y cirugía constituyen una aproximación del máximo interés en la práctica médica. En particular, la aplicación de fuentes ópticas a la cirugía de tejidos aporta precisión en el corte sin daño a tejidos adyacentes. El diagnóstico mediante espectroscopía de ruptura inducida por láser (LIBS) permite llevar a cabo una caracterización del tejido bajo tratamiento. De esta forma es posible asegurar el procedimiento quirúrgico. En este trabajo se describe el proceso de ablación láser, así como el diagnóstico mediante LIBS, para aplicarlo a intervenciones craneales. Mediante espectros LIBS de tejidos craneales de interés, se desarrolla un algoritmo basado en análisis de componentes principales, y se estima su capacidad de caracterización para servir de ayuda a la cirugía.

1. Introducción

En biomedicina se utiliza una gran variedad de fenómenos relacionados con el electromagnetismo para detectar y tratar la enfermedad, promoviendo el desarrollo de técnicas que mejoran la calidad de vida de los pacientes [1].

La técnica de espectroscopía de ruptura inducida por láser (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS) utiliza la luz para interactuar con los tejidos y producir la ablación [2]. En el presente trabajo se estudiarán los efectos que se producen a partir de este proceso y se le dará una aplicación en el campo de la medicina. La motivación de este trabajo viene dada por la gran demanda de técnicas que mejoran la forma de hacer cirugía de hoy en día. En el campo de la biomedicina se buscan técnicas mínimamente invasivas que apenas tengan efectos adversos en el paciente. Las técnicas utilizadas en la actualidad requieren una invasión excesiva en el paciente, dando lugar a posibles efectos adversos que conllevan efectos secundarios graves. Con la técnica de espectroscopía de ruptura inducida por láser, una técnica in-situ, se consigue una mejora en la calidad de vida del paciente. Además de, por supuesto, evitar los riesgos innecesarios que se producen con técnicas más invasivas.

Uno de los elementos fundamentales de la aplicación de LIBS en intervenciones sobre tejidos biológicos es la ablación óptica de tejidos biológicos [3]. Es precisamente este efecto el que permite la cirugía basada en fuentes ópticas, así como la propia generación del plasma que da lugar a la espectroscopía. En la sección 2 de este trabajo se analiza en detalle el proceso. Este último sistema consiste en un elemento de esparcimiento, un detector óptico, la electrónica de detección y un ordenador. La fundamentación de la técnica LIBS se describe en la

sección 3. La sección 4 trata del objetivo del trabajo, relacionado con las intervenciones craneales. Allí se describen los tipos de tejidos biológicos relevantes, así como el procedimiento de análisis para realizar la distinción. En la sección 5 se aplica el procedimiento de análisis a los espectros de los tejidos identificados, y se estima la capacidad de detección de la técnica. Por último la sección 6 contiene las conclusiones del trabajo.

2. Ablación ópticamente inducida

La ablación láser viene dada por una variedad de mecanismos no lineales [4]. La ablación láser se divide en tres procesos principales a tener en cuenta: ruptura de enlaces y la ignición de plasma, expansión y enfriamiento del plasma y expulsión de partículas y condensación. La duración de estos procesos, que comienza con la absorción electrónica de energía óptica láser, va desde 10^{-15} hasta 10^{-3} segundos, una vez que el pulso láser ha finalizado. Durante el proceso de ignición de plasma, las propiedades que vaya a adquirir el plasma dependen en gran medida de la irradiancia láser y la duración del pulso [5].

Para materiales dieléctricos con una banda prohibida ancha se tiene una determinada absorción relacionada con la energía de dicha banda prohibida. Además, se producirá un segundo efecto, ionización túnel. Este efecto sucede con un campo eléctrico muy intenso y provoca que los electrones pasen a través de la barrera de potencial y escapen del átomo. La barrera por la cual los electrones escapan se crea debido a un campo eléctrico fuerte, la superposición del campo Coulomb y el campo eléctrico resultante del pulso láser. El paso por dicha barrera puede caracterizarse mediante:

$$\gamma = \frac{\omega \sqrt{2m_e E_g}}{e E_A} \quad (1)$$

Donde m_e y e son la masa efectiva y la carga del electrón y E_A es la amplitud del campo eléctrico oscilante láser para una frecuencia ω . Si γ es mucho mayor que 1 diremos que la ionización multifotónica domina el proceso de excitación. Para materiales semiconductores, donde la energía de fotón es mayor que la banda prohibida, el proceso dominante será la absorción de fotones para excitar electrones de la banda de valencia a la banda de conducción. La siguiente ecuación nos sirve para describir la inyección de electrones a la banda de conducción, bajo la combinación de la excitación multifotón y la ionización de avalancha:

$$\frac{dN}{dt} = aIN + \sigma NI^n \quad (2)$$

donde a será una constante.

A continuación se describen las particularidades del proceso de ablación en función de la duración del pulso [6].

2.1. Ablación por láser de nanosegundo

En el caso de tener un láser con una duración de nanosegundos, y una irradiancia láser del orden de 10^7 - 10^{11} W/cm², tendremos unos mecanismos implicados en ablación: punto de fusión, fusión, sublimación, vaporización, ionización, etc. Si tenemos una irradiancia láser lo suficientemente alta, la ablación no térmica también es importante y puede coexistir con los mecanismos térmicos. En caso de tener una irradiación con láser menor a 10^8 W/cm², los procesos térmicos serán los dominantes. Durante el pulso láser la temperatura en la superficie de la muestra se elevará, y finalmente, se fundirá y vaporizará. La tasa de vaporización térmica viene dada en función de la temperatura superficial suponiendo equilibrio térmico:

$$J_v = 1.06 \times 10^6 \exp\left(-\frac{L_v}{k_B}\left(\frac{1}{T_s} - \frac{1}{T_B}\right)\right) \sqrt{\frac{M}{2\pi k_B T_s}} \quad (3)$$

donde L_v es el calor de vaporización y M es la masa de vapor. k_B es la constante de Boltzmann y T_B y T_s la temperatura y el punto de ebullición de la muestra. La masa vaporizada puede ser ionizada mediante la absorción del haz láser entrante formando a su vez plasma. La radiación láser es absorbida principalmente por la inversa de la ecuación de Bremsstrahlung. Esto implica la absorción de un fotón por electrones libres durante la colisión con partículas pesadas (iones y átomos).

2.2. Ablación por láser de picosegundo

En procesos con láseres de esta duración, la estructura puede ser fundida a través de procesos tanto térmicos como no térmicos, dependiendo de la irradiancia láser. Los electrones son expulsados de la superficie durante el pulso láser. Los electrones libres pueden interactuar con el aire y absorber energía láser iniciando un plasma de aire durante la duración del pulso láser. La densidad de electrones se mide con el patrón de interferencia, utilizando la expresión siguiente:

$$N_e(z) = \frac{2\varepsilon_0 m_e \omega^2 \lambda q(z)}{e^2 l(z)} \quad (4)$$

donde $q(z)$ y $l(z)$ son el desplazamiento de fase medio y la anchura del plasma en la posición z . ω y λ son la frecuencia circular y longitud de onda del haz. La densidad de electrones en este plasma de aire está en torno a 10^{20} cm⁻³, un dato mayor a la densidad del aire. Este plasma se observa inmediatamente y se expande longitudinalmente durante la duración del pulso láser. La principal diferencia con el láser de nanosegundo es que el blindaje plasma en este caso está causado no por la absorción de plasma, sino por el aire.

2.3. Ablación por láser de femtosegundo

En este caso, durante el pulso se puede despreciar la conducción térmica en la muestra. Y obtenemos unas

ventajas claras sobre los otros tipos de pulsos, como son un rápido proceso de ablación, muy preciso y más reproducible. Para ablación con láser de nanosegundos y femtosegundos, la profundidad del corte aumenta linealmente con el número de pulsos. Sin embargo, en el caso del láser de femtosegundos, el corte es casi dos veces más profundo utilizando la misma afluencia de pulsos. En cuanto a lo referente a la técnica LIBS, se han encontrado diferencias significativas en la evolución de las líneas de emisión para diferentes duraciones de pulso. Por otro lado, la temperatura del plasma aumenta con la duración del pulso láser, sin embargo, la densidad de electrones se mantiene relativamente constante.

En comparación con el láser de nanosegundos, el plasma se descompone más rápido cuando se induce por láser de femtosegundos. Esto se debe a que, con el láser de nanosegundos, el plasma absorbe parte de la energía y este se vuelve a calentar, alargando su tiempo de vida.

3. Fundamentos de LIBS

La principal diferencia entre las diferentes configuraciones de LIBS es la forma óptica de recogida de la radiación que emite la nube de plasma [2]. Los principales problemas que nos vamos a encontrar para configurar nuestro LIBS, serán la alineación y la sensibilidad, pudiendo llevarnos a la pérdida de información espectral del plasma generado. El montaje experimental LIBS creado para el estudio de muestras sólidas consiste en un conmutador de doble frecuencia con láser Nd: YAG que nos proporciona una energía aproximada de 300 mJ a una longitud de onda de 532 nm con un pulso de 5 ns de duración. A una frecuencia de 10 Hz, enfocado con un espejo dielectrico y utilizando una lente de cuarzo para recoger la emisión óptica del plasma inducido por el láser. Dos lentes de cuarzo de 100 mm y 50 mm se utilizan para acoplar la emisión de plasma de un mazo de fibra, compuesto por 80 fibras individuales de 0.01 mm de diámetro del núcleo. Este se acopla el espectrómetro utilizado como ranura de entrada. El detector de carga acoplada (ICCD) se adjunta al plano focal de salida del espectrómetro, resultando útil para detectar la luz esparcida del plasma inducido por láser. Este detector se sincroniza con la salida del pulso láser. Se acumulan alrededor de 100 pulsos para obtener un espectro, de los cuales 30 se registran para la condición experimental.

Se busca producir suficiente energía, además de estable, para generar plasma. Para esto se utilizan varios láseres con longitudes de onda desde el infrarrojo al visible. Como ejemplo, tenemos el láser de estado sólido Nd: YAG (1064 nm, 532 nm con una duración de pulso de 5-10 ns). Este tipo de láser es el más utilizado en esta técnica. Las energías típicas oscilan entre las decenas y cientos de mJ con potencias de pico de MW, suficientes para generar plasma. Los detectores, que en los inicios eran fotográficos, se han remplazado por tubos fotomultiplicadores (PMT), matriz de fotodiodos (PDA), o los dispositivos de carga acoplada (CCD), que nos proporcionan medidas más rápidas y precisas. Se ha comprobado que los CCD son alrededor de tres órdenes de magnitud más sensibles que los PDA, sin embargo, su rango espectral es limitado, ya que se detecta mediante

electrodos transparentes que operan generalmente sólo en el rango visible.

El espectrómetro Echelle ofrece una gran potencia de resolución espectral ($\lambda/\Delta\lambda \geq 10.000$) en combinación con una cobertura espectral de varios cientos de nanómetros. Si combinamos el espectrómetro con dispositivos de carga acoplada intensificados, conseguimos una herramienta muy potente para analizar el plasma, mejorando sustancialmente en los límites de detección. Este tipo de espectrómetros se han convertido en una gran revolución en el estudio de los datos espectrales, ya que con este método facilitamos la obtención de resultados, obteniendo además una mayor precisión, determinando los límites de detección y las temperaturas del plasma, además de la densidad de electrones. Por otro lado, gracias a su alta resolución tenemos una mayor facilidad para detectar elementos de una baja concentración. La principal ventaja del sistema Echelle es su alta resolución, que es realmente útil para evitar la interferencia espectral. La segunda ventaja es su cobertura espectral; el amplio rango que cubre este sistema (200 – 780 nm) hace posible que se midan un gran rango de concentraciones. Esta amplia gama es adecuada para el análisis multi-elemental, con ello reconocemos elementos presentes en una muestra desconocida, siempre que la muestra se encuentre en la pluma de plasma producida por el láser. La principal dificultad frente a esta técnica es la variación de intensidades de las líneas espectrales, que dependen de la interacción láser-tejido. Se ha estudiado como posibilidad de resolución para este problema normalizar las señales utilizando la variación de temperatura de excitación del plasma, realizable con el sistema Echelle y no con un espectrómetro convencional.

4. Aplicación a tejido cerebral

El método de análisis de componentes principales (PCA) se utiliza para extraer información relevante en un conjunto de datos [7]. Utilizando este método obtenemos una reducción de datos complejos, simplificando la estructura que se ha recogido de los espectros. Lo que buscamos con el análisis de componentes principales es calcular una base significativa para expresar, en nuestro caso, el espectro y poder compararlo con muestras e interpretar los resultados. Utilizar esta función permite distinguir qué datos son importantes, cuáles son redundantes y cuáles no nos interesan. Para aplicar la función PCA en Matlab[®] debemos conseguir una matriz que englobe todas las muestras. El análisis de componentes principales nos ofrece varios resultados. Por un lado, los coeficientes de las componentes principales. Por otro lado, obtenemos una matriz de resultados. Esta matriz es la necesaria en la aplicación del trabajo. Por último, podemos obtener las varianzas de las componentes.

Para la aplicación al tejido cerebral precisaremos de los espectros del plasma inducido por diferentes tipos de tejidos biológicos [8]. Por un lado, se emplean espectros de tejido nervioso, tejido muscular y tejido adiposo. Estos tejidos constituyen componentes básicos del tejido craneal. De la misma forma, el tejido óseo o el tejido epitelial se utilizarán en la aplicación principal de este trabajo.

Algunos de estos espectros LIBS promedio aparecen en la Figura 1.

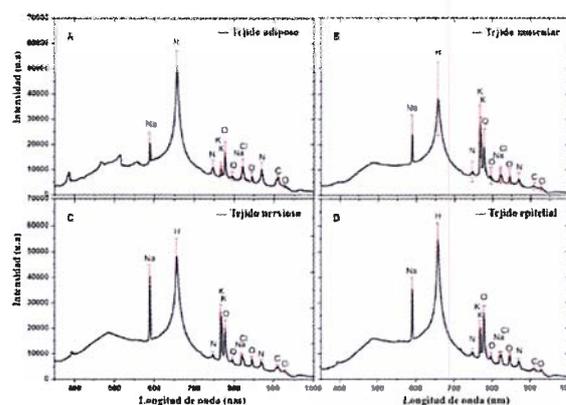


Figura 1. Espectros de tejido a) adiposo, b) muscular, c) nervioso y d) epitelial [8].

Por otro lado, y en aras de comprobar la capacidad diagnóstica de un sistema LIBS, se compararán los resultados de espectros de muestras de riñón, diente y encéfalo.

Los espectros obtenidos deben ser filtrados para pasar a formar parte del sistema de clasificación. Para ello, se seleccionan las longitudes de onda más significativas, con un total de 106 puntos, entre 350 y 950 nm. Posteriormente se aplicará el algoritmo PCA a la matriz resultante y se obtendrá el análisis de componentes principales.

5. Resultados y discusión

El primer paso consistirá en la representación de las dos primeras componentes de cada observación, para los diferentes tejidos craneales, así como para los tejidos de comparación. Estos resultados aparecen en la Figura 2.

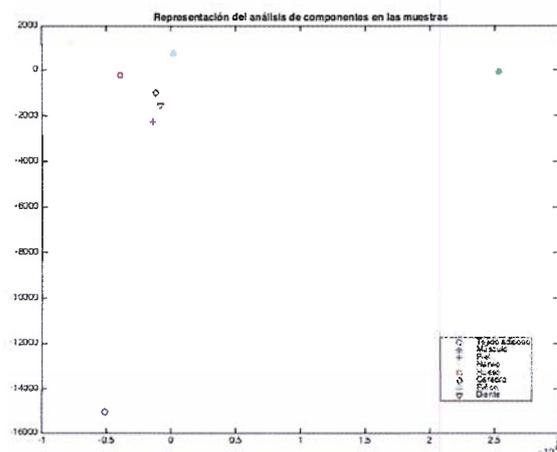


Figura 2. Representación de las dos componentes principales de cada una de las muestras de tejido.

En la Figura 2 se puede observar cómo la mayoría de los tejidos no básicos se aproximan al tejido nervioso. Esto puede ser debido a la amplia extensión de este sistema nervioso. Asimismo, se observa en la Figura 2 que una muestra de diente tiene mayor similitud con el hueso. Para comprobarlo de forma analítica se calculan las distancias a los principales tejidos: nervio, músculo, hueso y tejido

adiposo, utilizando la norma euclídea, aplicada sobre las cinco primeras componentes. Los resultados obtenidos son los esperados, reflejados en la Figura 3. La distancia más corta con una muestra de diente es el tejido óseo. También se puede observar que a una distancia no mucho mayor se encuentra el tejido nervioso. Esto puede ser debido a la cantidad de nervios que hay en el diente, y de alguna forma se ven reflejados en el espectro de una muestra de dentadura.

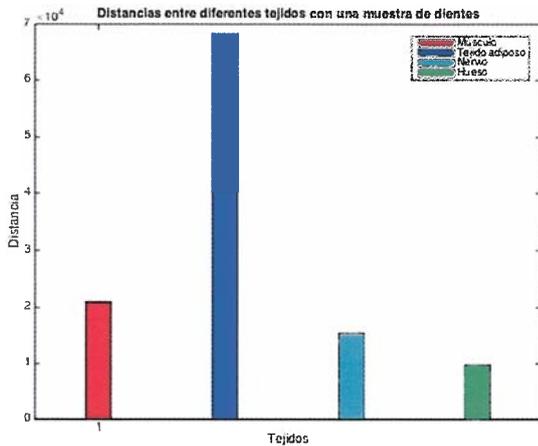


Figura 3. Distancia entre tejido de diente y los diferentes tejidos básicos.

Lo que interesa en una cirugía craneal es cómo podemos distinguir entre los tres tejidos más relevantes: piel, hueso craneal y cerebro. Es una zona en la que el tejido principal es el óseo. Por un lado, para diferenciar de la piel, y por otro lado, y más importante, para diferenciar del tejido cerebral. Se puede comprobar en la Figura 4 que la distancia con la piel es mayor. Esto puede ser debido a que las diferentes capas que componen la piel aumentan la distancia con el hueso. En cualquier caso, se observa una distancia suficiente como para permitir, en su caso, una distinción entre los tres tipos de tejido.

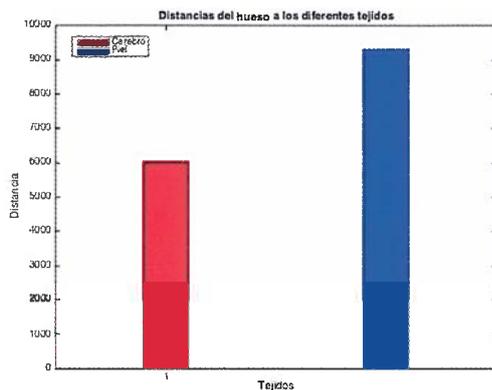


Figura 4. Representación gráfica de las distancias de los tejidos cerebral y epitelial con respecto al hueso.

6. Conclusiones

Las aplicaciones de LIBS para el análisis de muestras biológicas y médicas se han desarrollado en los últimos años. El estudio sobre tejido blando o duro e incluso sangre u orina demuestra que la técnica LIBS tiene gran potencial

para aplicaciones en ciencias de la vida. En este trabajo se ha desarrollado un sistema, basado en Matlab®, para analizar diferentes tejidos y comprobar la utilidad de la técnica. Se ha comprobado su utilidad para distinguir tejido, así como para saber en qué momento cambia y poder detener la cirugía o el correspondiente tratamiento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España "Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión" (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Vo-Dinh T. Biomedical Photonics Handbook. Boca Raton CRC Press, 2003.
- [2] Cremers DA, Radziemski LJ. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. John Wiley & Sons Inc., 2006.
- [3] Niemz MH. Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications. Springer, 2004.
- [4] Vogel A, Venugopalan V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. *Chem. Rev.*, vol 103, 2003, pp 577-644.
- [5] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Analysis of laser surgery in non-melanoma skin cancer for optimal tissue removal. *Laser Physics*, vol 25, 2015, pp 025606-14.
- [6] Loesel FH, Niemz MH, Bille JF, Juhasz T. Laser-Induced Optical Breakdown on Hard and Soft Tissues and Its Dependence on the Pulse Duration: Experiment and Model. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, vol 32, 1996, pp 1717-1722.
- [7] J. Shlens, "A tutorial on Principal Component Analysis", 2005, https://www.cs.princeton.edu/picasso/mats/PCA-Tutorial-Intuition_jp.pdf
- [8] Kanawade R, Mahari F, Klämpfl F, Rohde M, Knipfer C, Tangerman-Gerk K, Adler W, Schmidt M, Stelzle F. Qualitative tissue differentiation by analysing the intensity ratios of atomic emission lines using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): prospects for a feedback mechanism for surgical laser system. *Journal of Biophotonics*, vol 8, 2015, pp 153-161.