

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS  
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

**UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**



*Trabajo Fin de Grado*

**ESTUDIO PARA EL DESARROLLO DE  
FANTOMAS ÓPTICOS QUE SIMULAN  
TEJIDOS BIOLÓGICOS.**

**Study for the development of optical phantoms  
that simulate biological tissues**

Para acceder al Titulo de

*Graduado en  
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación*

Autor: Pablo Valín Gómez

Octubre - 2018



## GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

### CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

**Realizado por:** Pablo Valín Gómez

**Director del TFG:** Jose Luis Arce Diego, Felix Fanjul Vélez

**Título:** "Estudio para el desarrollo de fantomas que simulen tejidos biológicos"

**Title:** "Study for the development of optical phantoms that simulate biological tissues "

**Presentado a examen el día:** 10 de Octubre de 2018

para acceder al Título de

## GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Jose Luis Arce Diego

Secretario (Apellidos, Nombre): Franco Ramírez Terán

Vocal (Apellidos, Nombre): M<sup>a</sup> Luisa de la Fuente Rodríguez

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de: .....

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

Fdo.: El Director del TFG  
(sólo si es distinto del Secretario)

Vº Bº del Subdirector

Trabajo Fin de Grado No (a asignar  
por Secretaría)

Este Trabajo Fin de Grado (Máster) ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión" (Mat2015-69508-P), por el proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad, Plan Nacional de I+D+I, Acción Estratégica en Salud "Electroencefalografía intracortical en pacientes con daño cerebral agudo" (PI17/00156), cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

## Agradecimientos

Me gustaría agradecer a los directores del proyecto y profesores, Jose Luis Arce Diego y Félix Fanjul Vélez no solo la ayuda que me han prestado, sino también la confianza depositada en mí para realizar este trabajo, y al Grupo de Investigación de la Universidad de Cantabria de Técnicas Ópticas Aplicadas.

Agradecer también a todos los profesores que durante estos cuatro años de carrera me han ayudado a adquirir valiosos conocimientos y a crecer. Otra parte importante a los que me gustaría agradecer es a mis amigos, que siempre me han apoyado y me han ayudado a seguir adelante.

Por último, el mayor de los agradecimientos a mis padres, tíos y abuelos por todo el apoyo, cariño y ánimo que me han dado durante todo el camino, en el que nunca han dejado de confiar en mi.

Todos formáis parte de este trabajo. Muchas Gracias.

# Índice

Graduado en.....	1
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación.....	1
<b>Capítulo 1: .....</b>	<b>8</b>
<b>Motivación y Objetivos .....</b>	<b>8</b>
1.1.    Contexto.....	9
1.2.    Objetivos .....	10
1.3.    Estructura del documento.....	11
<b>Capítulo 2: .....</b>	<b>12</b>
<b>Propiedades y propagación de la luz en medios ópticos. ....</b>	<b>12</b>
2.1.    Introducción.....	13
2.2.    Índice de refracción .....	14
2.3.    Dispersión .....	15
2.3.1.    Límite de Rayleigh.....	16
2.3.2.    Régimen de Mie.....	16
2.3.3.    Límite geométrico.....	17
2.4.    Absorción .....	17
2.5.    Birrefringencia.....	18
2.6.    Propagación de la luz .....	20
2.6.1.    Luz coherente e incoherente .....	20
2.6.2.    Scattering múltiple .....	21
2.6.3.    Parámetros básicos del modelo de transporte de radiación .....	22
2.6.4.    Ecuación de transporte de radiación .....	23
2.6.5.    Teoría de transporte de fotones .....	23
2.6.5.1.    Dispersión de primer orden.....	24
2.6.5.2.    Teoría de Kubelka-Munk .....	24
2.6.5.3.    Aproximación de difusión .....	25
2.6.5.4.    Simulaciones de Montecarlo .....	26
2.6.5.5.    Método agregación-duplicación inversa .....	27
2.7.    Conclusión .....	28
<b>Capítulo 3: .....</b>	<b>29</b>
<b>Tejidos biológicos.....</b>	<b>29</b>
3.1.    Introducción.....	30

<b>3.2.</b>	<b>Tejido epitelial .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3.</b>	<b>Tejido conjuntivo .....</b>	<b>33</b>
<b>3.4.</b>	<b>Tejido muscular .....</b>	<b>35</b>
<b>3.5.</b>	<b>Tejido nervioso.....</b>	<b>38</b>
<b>3.6.</b>	<b>Conclusión .....</b>	<b>39</b>
<b>Capítulo 4: .....</b>		<b>40</b>
<b>Propiedades ópticas de los tejidos biológicos.....</b>		<b>40</b>
<b>4.1.</b>	<b>Introducción.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.</b>	<b>Índice de refracción .....</b>	<b>45</b>
<b>4.3.</b>	<b>Absorción .....</b>	<b>45</b>
<b>4.4.</b>	<b>Scattering .....</b>	<b>46</b>
<b>4.5.</b>	<b>Conclusión .....</b>	<b>47</b>
<b>Capítulo 5: .....</b>		<b>48</b>
<b>Fantomas para simular tejidos biológicos.....</b>		<b>48</b>
<b>5.1.</b>	<b>Introducción.....</b>	<b>49</b>
5.1.1.	Fantomas que simulan tejidos.....	49
5.1.2.	Composición de los fantomas ópticos.....	50
5.1.3.	Características de los fantomas.....	50
<b>5.2.</b>	<b>Dispersión de partículas en fantomas .....</b>	<b>51</b>
5.2.1.	Dispersores basados en lípidos comercialmente disponibles .....	52
5.2.2.	Microesferas de polímeros .....	52
5.2.3.	Dióxido de titanio y óxido de aluminio.....	53
<b>5.3.</b>	<b>Fantomas en suspensión acuosa.....</b>	<b>53</b>
5.3.1.	Absorbentes exógenos en fantomas acuosos.....	54
5.3.2.	Fantomas a base de lípidos.....	55
<b>5.4.</b>	<b>Fantomas basados en hidrogel .....</b>	<b>55</b>
5.4.1.	Aditivos a los fantomas de gelatina para mejorar su función.....	55
<b>5.5.</b>	<b>Fantomas de resina de poliéster y poliuretano.....</b>	<b>57</b>
<b>5.6.</b>	<b>Temperatura de vulcanización de los fantomas de silicona .....</b>	<b>58</b>
<b>5.7.</b>	<b>Nuevos materiales para fantomas ópticos.....</b>	<b>59</b>
5.7.1.	Fantomas de alcohol de polivinilo .....	60
5.7.2.	Fantomas a base de masa .....	60
5.7.3.	Tejido Ex-vivo .....	61
<b>5.8.</b>	<b>Fantomas multicapa.....</b>	<b>61</b>
5.8.1.	Fantomas a base de polielectrolitos.....	61
<b>5.9.</b>	<b>Propiedades opto-mecánicas de fantomas estructurales.....</b>	<b>62</b>
5.9.1.	Fantomas de Silicona .....	63
5.9.2.	Fantomas de fibrina.....	64
5.9.3.	Fantomas PVA-C .....	65
5.9.4.	Propiedades mecánicas .....	65

<b>5.9.4.1.</b> <b>Elasticidad</b> .....	<b>66</b>
<b>5.9.4.2.</b> <b>Viscoelasticidad</b> .....	<b>66</b>
<b>5.10.</b> <b>Técnicas de diseño de fantomas.</b> .....	<b>66</b>
5.10.1.   Diseño de fantomas birrefringentes.....	66
<b>5.10.1.1.</b> <b>Birrefringencia inducida por estrés</b> .....	68
<b>5.10.1.2.</b> <b>Recocido</b> .....	69
<b>5.10.1.3.</b> <b>Extensión</b> .....	70
<b>5.10.1.4.</b> <b>Matriz</b> .....	71
<b>5.10.1.5.</b> <b>Resultados</b> .....	72
5.10.2.   Diseño de otros tipos de fantomas.....	74
<b>5.10.2.1.</b> <b>Propiedades ópticas necesarias para la fabricación de fantomas</b> .....	76
<b>5.10.2.2.</b> <b>Fabricación de fantomas multicapa</b> .....	76
<b>5.11.</b> <b>Conclusion</b> .....	<b>77</b>
<b>Capítulo 6:</b> .....	<b>78</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>78</b>
<b>Capítulo 7:</b> .....	<b>80</b>
<b>Bibliografía.</b> .....	<b>80</b>

# Capítulo 1:

# Motivación y Objetivos

---

En este capítulo se va a realizar una breve descripción del contexto en el que se desarrolla este trabajo. Además, se va a hablar de los objetivos propuestos durante el desarrollo del trabajo y como se encuentra estructurado.

## 1.1. Contexto

Este trabajo se encuentra enmarcado en el campo de la Ingeniería biomédica. La ingeniería biomédica es una disciplina de reciente creación. Su definición más aceptada podría ser la aplicación de los principios de la ingeniería a las ciencias de la vida. Combina los criterios de diseño en ingeniería y las herramientas de análisis provenientes de las matemáticas, la física y la química a la resolución de problemas en medicina, biología...

Esta disciplina se puede reconocer como un campo multidisciplinar. Debido a su diversidad, podemos encontrar diferentes campos de trabajo como son:

- Bioelectromagnetismo y técnicas cerebrales.
- Biomateriales.
- Biomecánica y biotransporte.
- Creación de imágenes y óptica biomédicas.
- Biología de sistemas.
- Instrumentación biomédica.
- Ingeniería molecular y celular.
- Producto sanitario...

Debido a su gran desarrollo en la actualidad, la Ingeniería biomédica, se considera como una de las tecnologías punteras del siglo XXI, según lo establecido por los estudios de la National Academy of Engineering (NAE).

## 1.2. Objetivos

El principal objetivo de este trabajo es el estudio de técnicas para la fabricación de fantomas ópticos que simulan tejidos biológicos.

Para poder desarrollar fantomas ópticos, es necesario conocer de manera previa diferentes aspectos:

- Propiedades ópticas de los materiales. Entre ellas encontramos fenómenos como refracción, dispersión, absorción...
- Como se propaga la luz a través de los distintos materiales.
- Tipos de tejidos biológicos existentes.
- Características y propiedades ópticas de los tejidos biológicos.
- Birrefringencia óptica.

### 1.3. Estructura del documento.

En este trabajo se van a tratar todos los aspectos necesarios para llegar al objetivo de este, que es el desarrollo de fantomas ópticos que simulen tejidos biológicos. Para ello, se ha dividido el trabajo en las siguientes partes:

- En el primer capítulo, se realiza una pequeña introducción para conocer en que va a consistir el trabajo, dentro de que campo de la ciencia se va a realizar y como se va a estructurar.
- En el segundo capítulo se realiza un repaso de las diferentes propiedades ópticas existentes, incluyendo desde su definición, hasta las expresiones que te permiten obtener valores exactos de estas propiedades. Además, también se va a tratar la propagación de la luz a través de los medios ópticos.
- En el tercer capítulo se va a hablar de los diferentes tipos de tejidos biológicos existentes, de su composición, de las funciones que realizan...
- En el cuarto capítulo se van a aplicar los conocimientos de los capítulos dos y tres, para poder determinar las propiedades ópticas de los tejidos biológicos, explicando también algunos métodos a emplear para obtener los resultados.
- En el quinto capítulo se van a aplicar todos los conocimientos anteriores para desarrollar el tema principal del trabajo que son los fantomas. Se va a desarrollar el concepto de fantoma de forma general, explicando que es, que tipo de fantomas existen, cual es su composición... Una vez se han explicado de forma general, se va a entrar mas en detalle hablando de fantomas birrefringentes, y por último se van a describir diferentes técnicas para poder desarrollar diferentes tipos de fantomas ópticos que nos permitan simular tejidos biológicos.
- En el sexto capítulo se va a realizar una conclusión general sobre este trabajo, en el que se comentará la importancia de los fantomas en el desarrollo científico tanto en la actualidad como en un futuro.
- Para concluir, en el séptimo capítulo se nombrarán las referencias sobre las que se apoya este trabajo.

# Capítulo 2:

## Propiedades y propagación de la luz en medios ópticos.

---

En este capítulo se va a hablar de las propiedades ópticas de la luz, tales como la refracción, la dispersión y la absorción, explicando detalladamente cada una de ellas. También se va a realizar una descripción de todos aquellos aspectos que intervienen en la propagación de la luz a través de diferentes medios ópticos.

## 2.1. Introducción

El espectro electromagnético (Figura 2.1) proporciona un conjunto diverso de herramientas fotónicas para explorar, manipular e interactuar con sistemas biológicos. Una gran variedad de fenómenos electromagnéticos se utiliza en la biomedicina para detectar y tratar enfermedades y para avanzar en el conocimiento científico.

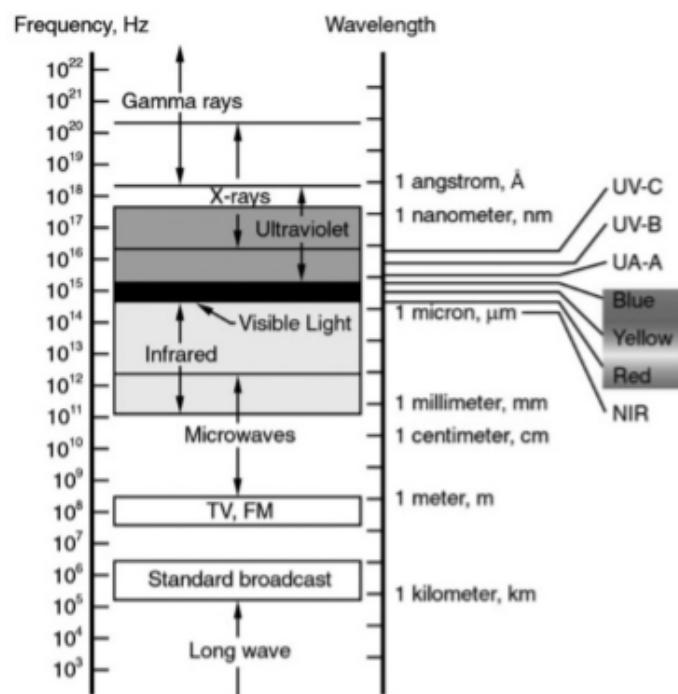


Figura 2.1. Espectro electromagnético. Incluye diferentes tipos de radiación ultravioleta, la región visible, y una parte de la radiación IR. [VOD 2003].

En este capítulo se van a comentar cuatro procesos fotofísicos que afectan la propagación de la luz en el tejido biológico: refracción, dispersión y absorción. Estos procesos pueden ser cuantificados por los siguientes parámetros:

- Índice de refracción.  $n(\lambda)$
- Dispersión.  $\sigma_s$
- Absorción.  $\sigma_a$
- Birrefringencia.

## 2.2. Índice de refracción

Se trata de una propiedad fundamental de los medios homogéneos, aunque también puede definirse para materiales heterogéneos. Para un medio homogéneo, el índice de refracción describe sus propiedades ópticas lineales. Se puede definir mediante la siguiente expresión:

$$\tilde{n}(\lambda) = n(\lambda) - i\alpha(\lambda) \quad (2.1)$$

Donde la parte imaginaria  $\alpha(\lambda)$  es la atenuación y abarca la atenuación de una onda debida a la absorción; y la parte real  $n(\lambda)$  se define en términos de la velocidad de fase de la luz en el medio.

$$c_m(\lambda) = \frac{c}{n(\lambda)} \quad (2.2)$$

Cuando una onda se propaga a través de un material con un índice de refracción, y se encuentra en el límite con otro medio con un índice de refracción diferente, se produce un cambio en la dirección de propagación de la onda. La cantidad de luz reflejada y transmitida a través de un límite depende de los índices de refracción de los dos materiales, el ángulo de incidencia y la polarización de la onda entrante. La relación entre el ángulo de incidencia y el ángulo de refracción para la luz transmitida está dada por la ley de Snell (Figura 2.2):

$$\sin \theta_2 = \frac{n_1}{n_2} \sin \theta_1 \quad (2.3)$$

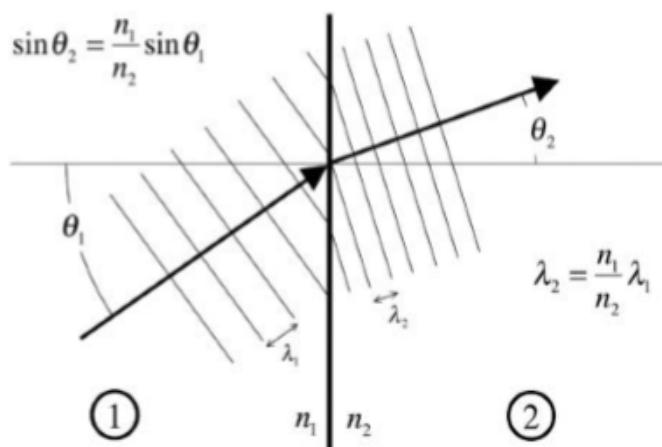


Figura 2.2. Fenómeno de refracción producido por un haz de luz incidente sobre un plano en el que se produce un cambio de medio. [VOD 2003].

## 2.3. Dispersión

En fotónica biomédica, los procesos de dispersión son importantes tanto en aplicaciones de diagnóstico como terapéuticas:

- Aplicaciones de diagnóstico: la dispersión depende del tamaño, la morfología y la estructura de los componentes en los tejidos. La variación de estos componentes debido a enfermedades afectaría a la dispersión.
- Aplicaciones terapéuticas: las señales de dispersión se pueden usar para determinar la dosimetría de luz óptima (como en aplicaciones láser) y proporcionar retroalimentación útil durante la terapia.

La dispersión se describe más simplemente considerando la luz incidente como una onda plana. Se determina a través de la sección transversal de dispersión. Cuando una onda que tiene una intensidad determinada se encuentra con un objeto de dispersión, cierta cantidad de energía se redirige.

La expresión que define la dispersión es la siguiente:

$$\sigma_s(\hat{s}) = \frac{P_{scatt}}{I_0} \quad (2.4)$$

Donde  $P_{scatt}$  es la potencia dispersa, e  $I_0$  es la intensidad.

El fenómeno de dispersión se representa en la siguiente imagen (Figura 2.3).

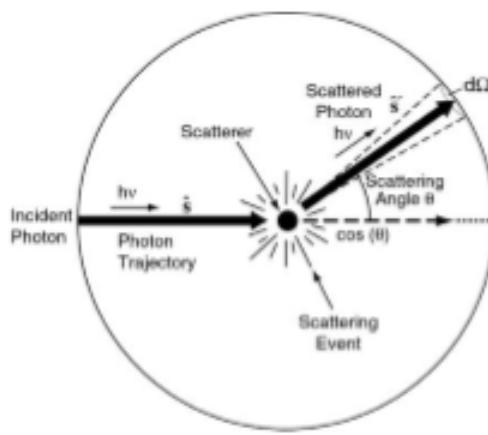


Figura 2.1. Representación de la sección transversal de dispersión. [VOD 2003].

El camino libre medio de dispersión representa la distancia promedio que recorre un fotón entre sucesos de dispersión consecutivos. En los tejidos biológicos, las

interacciones de dispersión a menudo son mecanismos que afectan la propagación de la luz.

La dispersión se clasifica en tres categorías, atendiendo al tamaño del objeto que produce la dispersión, con respecto a la longitud de onda.

### 2.3.1. Límite de Rayleigh

El límite de Rayleigh, donde el tamaño del dispersor es pequeño en comparación con la longitud de onda de la luz. Las estructuras que provocan esta dispersión incluyen componentes celulares tales como membranas y componentes extracelulares tales como la estructura de fibrillas de colágeno (muy delgada). La implicación más importante de la relación tamaño pequeño a longitud de onda es que, en cualquier momento, la dispersión solo ve un campo eléctrico espacialmente uniforme en el huésped circundante.

La sección transversal diferencial, para una partícula esférica de radio  $a$ , en el límite de Rayleigh es:

$$\frac{d\sigma_s}{d\Omega} = 8\pi^4 (n_m)^4 \left( \frac{n_s^2 - n_m^2}{n_s^2 + 2n_m^2} \right)^2 \frac{a^6}{\lambda^4} (1 + \cos^2\theta) \quad (2.5)$$

Donde  $\theta$  es el ángulo entre la dirección de la onda entrante y la dirección de salida, y  $n_m$  y  $n_s$  son los índices de refracción del medio receptor y del dispersor respectivamente.

### 2.3.2. Régimen de Mie

El régimen de Mie, donde el tamaño del dispersor es comparable a la longitud de onda. En principio, el régimen de Mie se puede aplicar a cualquier relación entre tamaño del objeto y longitud de onda, aunque principalmente se utiliza en el rango del tamaño intermedio, donde Rayleigh y la aproximación geométrica no son válidas. Dentro de este rango podemos incluir algunas estructuras, como mitocondrias, núcleos...que pueden tener un tamaño similar al de una longitud de onda. Mie, da como resultado una dependencia angular más compleja para la luz dispersa con respecto a la aproximación de Rayleigh. También puede haber resonancias y nulos debido a las interferencias constructivas y destructivas de los campos configurados en el dispersor.

Como en el límite de Rayleigh, la sección transversal en el régimen de Mie puede calcularse utilizando el modelo clásico, pero puede modularse mediante transiciones cuánticas en las moléculas constituyentes del dispersor.

### 2.3.3. Límite geométrico

El límite geométrico, donde la longitud de onda es mucho más pequeña que el dispersor. En este caso, la interacción del dispersor de la luz se describe mediante rayos que se refractan y reflejan en los límites de los obstáculos.

## 2.4. Absorción

La absorción es un proceso que requiere de la extracción de energía de la luz por una especie molecular. En el campo de la ingeniería biomédica, es importante en dos aplicaciones:

- Diagnóstico: las transiciones entre dos niveles de energía de una molécula que están bien definidos en longitudes de onda específicas podrían servir como huella digital espectral de la molécula para fines de diagnóstico.
- Aplicaciones terapéuticas: la absorción de energía es el mecanismo primario que permite que la luz provenga de un láser para producir efectos físicos en el tejido con fines de tratamiento.

Existen tres tipos diferentes de procesos de absorción:

- Electrónicos: Cuando una molécula absorbe energía, se eleva a alguno de los niveles superiores que se encuentran excitados. La intensidad de absorción depende de la intensidad de radiación de excitación, y la probabilidad de transición con fotones de energía. Un término muy utilizado para caracterizar la intensidad de absorción es la fuerza del oscilador ( $f$ ), que sigue la siguiente expresión:

$$f = 4.315 * 10^{-9} \int \varepsilon_\nu d\nu \quad (2.6)$$

Donde  $\varepsilon_\nu$  es el coeficiente de extinción molar a una frecuencia  $\nu$ . Dependiendo de los tipos de especies, las transiciones electrónicas tienen energías que corresponden a los fotones desde el UV a través de las regiones IR del espectro.

- Vibratorios: Los niveles vibratorios caracterizan los estados de vibración de los átomos en una molécula. Una transición vibratoria ocurre cuando una molécula cambia de un estado vibratorio a otro. Normalmente las transiciones vibratorias corresponden a las energías de los fotones IR.

- Rotativos: Los niveles rotativos representan los diferentes estados de rotación de una molécula. Cuando una molécula se somete a una transición electrónica, un electrón se transfiere de un orbital molecular a otro. En los compuestos biológicos podemos encontrar varios tipos de orbitales moleculares involucrados:
  - $\pi$  orbitales de unión.
  - $\pi^*$  orbitales sin unión.
  - $n$  orbitales sin unión (par solitario).

El orbital sin unión  $\pi^*$  es menos estable, y tiene una energía más alta que el enlace orbital  $\pi$ . La transición de un electrón de  $\pi$  a  $\pi^*$ , se denomina transición  $\pi\pi^*$ . La probabilidad de transición entre diferentes estados o niveles de energía se rige por reglas mecánicas cuánticas que dependen de la estructura química, el tamaño y la simetría de las moléculas.

La sección transversal de absorción  $\sigma_a$  se puede definir de la misma manera que para la dispersión, es decir:

$$\sigma_a = \frac{P_{abs}}{I_0} \quad (2.7)$$

Donde  $P_{abs}$  es la cantidad de potencia absorbida por una onda de intensidad inicialmente plana  $I_0$ .

Un medio con una distribución uniforme de partículas absorbentes idénticas se puede caracterizar por el coeficiente de absorción:

$$\mu_a = \rho \sigma_a \quad (2.8)$$

## 2.5. Birrefringencia

La birrefringencia o doble refracción es una propiedad óptica de ciertos cuerpos, que consiste en desdoblar un rayo de luz incidente en dos rayos linealmente polarizados de manera perpendicular entre sí como si el material tuviera dos índices de refracción distintos: la primera de las dos direcciones sigue las leyes normales de la refracción y se llama rayo ordinario; la otra tiene una velocidad y un índice de refracción variables y se llama rayo extraordinario.

Ambas ondas están polarizadas perpendicularmente entre sí. Este fenómeno sólo puede ocurrir si la estructura del material es anisótropa. Si el material tiene un solo eje de anisotropía, (es decir es uniaxial), la birrefringencia puede describirse asignando dos índices de refracción diferentes al material para las distintas polarizaciones.

Esta propiedad se puede encontrar en tejidos que contienen colágeno, como los músculos, los cartílagos...

En materiales biológicos, indica una ordenación de las moléculas, por ejemplo orientados entre sí, como sucede en un cristal.

- La birrefringencia de flujo o de corriente es la que se observa únicamente cuando la sustancia se encuentra en solución de moléculas grandes, como por ejemplo nucleoproteínas.
- La birrefringencia cristalina o intrínseca es la que ocurre en sistemas en los que los enlaces entre las moléculas o iones presentan una disposición regular simétrica; es independiente del índice de refracción del medio.
- La birrefringencia de forma es la que se origina por la orientación regular de partículas submicroscópicas asimétricas en una sustancia u objeto, difiriendo del índice de refracción del medio circundante; es la forma más frecuente encontrada en seres vivos.
- La birrefringencia de tensión es la observada ocasionalmente en estructuras isótropas cuando son sometidas a tensión o presión; ocurre en los tejidos muscular y embrionario,<sup>2</sup> en materiales translúcidos y explica el efecto fotoelástico.

La obtención de imágenes por birrefringencia, incluida la tomografía de coherencia óptica sensible a la polarización (PS-OCT), puede proporcionar información valiosa sobre la estructura microscópica y la organización de muchos tejidos biológicos. Se va a estudiar un método para fabricar fantomas de birrefringencia similares a los tejidos para tales modalidades de imágenes. Se utiliza el efecto fotoelástico, en el que se induce la birrefringencia estirando una muestra de polímero después de calentarla por encima de su temperatura de transición vítrea. Las muestras enfriadas exhiben establemente birrefringencia homogénea, y se ensamblaron en fantomas que contienen múltiples regiones bien definidas de distinta birrefringencia. Se presentan los fantomas de placas planas para aplicaciones de microscopía y fantomas cilíndricos para imágenes basadas en catéteres y demostramos el análisis cuantitativo de la birrefringencia dentro de las regiones individuales de interés. Los fantomas de birrefringencia permiten probar, validar, calibrar y mejorar los sistemas de adquisición de PS-OCT y las estrategias de reconstrucción.

Existen diferentes métodos, para fabricar fantomas robustos y duraderos que contienen elementos espacialmente definidos de birrefringencia predeterminada y orientación del eje óptico.

A continuación, se va a desarrollar un ejemplo para la obtención de imágenes PS-OCT.

## 2.6. Propagación de la luz

Como medios para la propagación de la luz, la mayoría de los tejidos humanos se consideran turbios.

En ausencia de absorción, una pequeña parte de los fotones lanzados en estos tejidos se dispersan múltiples veces, dando lugar a un campo difuso y en gran parte incoherente de luz penetrante. Como medios ópticos, estos tejidos se han modelado con éxito como sistemas de dos componentes:

- Partículas dispersas y de dispersión colocadas al azar.
- Partículas incrustadas en un continuo homogéneo.

### 2.6.1. Luz coherente e incoherente

Cuando se habla de coherencia se hace referencia a la capacidad de un campo de luz para mantener una relación de fase definida (no aleatoria) en el espacio y el tiempo y exhibir efectos de interferencia estables, como por ejemplo un rayo láser. Por otro lado, una fuente incoherente muestra patrones de fase aleatorios tanto temporal como espacialmente y, por lo tanto, no es capaz de exhibir efectos de interferencia estables u observables, como por ejemplo una bombilla incandescente. La diferencia entre ambas es que, en una fuente de luz coherente, al reflejarse contra una superficie muestra patrones moteados.

En los tejidos, la luz que se dispersa varias veces puede exhibir propiedades coherentes e incoherentes. En el contexto de la teoría de RT, los campos dispersos se consideran completamente incoherentes.

En la siguiente imagen (Figura 2.4) se muestra el caso en el que se considere el campo eléctrico total en un punto debido a dos dispersores de luz:

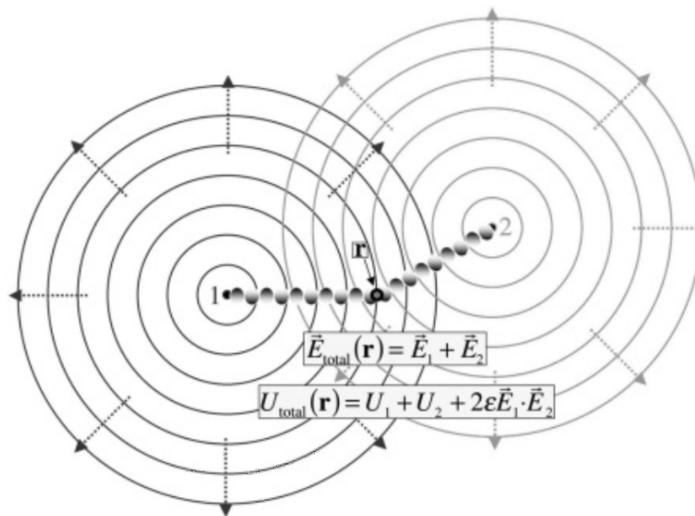


Figura 2.2. Campo eléctrico producido en un punto debido a dos dispersores de luz. [VOD 2003].

## 2.6.2. Scattering múltiple

El Scattering múltiple es un fenómeno importante a la hora de tratar la propagación de la luz en los tejidos biológicos.

Considerando un medio con una distribución uniforme de dispersores, cada dispersor tiene una sección transversal  $\sigma_s$ , y la densidad numérica de los dispersores está dada por  $\rho$ . El medio se puede dividir en las losas de espesor,  $\Delta z$ , y el incidente de campo en la primera losa es una onda plana con intensidad  $I_0$ , como se muestra en la siguiente figura (Figura 2.5):

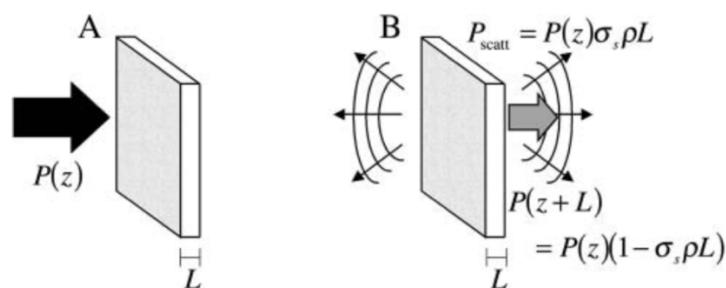


Figura 2.3. Esquema de dispersión múltiple. . [VOD 2003].

La energía dispersada fuera de la onda del plano incidente cuando cruza la capa está dada por:

$$I_0\sigma_s\rho A\Delta z = I_0\mu_s A\Delta z = I_0\sigma_s N_{layer} \quad (2.9)$$

Después de atravesar la capa, la energía restante en la onda plana es:

$$P_c(0 + \Delta z) = I_0 A - I_0 \sigma_s \rho A \Delta z = I_0 A (1 - \sigma_s \rho \Delta z) \quad (2.10)$$

La potencia restante después de propagarse a través de una longitud, L, es:

$$P_c(L) = I_0 A (1 - \sigma_s \rho \Delta z)^\Gamma = I_0 A \left(1 - \sigma_s \rho \frac{L}{\Gamma}\right)^\Gamma \quad (2.11)$$

### 2.6.3. Parámetros básicos del modelo de transporte de radiación

La dispersión múltiple y los efectos de decoherencia asociados en medios turbios suprimen de manera efectiva la naturaleza de onda de la luz, por lo que solo se puede rastrear la energía promedio que contienen las ondas.

El medio a través del cual se propaga la energía de la luz se caracteriza por tres parámetros:

- Coeficiente de absorción,  $\mu_a$ .
- Coeficiente de dispersión,  $\mu_s$ .
- La función de "fase" de dispersión,  $p(\hat{s} * \hat{s}')$ .

El coeficiente de atenuación total combina los efectos de absorción y dispersión de la siguiente manera:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (2.12)$$

A través del coeficiente de atenuación total, se puede definir el camino libre medio total como:

$$l_t = \frac{1}{\mu_a + \mu_s} = \frac{1}{\frac{1}{l_a} + \frac{1}{l_s}} \quad (2.13)$$

La función de fase de dispersión (SPF),  $p(\hat{s} * \hat{s}')$ , describe la fracción de energía de luz incidente en un dispersor desde  $\hat{s}'$  hasta que se dispersa en  $\hat{s}$ . El SPF se puede expresar en términos de la sección transversal de dispersión diferencial:

$$p(\hat{s} * \hat{s}') = \frac{4\pi}{\sigma_s + \sigma_a} \frac{d\sigma_s}{d\Omega} (\hat{s} * \hat{s}') \quad (2.14)$$

La integral del SPF sobre el ángulo sólido da lugar a  $W_0$ , que es la fracción de la sección transversal total que se debe a la dispersión:

$$W_0 = \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s} * \hat{s}') d\Omega = \frac{\sigma_s}{\sigma_a + \sigma_s} = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.15)$$

Otra constante de interés es el coseno promedio de dispersión, que es una medida de dispersión retenida en la dirección de avance después de un evento de dispersión.

$$\begin{aligned} g &= \frac{\int_{4\pi} p(\hat{s} * \hat{s}') \hat{s} * \hat{s}' d\Omega'}{\int_{4\pi} p(\hat{s} * \hat{s}') d\Omega'} = \frac{1}{4\pi W_0} \int_{4\pi} p(\hat{s} * \hat{s}') \hat{s} * \hat{s}' d\Omega' = \\ &= \frac{1}{2W_0} \int_{4\pi} p(\cos \theta) \cos \theta \sin \theta d\theta \end{aligned} \quad (2.16)$$

Para un dispersor Rayleigh  $g=0$ .

## 2.6.4. Ecuación de transporte de radiación

Esta ecuación también es conocida como la ecuación de Boltzmann, describe la propagación del modelo de la luz, y la dinámica de la intensidad específica. Esta ecuación sigue el siguiente modelo:

$$\frac{1}{c_m} \frac{d}{dt} I(r(t), \hat{s}, t) = -(\mu_a + \mu_s) I(r(t), \hat{s}, t) + \frac{(\mu_a + \mu_s)}{4\pi} \int p(\hat{s} * \hat{s}') I(r(t), \hat{s}', t) d\Omega + Q(r(t), \hat{s}, t) \quad (2.17)$$

Otra forma usual de la ecuación de transporte de radiación es:

$$\frac{1}{c_m} \frac{dI(r, \hat{s}, t)}{dt} = -\hat{s} * \nabla I(r, \hat{s}, t) - (\mu_a + \mu_s) I(r, \hat{s}, t) + \frac{(\mu_a + \mu_s)}{4\pi} \int p(\hat{s} * \hat{s}') I(r, \hat{s}', t) d\Omega + Q(r, \hat{s}, t) \quad (2.18)$$

## 2.6.5. Teoría de transporte de fotones

Una descripción matemática de las características de absorción y dispersión de la luz puede realizarse de dos maneras diferentes: teoría analítica o teoría de transporte. La teoría analítica se basa en la física de las ecuaciones de Maxwell. La aplicabilidad de la teoría analítica es limitada debido a las complejidades involucradas al derivar soluciones analíticas exactas. La teoría del transporte, por otro lado, aborda directamente el transporte de fotones a través de medios de

absorción y dispersión sin tener en cuenta las ecuaciones de Maxwell. La teoría del transporte se ha utilizado, cuando se trata de interacciones láser-tejido.

Dentro de la teoría de transporte, una variable muy importante a tener en cuenta es la radiación  $J(r, s)$ , y se expresa en  $Wcm^{-2}sr^{-1}$ . Describe la densidad del flujo de potencia en una dirección específica  $s$  dentro de un ángulo sólido unitario  $d\omega$ . La ecuación de transporte radiactivo sigue la siguiente expresión:

$$\frac{dJ(r,s)}{ds} = -\alpha_t J(r,s) + \frac{\alpha_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(s, s') J(r, s') dw' \quad (2.19)$$

El principal problema existente para la teoría del transporte es la evaluación del resplandor difuso, ya que los fotones dispersos no siguen un camino determinado, por lo que para poder solucionar estos problemas se deben utilizar las aproximaciones adecuadas y los enfoques estadísticos, que dependen principalmente de si la absorción o la dispersión es el proceso dominante de atenuación.

### 2.6.5.1. Dispersión de primer orden

Solo si la radiación difusa es considerablemente más pequeña que la radiación coherente puede darse una solución analítica suponiendo que:

$$J_c + J_d \approx J_c \quad (2.20)$$

En este caso la luz dispersa puede tratarse de manera similar a la luz absorbida. La dispersión de primer orden está limitada a las ondas incidentes del plano, y la dispersión múltiple no se tiene en cuenta.

### 2.6.5.2. Teoría de Kubelka-Munk

Se trata de un modelo útil, que todavía se encuentra restringido a la geometría lineal. A diferencia de la dispersión de primer orden, la suposición principal es que la radiación es difusa.

$$J_c = 0 \quad (2.21)$$

En la siguiente imagen (Figura 2.6) se muestra una geometría que ilustra que se pueden distinguir dos flujos difusos dentro del tejido: un flujo  $J_1$  en la dirección de la radiación incidente y un flujo retrodispersado  $J_2$  en la dirección opuesta.

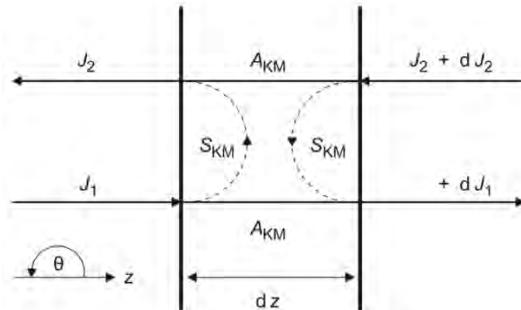


Figura 2.4. Geometría en la que se muestran dos flujos difusos.  $J_1$  en la dirección de radiación incidente y  $J_2$  en la dirección opuesta. [MAR 2017]

En esta teoría se definen dos coeficientes  $A_{KM}$  y  $S_{KM}$ , utilizados para definir la absorción y la dispersión difusa respectivamente. A partir de estos dos coeficientes se pueden construir dos ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dJ_1}{dz} = -S_{KM}J_1 - A_{KM}J_1 + S_{KM}J_2 \quad (2.22)$$

$$\frac{dJ_2}{dz} = -S_{KM}J_2 - A_{KM}J_2 + S_{KM}J_1 \quad (2.23)$$

La teoría de Kubelka-Munk es un caso especial de la llamada teoría de flujo, donde la ecuación de transporte se convierte en una ecuación diferencial al considerar la radiación en muchos ángulos discretos.

### 2.6.5.3. Aproximación de difusión

Para albedos en los que  $a \gg 0.5$ , es decir, si la dispersión sobrepasa la absorción, la parte difusa tiende a ser casi isótropa. Podemos expandir la radiación difusa  $J_d$  en una serie:

$$J_d = \frac{1}{4\pi}(I_d + 3F_d s + \dots) \quad (2.24)$$

Donde  $I_d$  es la intensidad difusa, y el flujo vectorial  $F_d$  d está determinado por la siguiente expresión:

$$F_d(r) = \int_{4\pi} J_d(r, s) s \, d\omega \quad (2.25)$$

En términos generales, la aproximación de difusión establece que:

$$I = I_c + I_d = A \exp(-\alpha_t z) + B \exp(-\alpha_{eff} z) \quad (2.26)$$

En la siguiente figura (Figura 2.7) se muestra la dependencia de la radiación difusa en la profundidad óptica, en el caso de dispersión isotrópica y para diferentes albedos.

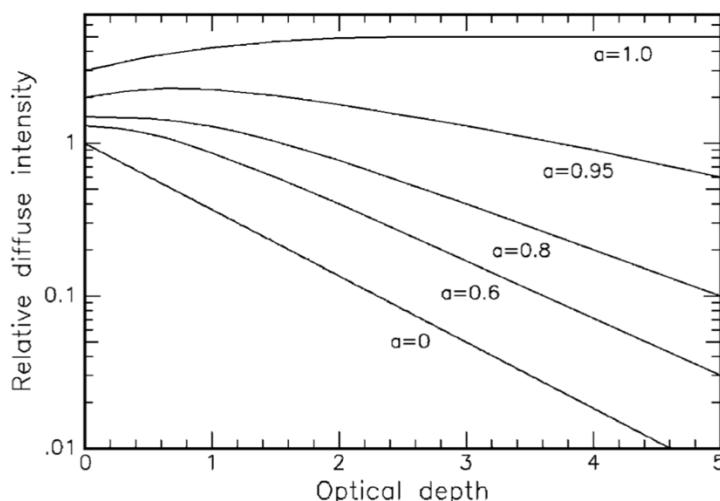


Figura 2.5. Dependencia de la radiación difusa en la profundidad óptica. [MAR 2017]

En esa imagen (Figura 2.7) se pueden observar varios aspectos:

- Para  $a = 0$ , la atenuación sigue la ley de absorción de Lambert.
- Para  $a = 1$ , se aproxima a un valor asintótico.
- Justo debajo de la superficie del medio de dispersión la intensidad difusa excede la intensidad incidente, ya que los fotones retrodispersados de las capas más profundas deben agregarse a la intensidad incidente.

#### 2.6.5.4. Simulaciones de Montecarlo

El método de Montecarlo, ejecuta una simulación de la trayectoria aleatoria de un número  $N$  de fotones. Debido a que la precisión de los resultados basados en estadísticas es proporcional a  $N$ , se debe tener en cuenta una gran cantidad de fotones para obtener una aproximación válida.

La idea principal de las simulaciones de Monte Carlo aplicadas a los fenómenos de absorción y dispersión es seguir la trayectoria óptica de un fotón a través del medio. La absorción se explica asignando un peso para cada fotón y reduciendo permanentemente este peso durante la propagación. Si se produce dispersión, se elige una nueva dirección de propagación de acuerdo con una función de fase dada y otro número aleatorio. Todo el procedimiento continúa hasta que el fotón escapa del volumen considerado o su peso alcanza un valor de corte dado.

Las simulaciones Monte Carlo de absorción y dispersión constan de cinco pasos principales:

- Generación de fotones fuente.
- Generación de vías.
- Absorción.
- Eliminación.
- Detección.

### 2.6.5.5. Método agregación-duplicación inversa

El método de duplicación supone que se conoce la reflexión y transmisión de la luz incidente en un cierto ángulo para una capa de una losa de tejido. Las mismas propiedades para una capa dos veces más gruesa se encuentran dividiéndola en dos losas iguales y agregando las contribuciones de reflexión y transmisión de cualquier losa.

El método de agregación extiende el método de duplicación a diferentes losas de tejido. Con este suplemento, también se pueden simular tejidos estratificados con diferentes propiedades ópticas.

En la siguiente imagen (Figura 2.8), se realizar una comparación entre los diferentes métodos para calcular la intensidad difusa en función de la profundidad óptica:

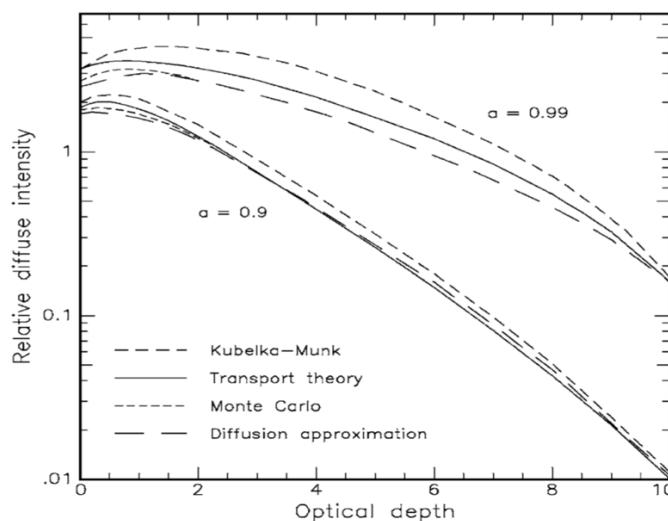


Figura 2.6. Comparación de los diferentes métodos que se han comentado. [MAR 2017].

## 2.7. Conclusión

Como se ha comentado en este capítulo, existen tres procesos fotofísicos que intervienen en la propagación de la luz en los tejidos biológicos.

El índice de refracción, que es característico de los medios homogéneos, y que lo que produce es un cambio en la dirección de propagación de la luz.

La dispersión, que es un proceso muy importante tanto para aplicaciones de diagnóstico como para aplicaciones terapéuticas, y que necesita considerar la onda incidente como plana. Se pueden distinguir tres categorías para clasificarlas: Régimen de Mie, Límite de Rayleigh y el Límite geométrico.

La absorción que requiere de la extracción de energía de la luz por una especie molecular. Existen tres tipos de procesos de absorción: electrónicos vibratorios y rotativos.

Después se realiza una descripción de como se propaga la luz, y que aspectos intervienen en la propagación, como el Scattering múltiple, y la teoría de transporte de fotones, que se basa en teorías como Kubelka-Munk o Montecarlo.

# Capítulo 3: Tejidos biológicos

---

En este capítulo se van a definir los diferentes tipos de tejidos biológicos, con sus características, las funciones que desempeña cada tejido y las estructuras que se pueden incluir en cada tipo de tejidos biológicos.

### 3.1. Introducción

Los tejidos biológicos son un conjunto de células especializadas organizadas para realizar conjuntamente una o varias tareas dentro del organismo.

Los tejidos biológicos están compuestos por:

- Células.
- Matriz extracelular: Medio en el que se encuentran inmersas las células.
- Moléculas de adhesión: Proteínas unidas a la membrana celular empleadas por las células para mediar las uniones entre ellas.
- Componentes de unión celular: Complementan la acción de las moléculas de adhesión celular para garantizar la estabilidad de los tejidos.

Los tejidos biológicos se pueden agrupar según sus características morfológicas o funcionales. Existen cuatro tipos principales de tejidos biológicos:

- Tejido epitelial.
- Tejido conjuntivo.
- Tejido muscular.
- Tejido nervioso.

### 3.2. Tejido epitelial

Las principales características de este tipo de tejido son:

- Células yuxtapuestas fuertemente cohesionadas.
- Escasa matriz extracelular.

- Renovación celular constante mediante mitosis.
- Se nutre mediante difusión.

Las uniones intercelulares en el tejido epitelial pueden clasificarse de la siguiente forma:

- Juntas de adhesión: Compuesta por hemidesmosomas y desmosomas;
- Juntas impermeables: También denominadas como zónulas de oclusión;
- Juntas comunicantes: Denominadas como empalmes tipo gap.

Las células epiteliales están cubiertas por una estructura glicoproteica denominada glicocálice. El glicocálice se compone básicamente de glicoproteínas y glicolípidos y tiene como funciones el reconocimiento celular, la actuación como sitios receptores y función antigénica.

El tejido epitelial posee terminaciones nerviosas que pueden clasificarse en tres tipos:

- Terminaciones libres: Constituyen los mecano-receptores (táctiles);
- Peritriciales: Están ubicadas alrededor del folículo piloso, estimulando el movimiento del vello;
- Receptores capsulados: Este grupo de receptores involucra a los receptores de Meissner, responsables de la distinción de formas y texturas, localizándose en la papila dérmica de los dedos; y los receptores de Pacini, responsables de la sensibilidad a la presión y los estímulos vibratorios, localizándose en la dermis profunda e hipodermis.

Sus principales funciones son:

- Revestir las superficies corporales.
- Formar las unidades funcionales de las glándulas secretoras.
- Transportar materiales, secreción, excreción...

El tejido epitelial se puede clasificar de dos formas diferentes. Según el número de capas podemos encontrar:

- Epitelio simple (una sola capa) (Figuras 3.1y 3.3).

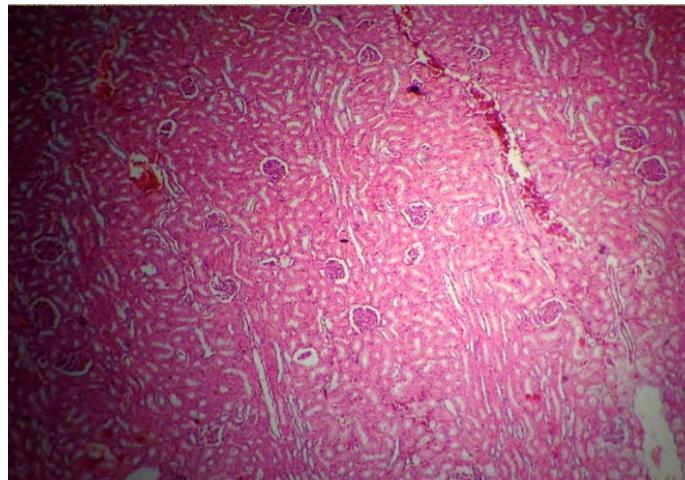


Figura 3.1. Tejido epitelial simple cúbico. [JUN 2013]

- Epitelio estratificado (varias capas) (Figura 3.2).



Figura 3.2. Tejido epitelial estratificado queratinizado. Capa de piel gruesa. [JUN 2013]

- Epitelio pseudoestratificado (falsa apariencia de varias capas).

Si realizamos la clasificación según la morfología celular, podemos encontrar:

- Epitelio escamoso (células planas).
- Epitelio cúbico (Figura 3.1).
- Epitelio cilíndrico (Figura 3.3).

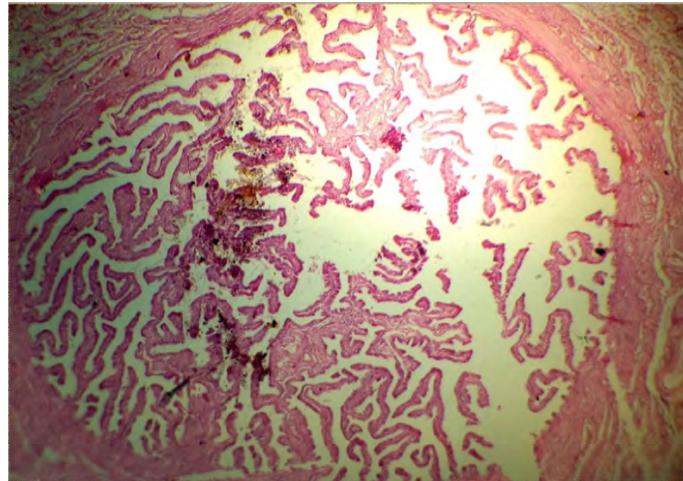


Figura 3.3. Tejido epitelial cilíndrico simple procedente del útero. [JUN 2013]

### 3.3. Tejido conjuntivo

Sus principales características son:

- Células específicas.
- Abundante matriz extracelular.
- Aporte vascular y linfático directo.

Sus principales funciones son:

- Soporte de los tejidos del organismo.
- Respuestas inflamatorias e inmunitarias.
- Reparación tisular.

El tejido conjuntivo está formado por tres componentes básicos: células, matriz extracelular y fibras. Variaciones en la distribución de estos tres componentes, dan lugar a diferentes tipos de tejido conjuntivo. Según estas variaciones, los diferentes tipos de tejido conjuntivo que existen son los siguientes:

- Embrionario: primeras fases del desarrollo embrionario y en el cordón umbilical (Figura 3.4).
- Adulto: mucosa y submucosa, vasos, nervios y músculos.

- Tejido adiposo: células adiposas.
- Cartílago: hialino, elástico y fibroso (Figura 3.5).
- Hueso: células (osteocitos, osteoblastos, osteoclastos) y materia extracelular calcificada (Figura 3.6).
- Sangre: células (eritrocitos, plaquetas, leucocitos...) y plasma sanguíneo.

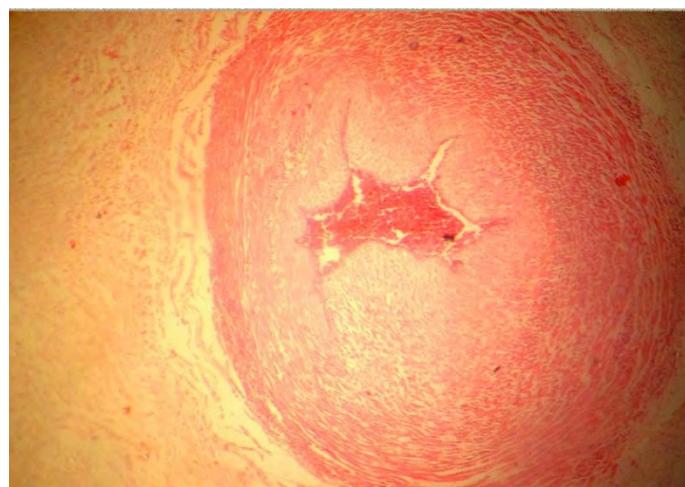


Figura 3.4. Tejido conjuntivo mucoso procedente del cordón umbilical. [JUN 2013]

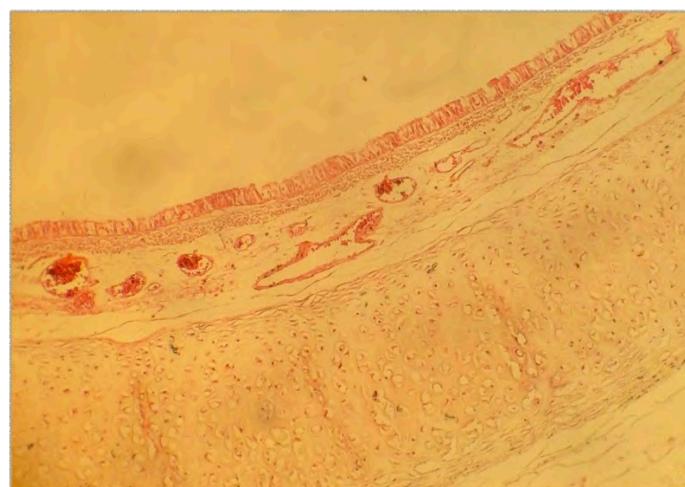


Figura 3.5. Tejido conjuntivo de tipo cartilaginoso. [JUN 2013]

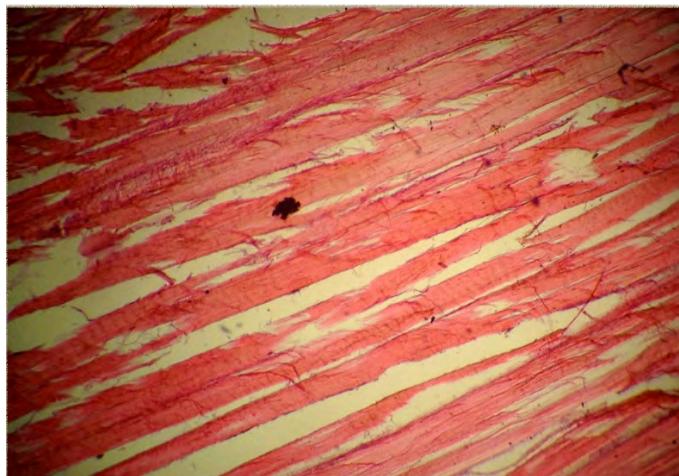


Figura 3.6. Tejido conjuntivo procedente de tendones. [JUN 2013]

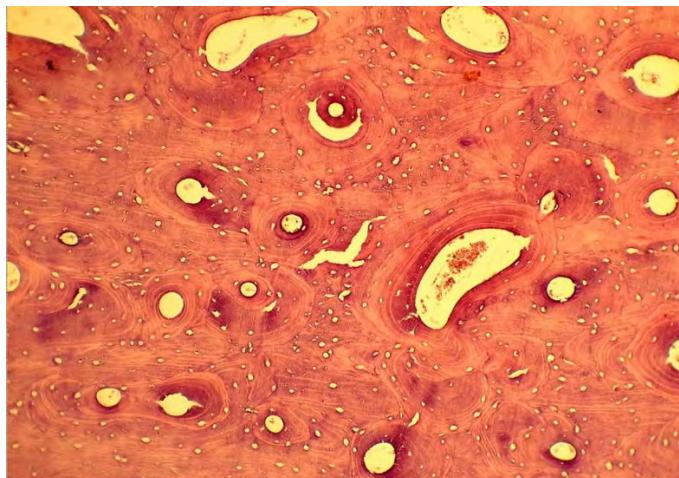


Figura 3.7. Tejido conjuntivo de tipo óseo. [JUN 2013]

### 3.4. Tejido muscular

La principal característica de los tejidos musculares es que posee células elongadas especialistas en la contracción. Su función es transformar la energía celular en energía mecánica.

El tejido muscular se compone de células alargadas que poseen gran cantidad de filamentos citoplasmáticos de proteínas, responsables de la contracción de este tejido.

Con el origen mesodérmico, las células musculares maduran debido a la síntesis de proteínas filamentosas, junto con su estiramiento.

Existen tres tipos de tejido muscular:

- Esquelético (Figura 3.8): Es el tipo de tejido muscular mas abundante. El tejido muscular esquelético está constituido por haces de células muy largas, cilíndricas, multinucleadas y conteniendo innumerables filamentos, las miofibrillas.

Los numerosos núcleos se localizan en la periferia de las fibras, en las proximidades del sarcolema.

Las variaciones en el diámetro de las fibras musculares sufren influencia de innumerables factores, entre ellos: edad, sexo, estado de nutrición y entrenamiento físico.

El tejido muscular esquelético es recubierto por tejido conjuntivo en dos niveles de organización morfológica. El epimisio es responsable de envolver grupos de haces celulares, y el perimio desempeña su función recubriendo los haces musculares individualmente.

Las células que lo componen se caracterizan por:

- Diámetro de entre 10 y 100 micras.
- Contracción voluntaria para proporcionar energía motriz.
- Miofibrillas rodeadas de abundantes mitocondrias.
- Cadenas de sarcómeros.

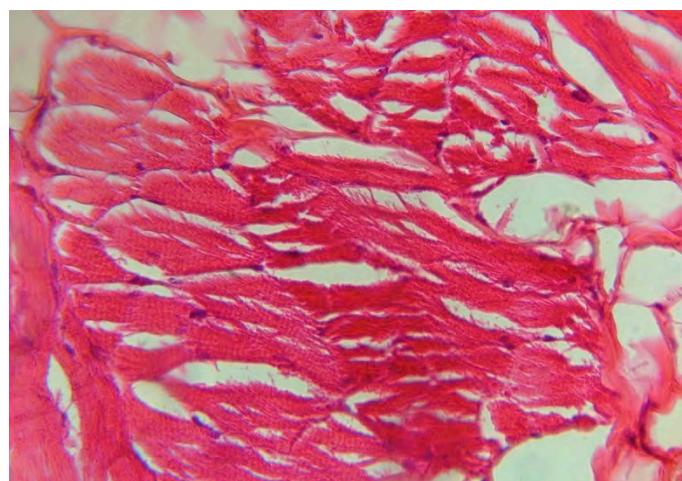


Figura 3.8. Tejido muscular esquelético. Procedente de la lengua. [JUN 2013]

- Cardíaco (Figura 3.9): Compuesto por células cardíacas o cardiocitos, que se encuentran rodeadas por una vaina de un tejido conjuntivo capilarizado. Este tipo de tejido realiza contracciones involuntarias, intensas y arrítmicas. El músculo del corazón está constituido por células alargadas y ramificadas que se unen por medio de estructuras denominadas discos intermedios.

A diferencia de las fibras esqueléticas, las fibras cardíacas no son multinucleadas, poseyendo uno o dos núcleos localizados centralmente.



Figura 3.9. Tejido muscular cardiaco. [JUN 2013]

- Liso (Figura 3.10): Este tipo de tejido también se denomina no estriado. Formado por células fusiformes con núcleo central sin estriaciones transversales. Realiza contracciones involuntarias.  
Las células musculares están recubiertas por lámina basal y se mantienen unidas, de modo que la red delicada de fibras que las recubre permite que la contracción simultánea de algunas o muchas células se transforme en la contracción del músculo entero.  
Las células musculares no estriadas presentan cuerpos densos, estructuras que se localizan principalmente en la membrana de esas células. Estos cuerpos tienen un importante papel en la dinámica de contracción de la musculatura, siendo responsables de anclar los complejos de actina-miosina formados durante la contracción.

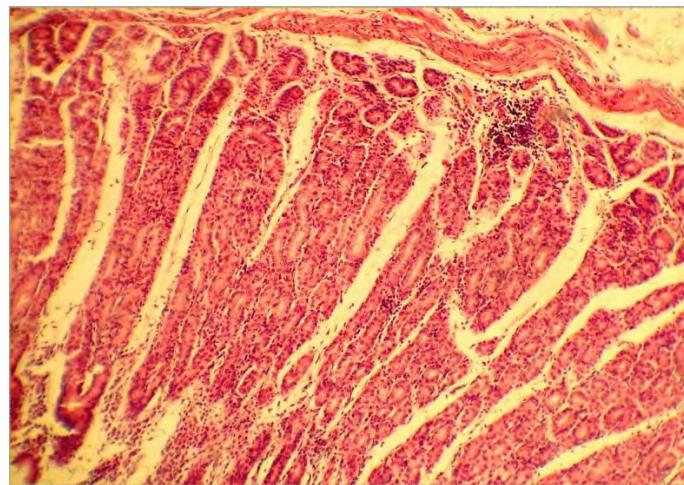


Figura 3.10. Tejido muscular no estriado o liso, procedente de del estómago. [JUN 2013]

### 3.5. Tejido nervioso

Todo sistema nervioso consiste en neuronas y células de apoyo, denominados glóbulos. Aunque las estimaciones varían bastante, tal vez puedan existir en el sistema nervioso humano 100 mil millones de neuronas y de tres a cuatro veces más de glóbulos. El estudio de la neuro-histología puede ser considerado como complejo ya que el tamaño número de detalles debe ser aprendido.

Para entender cómo funciona el sistema nervioso, es necesario poseer un sólido conocimiento de la estructura de la neurona, el axón, las dendritas y los procesos gliales. [FEL 2015]

El tejido nervioso (Figura 3.11) presenta dos componentes principales: neuronas y varios tipos celulares que componen la glia o neuroglia, con función de sustentación neuronal y otras muchas funciones importantes.

Sus principales características son:

- Células excitables.
- Distribuidos por todo le organismo.

La principal función del tejido nervios es generar, recibir y transmitir los impulsos nerviosos. [ZVE 2015]

Según su clasificación anatómica encontramos dos tipos de tejido nervioso:

- Sistema nervioso central (SNC), compuesto por neuronas y células gliales.
- Sistema nervioso periférico (SNP), compuesto por células de Schwann y células satélite.

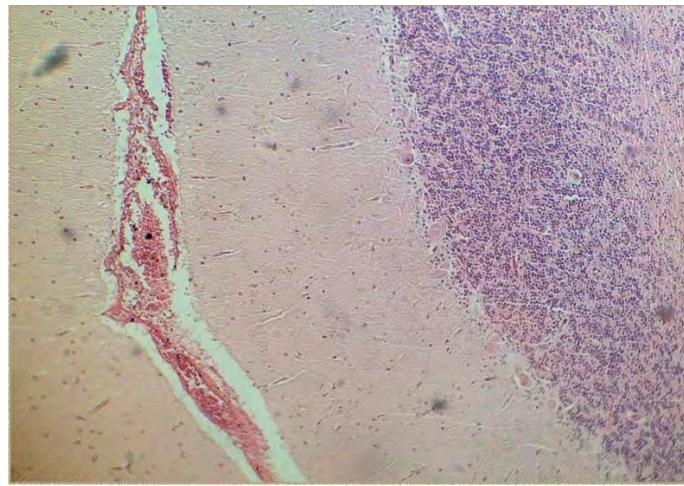


Figura 3.11. Tejido nervioso procedente del cerebelo. [JUN 2013]

### 3.6. Conclusión

Los tejidos biológicos son estructuras de células que realizan unas funciones determinadas, cada tejido biológico posee una composición diferente, que hace que realice unas funciones u otros. Teniendo en cuenta esto existen 4 tipos de tejidos: epitelial, conjuntivo, muscular y nervioso.

# Capítulo 4:

# Propiedades ópticas de los

# tejidos biológicos.

---

En este capítulo se va a hablar de las propiedades ópticas que caracterizan a cada uno de los tejidos de manera específica. En el capítulo 2 se definieron teóricamente estas propiedades, y a continuación se describe como se pueden realizar las medidas de esas propiedades y además se incluirán los valores numéricos propios de diferentes estructuras pertenecientes cada tipo de tejido biológico, que posteriormente serán útiles para describir las técnicas de fabricación de los fantomas.

## 4.1. Introducción

Una vez se ha estudiado cuales son las propiedades ópticas, y los diferentes tejidos biológicos que existen, se debe de profundizar más y señalar los valores de cada una de las propiedades ópticas en cada tipo de tejido biológico.

Como se ha dicho anteriormente, existen cuatro tipos de tejidos biológicos: epitelial, conjuntivo, muscular y nervioso. Cada uno de estos tejidos posee unas propiedades ópticas diferentes que vamos a determinar a continuación.

En general, existen varios métodos para la medición de propiedades ópticas del tejido. Se enfocan en diferentes cantidades tales como intensidades transmitidas, reflejadas y dispersas. La absorbancia en sí es difícil de determinar, ya que los fotones absorbidos por el tejido ya no se pueden usar para la detección. Por lo tanto, la intensidad absorbida generalmente se obtiene al restar las intensidades transmitidas, reflejadas y dispersas de la intensidad incidente. Dependiendo del método experimental, solo se puede evaluar el coeficiente de atenuación total o los coeficientes de absorción y dispersión. Si la dependencia angular de la intensidad dispersa se mide girando el detector correspondiente, también se puede obtener el coeficiente de anisotropía.

En la figura 4.1, se ilustran tres disposiciones comúnmente utilizadas. La configuración más simple para medir la atenuación total se muestra en la Figura 4.1 (a). Por medio de un divisor de haz, típicamente el 50% de la radiación láser se dirige a un detector que sirve como señal de referencia. El otro 50% se aplica a la muestra de tejido. Un segundo detector detrás de la muestra y en el eje óptico del haz mide la intensidad transmitida. Restando esta intensidad de la intensidad medida con el detector de referencia, se puede obtener el coeficiente de atenuación del tejido.

Se recuerda que la atenuación total se debe tanto a la absorción como a la dispersión. Por lo tanto, con esta medición no se puede hacer distinción entre estos dos procesos.

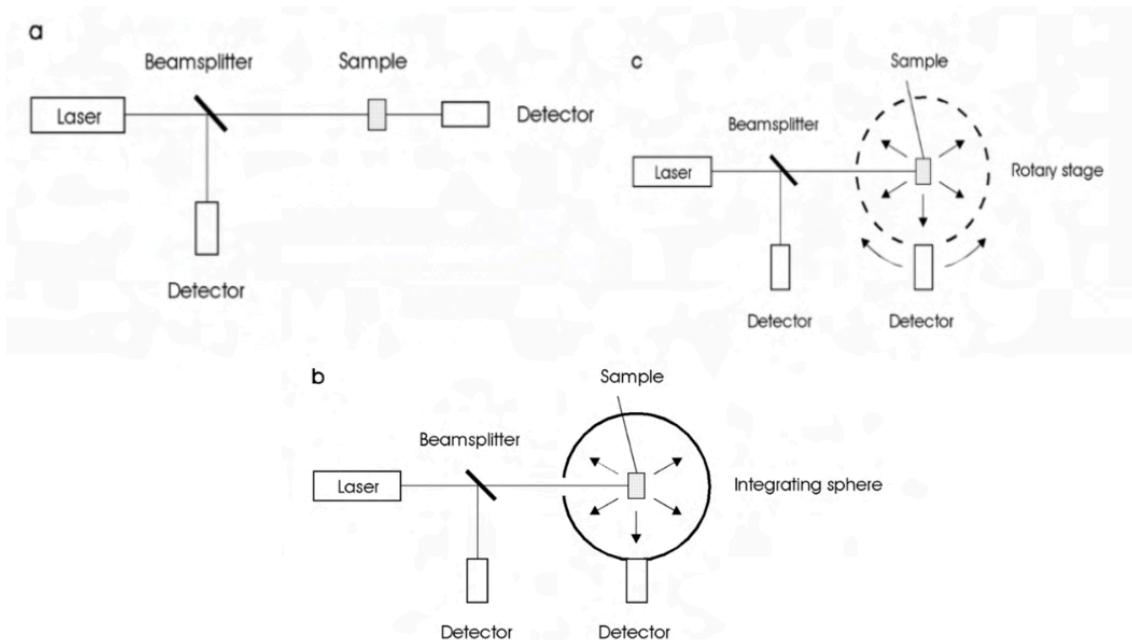


Figura 7. Configuraciones para la realización de medidas. (a) Configuración experimental para medir la atenuación total. (b) Configuración experimental para medir la absorción. (c) Configuración experimental para medir la dependencia angular de la dispersión. [MAR 2017]

En la Figura 4.1 (b), se muestra una configuración para la evaluación de la absorción. Su componente básica se denomina esfera integradora. La esfera tiene un revestimiento altamente reflectante. Un detector integrado solo mide la luz que no ha sido absorbida por una muestra colocada dentro de la esfera. Por lo general, el experimento consiste en dos mediciones: una con y la otra sin la muestra. La diferencia en ambas intensidades detectadas es la cantidad absorbida por la muestra. Por lo tanto, al tomar en cuenta las dimensiones geométricas de la muestra, se puede obtener su coeficiente de absorción. Con frecuencia, se coloca un deflector entre la muestra y el detector para evitar que se detecte la reflexión especular.

La principal desventaja de las técnicas que se muestran en la Figura 4.1 (a-c) es que no pueden realizarse simultáneamente. Sin embargo, se sabe que las propiedades ópticas del tejido biológico se alteran durante el calentamiento, lo que a menudo se asocia con la exposición a la radiación láser. Por lo tanto, es más preciso medir estas propiedades en la misma disposición experimental y al mismo tiempo.

Una configuración comúnmente utilizada que satisface este requisito es la geometría de esfera de doble integración que se muestra en la Figura 4.2.

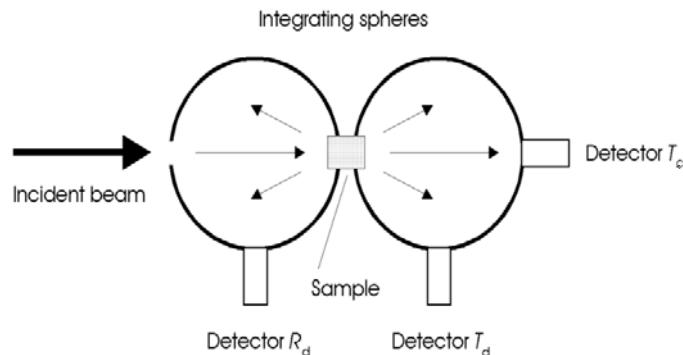


Figura 4.2. Geometría utilizada para medir simultáneamente diferentes propiedades.[MAR 2017]

La geometría de la esfera de doble integración incorpora dos esferas más o menos idénticas que se ubican en frente y detrás de la muestra a investigar. Una esfera integra toda la radiación que se refleja o se dispersa hacia atrás desde la muestra. La radiación transmitida y dispersa hacia adelante se absorbe en la segunda esfera. Con tres detectores, todas las mediciones requeridas se pueden realizar simultáneamente.

En la Figura 4.2, estos detectores están etiquetados como  $T_c$  para la transmitancia coherente,  $T_d$  para la transmitancia difusa y  $R_d$  para la reflectancia difusa, respectivamente. La reflexión especular puede evitarse nuevamente colocando deflectores entre la muestra y cada detector. Sin embargo, una pequeña fracción de luz en cualquiera de las esferas podría penetrar nuevamente a través de la muestra, alcanzando así la otra esfera.

Dado que la teoría de Kubelka-Munk es uno de los métodos más utilizados para obtener datos sobre propiedades ópticas del tejido, se procede a comprobar cómo los coeficientes de Kubelka-Munk se relacionan con los valores medidos de reflectancia difusa y transmisión. Estas expresiones están dadas por:

$$R_d = \frac{\sinh(S_{KM} yD)}{x \cosh(S_{KM} yD) + y \sinh(S_{KM} yD)} \quad (4.1)$$

$$T_d = \frac{y}{x \cosh(S_{KM} yD) + y \sinh(S_{KM} yD)} \quad (4.2)$$

Donde  $D$  es el espesor óptico de la losa a considerar, y  $S_{KM}$  es el coeficiente de Kubelka-Munk para la dispersión. Los parámetros  $x$  e  $y$  se pueden expresar en términos de:

$$x = \frac{1+R^2_d-T^2_d}{2R_d} \quad (4.3)$$

$$y = \sqrt{x^2 - 1} \quad (4.4)$$

La conveniencia de aplicar el método de Kubelka-Munk surge del hecho de que los coeficientes de dispersión y absorción se pueden calcular directamente a partir de los coeficientes de reflexión y transmisión medidos, es decir, por medio de las siguientes ecuaciones:

$$S_{KM} = \frac{1}{yD} \ln \left[ \frac{1-R_d(x-y)}{T_d} \right] \quad (4.5)$$

$$A_{KM} = (x - 1) * S_{KM} \quad (4.6)$$

La simplicidad del modelo Kubelka-Munk lo ha convertido en un método popular para medir propiedades ópticas de la materia. En general, el modelo se basa en la propagación de un resplandor uniforme y difuso en una geometría unidimensional. Esto es equivalente al requisito de una función de fase hacia adelante y hacia atrás. Desafortunadamente, sin embargo, los supuestos de una radiación puramente difusa y una geometría unidimensional no son satisfechos por los tejidos biológicos. Para solucionar esos problemas, se propusieron una serie de mejoras. A pesar de estas mejoras, este método sigue siendo una aproximación bastante simple para la propagación de luz láser en tejidos biológicos.

Casi todas las propiedades ópticas se pueden separar en coeficientes de transporte ( $\alpha$ ,  $\alpha_s$ ,  $g$ ) o coeficientes de Kubelka-Munk (AKM, SKM), dependiendo de la teoría utilizada para obtenerlos.

En la siguiente figura (Figura 4.3), los coeficientes de absorción y dispersión se muestran para el ejemplo de la materia blanca del cerebro humano usando la teoría de Kubelka-Munk.

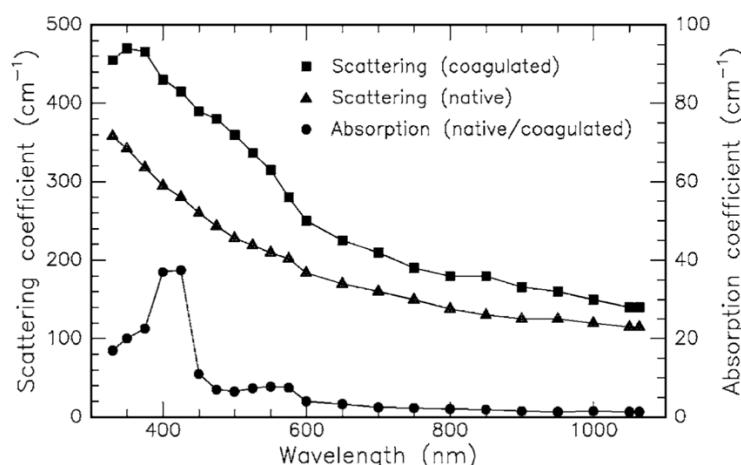


Figura 4.3. Gráfica que muestra los coeficientes de absorción y dispersión para un ejemplo con materia blanca del cerebro según la teoría de Kubelka-Munk. [MAR 2017]

## 4.2. Índice de refracción

El índice de refracción se calcula como el cociente entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en el segundo medio (en este caso será el del tejido biológico), que se representa con la letra  $n$ , y se calcula de la siguiente manera:

$$n = \frac{c}{v} \quad (4.7)$$

En la siguiente tabla (Tabla 4.1), se muestra el índice de refracción de algunos tejidos biológicos, para unas longitudes de onda determinadas:

Tejidos biológicos	$\lambda$ (nm)	$n$
Cerebro (materia gris)	456-1064	1.36
Pulmón	456-1064	1.38
Músculo	456-1064	1.37
Estómago (mucosa)	456-1064	1.38
Bazo	456-1064	1.37
Sangre	633	1.4
Dientes (esmalte)	842-858	1.65

Tabla 4.1. Índices de refracción de algunos tejidos biológicos.

## 4.3. Absorción

La absorción en los tejidos es función de la composición molecular. Las moléculas absorben fotones cuando la energía de estos, iguala a la de un intervalo entre estados energéticos internos.

En la siguiente tabla (Tabla 4.2), se muestran diferentes valores de absorción de algunos tejidos biológicos, para unas longitudes de onda determinadas:

Tejidos biológicos	$\lambda$ (nm)	$\mu a$ (l/cm)
Cerebro (materia gris)	514	19.5
Cerebro (materia gris)	585	14.5

Cerebro (materia gris)	630	4.3
Cerebro (materia gris)	800-1100	~1.0
Pulmón	515	25.5
Pulmón	635	8.1
Pulmón	1064	2.8
Músculo	515	11.2
Músculo	1064	2
Estómago (mucosa)	1064	2.8
Bazo	1064	6
Sangre	665	1.3
Sangre	685	2.65
Sangre	960	2.84
Dientes (esmalte)	663	0.97

Tabla 4.2. Coeficientes de absorción de algunos tejidos biológicos.

## 4.4. Scattering

El Scattering o esparcimiento se produce cuando hay una variación espacial del índice de refracción, continua o abrupta. En medios celulares, las partículas esparcidoras mas importantes son los orgánulos subcelulares.

En la siguiente tabla (Tabla 4.3) se recogen diferentes valores de Scattering para diferentes tejidos biológicos:

Tejido	Descripción	$\lambda$ (nm)	n	$\mu_s$ (l/cm)	g
Aorta	Normal	632.8	1.38	316	0.87
Bazo			1.37		
Cerebro	Materia gris	632.8	1.36	532	0.82
Córnea	Integral		1.376		
Diente	Dentina		1.54		
Grasa	Subcutánea		1.44		
Hígado		630	1.38	414	0.95
Músculo		515	1.37	530	
Piel	Epidermis	400	1.55	2000	0.9
Pulmón		630	1.38	332	0.75

Riñón		630	1.37		
Sangre	Citoplasma	665	1.35- 1.367	1246	0.99
Uña			1.51		
Vejiga		633	1.37	30.7	0.91

Tabla 4.3. Valores de Scattering de algunos tejidos biológicos

## 4.5. Conclusión

Tras conocer las diferentes propiedades ópticas existentes, y los diferentes tejidos biológicos, era necesario determinar los valores exactos de algunas de estas propiedades, para ello se han utilizado algunos métodos que se han descrito durante este capítulo.

# Capítulo 5:

## Fantomas para simular tejidos biológicos.

---

En este capítulo, se va a desarrollar el objetivo principal del trabajo: los fantomas. En él, se va a desarrollar el concepto de fantoma y se van a describir los diferentes tipos de fantomas que existen, exponiendo sus características, su composición y sus ventajas. Posteriormente, se desarrolla el concepto de birrefringencia, el cual tiene gran relevancia puesto que dentro de la creación de fantomas que simulen tejidos biológicos, los fantomas birrefringentes son una parte importante de este trabajo. Por último, una vez descritos los fantomas, se procederá desarrollar algunas técnicas que permitan diseñar tanto fantomas birrefringentes, como otros tipos de fantomas.

## 5.1. Introducción

Un fantoma es una estructura que simula las propiedades y funcionalidades de un material, que es utilizado en la Ingeniería biomédica con el fin de poder estudiar la respuesta de este material ante la interacción con una determinada energía.

En este capítulo se van a describir las propiedades de los fantomas y su composición. También se estudiarán los materiales con los que se podrán fabricar estas estructuras.

### 5.1.1. Fantomas que simulan tejidos.

El desarrollo de todos los sistemas de diagnóstico por imágenes y la mayoría de las intervenciones terapéuticas físicas ha requerido el uso de objetos que simulan los tejidos para imitar las propiedades de los tejidos humanos o animales. Estos, llamados fantomas se utilizan para una serie de propósitos, que incluyen:

- Prueba de diseños de sistemas.
- Optimizar la señal al ruido en los sistemas.
- Realizar control de calidad rutinario.
- Comparar el rendimiento entre sistemas.

Los primeros estudios sobre fantomas se centraron en la creación de objetos de forma regular, que imitaban una serie de tejidos con unas características de dispersión y absorción específicas, a determinadas longitudes de onda.

En la última década, los estudios se han centrado en la creación de fantomas que reproducen propiedades tisulares en rangos de longitud de onda mayores. Además, también se estudia la posibilidad de utilizar elementos bioquímicos y

biológicamente compatibles para su construcción, y que nos permitan utilizar moléculas como la hemoglobina, melanina...

En la línea de los fantomas dinámicamente cambiantes, también es necesario en algunos desarrollos estudiar el movimiento o el desplazamiento de masa con señales ópticas.

### 5.1.2. Composición de los fantomas ópticos

Al elegir los materiales y el diseño de fantomas más útiles, la región del espectro que se utilizará es importante, como lo son los parámetros de diseño geométrico de espesor, heterogeneidades, contenedor y posibles restricciones de mecanizado. Dado que una de las características importantes de la espectroscopía óptica y cercana al infrarrojo es la sensibilidad espectral a las características moleculares del tejido, ha llegado a ser cada vez más importante desarrollar fantomas que imiten con precisión la química del tejido. Esto requiere un cambio de los polímeros no orgánicos sólidos y los fantomas de silicona hacia estructuras biológicamente compatibles como agar, gelatina o matrices de colágeno que permitan la fácil inclusión de constituyentes celulares tales como sangre o grasa y moléculas fluorescentes tales como NADH, FAD, porfirinas, y otras moléculas luminiscentes orgánicas exógenas. [ALV 2016]

### 5.1.3. Características de los fantomas.

En general, los propósitos de los fantomas se pueden dividir en las siguientes categorías:

- Validación de modelos físicos y simulaciones.
- Prueba y optimización del rendimiento de un instrumento.
- Calibración del instrumento y prueba de estabilidad y reproducibilidad.
- Comparación entre laboratorios y estandarización.

Las propiedades del espectro dependen de su uso previsto. Un fantoma "ideal" que podría usarse para cualquier aplicación tendría las propiedades enumeradas de la siguiente manera:

- Las propiedades de absorción y dispersión pueden variarse en diferentes tejidos.

- La dependencia de longitud de onda de estas propiedades es similar al tejido.
- Se pueden incorporar moléculas de interés específico.
- Las propiedades son estables a lo largo del tiempo y estables con las condiciones ambientales.
- Índice de refracción cercano al de tejido.
- Capacidad de incorporar regiones con propiedades ópticas diferentes.
- Las propiedades mecánicas y de superficie son similares al tejido.
- Posibilidad de incorporar movimiento browniano o flujo en el espectro.
- Capacidad de incluir propiedades térmicas similares al tejido.
- Económico para producir.
- Fácilmente transportado entre diferentes sitios.

## 5.2. Dispersión de partículas en fantomas.

En la mayoría de los fantomas de tejidos, la elección de un agente de dispersión es independiente de la elección de la composición de la matriz, ya que la fracción de volumen del material de dispersión es típicamente inferior al 5% del total, y a menudo inferior al 1%. Ha habido tres elecciones principales: micropartículas de lípidos, micropartículas de polímero y polvos de óxido de metal blanco.

El beneficio de las micropartículas de lípidos es que son biológicamente similares a aquello que causa la dispersión en el tejido. La microesfera de polímero, siendo el poliestireno el más popular es una excelente opción, ya que, se produce en tamaños regulares con un buen control de calidad sobre el tamaño y sobre índice de refracción, es decir, la repetibilidad y la predicción teórica de los espectros son excelentes. La tercera opción es el dióxido de titanio común o el polvo de óxido de aluminio caracterizado por sus altos coeficientes de dispersión. Aunque estas partículas que se acaban de describir son las mas utilizadas, en los últimos años se han desarrollado partículas de nanopartículas de oro dispersas, debido a su alta dispersión transversal y su posible biocompatibilidad.

## 5.2.1. Dispersores basados en lípidos comercialmente disponibles

Los fantomas más ampliamente utilizados para la obtención de imágenes ópticas y espectroscopía han sido el tipo líquido, fabricado a partir de suspensiones de leche o aceite emulsionado inicialmente, y posteriormente reemplazado en gran medida con la emulsión lipídica comercialmente calibrada y bien calibrada con el nombre comercial Intralipid. Estos se enumeran en la Figura 5.1.

Intralipid es un nutriente intravenoso que consiste en una emulsión de micelas de fosfolípidos y agua. Debido a que Intralipid es turbio y no tiene bandas de absorción fuertes en la región visible del espectro electromagnético, y está fácilmente disponible y es relativamente económico, a menudo se utiliza como un medio fantasma que simula los tejidos en experimentos de dosimetría liviana.

Las fórmulas para los coeficientes de dispersión y anisotropía son:

$$\mu_s(\lambda) = 16\lambda^{-2.4} \quad (5.1)$$

$$g(\lambda) = 1.1 - 0.58\lambda. \quad (5.2)$$

Utilizando estas dos fórmulas, obtenemos la expresión de la ecuación para el coeficiente de dispersión reducido:

$$\mu'_s(\lambda) = 9.3\lambda^{-1.4} - 1.6\lambda^{-2.4}$$

Scatterer	Function	Limitations	Stability	References
Milk	Readily available	Not highly reproducible between samples	Hours	6,149,153
Oil/fat/lipid	Used to custom-make scattering and lipid/water phantoms	Must be emulsified and blended reproducibly	Hours	7,60,106
Intralipid/ Nutralipid	Reproducible source of lipid solution	Stability better than 10%	Days	80,81,148

Tabla 5.1. Resumen de fantomas basados en emulsiones lípidas. [BRI 2006]

## 5.2.2. Microesferas de polímeros

Las microesferas de poliestireno proporcionan el mejor espectro estándar, ya que están bien controladas en tamaño e índice de refracción. El uso de estas microesferas está recogido en la teoría de Mie.

Phantom matrix material	Permanent	Solid/liquid/flexible	Biologically compatible	Organic chemical compatible	Inclusions possible?	Adjustable absorption	Adjustable scattering	Index of refraction	Recommended use	References
Aqueous suspension	N	L	Y	Y	Y	Y	Y	1.34	Initial use and multiple phantom contrast studies	7
Gelatin/agar matrix	N	F	Y	Y	Y	Y	Y	1.35	Detailed heterogeneity phantom studies biobinders and fluorophores	55
Polyacrylamide gel	N	F	Y	Y	Y	Y	Y	1.35	Thermal therapy studies	154
Polyester or epoxy resin	Y	S	N	N	Y	Y	Y	1.54	Calibration and routine validation Intersystem comparisons	109,111,155,152
Polyurethane resin	Y	S	N	N	Y	Y	Y	1.50	Calibration and routine validation Intersystem comparisons Inclusion of dyes	114
RTV silicone	Y	F	N	N	Y	Y	Y	1.4	Complex geometries with permanent flexible phantoms	117

Tabla 5.2 Opciones de matriz de fantomas para mantener los dispersores, absorbentes y fluorófonos.  
 [BRI 2006].

### 5.2.3. Dióxido de titanio y óxido de aluminio

El polvo de dióxido de titanio ( $TiO_2$ ) es quizás la opción más común para el escamado, y esto se debe a su amplia disponibilidad como pigmento principal en la pintura blanca común. Los polvos de óxido de aluminio o de óxido de bario también son excelentes difusores, y se usan comúnmente para revestir el interior de esferas integradoras en las que se requiere una dispersión excepcionalmente alta y una absorción baja.

La principal desventaja del polvo de  $TiO_2$  es que se encuentra en suspensión en la mayoría de los medios, por lo que se asienta cuando no se agita. Esto no es un problema en resinas o fantomas de agar una vez que están listos, pero es un problema para los fantomas acuosos.

La agitación continua de la suspensión acuosa produce un espectro homogéneo. Para los fantomas a base de resinas o agar, la mezcla durante períodos prolongados también es importante para asegurar que las partículas se distribuyan uniformemente.

## 5.3. Fantomas en suspensión acuosa

Los fantomas a base de agua pueden emplear cualquiera de los tres dispersores principales mencionados antes de la suspensión de lípidos, microesferas o TiO<sub>2</sub>. La absorción de dichos fantomas se debe principalmente al agua en la mayoría de las longitudes de onda visibles e infrarrojas cercanas. Este coeficiente de absorción es suficientemente bajo por debajo de 700 nm que puede ignorarse, y pueden agregarse absorbentes para adaptar el coeficiente de absorción y el espectro al del tejido. En la Tabla 5.3 se muestra un resumen de los absorbentes y fluorófonos que pueden ser utilizados.

Absorber or fluorophore	Function	Limitations	Stability	References
Whole blood	Provide realistic tissue spectra and oxygenation function		Hours to days	67,86,156,157
Ink	Provide nearly flat absorption spectra	Not stable nor repeatable unless taken from a calibrated sample	Days (if remixed)	92,97,110,152
Molecular dyes	Provide spectra with wavelength peaks		Days to weeks	74,152
Fluorophores	Compatible with aqueous dissolving compounds	May need to avoid aggregation effects with addition of additional agents	Days to weeks	158
Heterogeneities (scattering/absorption /fluorescent)	Test tomography and imaging capabilities Used to fill inclusions in solid phantoms	Clear enclosures need to be avoided due to light channeling Index of refraction changes may be significant for solid inclusions	Days	159

Tabla 5.3. Absorbentes y fluorófonos que se pueden agregar a los fantomas acuosos. [BRI 2006]

### 5.3.1. Absorbentes exógenos en fantomas acuosos

La adición de absorbentes y fluoróforos a los fantomas acuosos se ha demostrado en cientos de estudios, y este diseño ha demostrado ser extremadamente valioso en la validación inicial de un sistema de imagen/espectroscopia. Por lo general, el objetivo ha sido imitar el tejido, por lo que se ha informado sobre la adición de eritrocitos, sangre completa o hemoglobina.

Cuando se intenta preservar la función de enlace de oxígeno de la hemoglobina, es importante el uso de solución salina en lugar de agua destilada; de lo contrario, las células sanguíneas se lisarán y el hemo se disociará de la molécula de hemoglobina.

### 5.3.2. Fantomas a base de lípidos.

Una complicación importante en el uso de los filtros de solución de lípidos es la elección del envase y la posibilidad de canalizar la luz a través de las paredes del contenedor, en lugar de a través de la solución. Esto es especialmente problemático en distancias más largas y en casos en que las inclusiones o heterogeneidades deben incorporarse en fantomas.

También se ha observado una ligera canalización a lo largo de la superficie superior de Intralipid a lo largo de largas distancias. Al utilizar esta o cualquier otra óptica, es importante proteger adecuadamente las superficies del espectro para que las señales puedan entrar y salir del espectro solo en los lugares deseados. Esto se puede lograr con el enmascaramiento negro de las superficies del fantoma, utilizando cualquier material acrílico o plástico opaco.

Las soluciones basadas en lípidos se han usado con gran éxito junto con los fantomas sólidos, donde los agujeros o los canales se han dejado en el espectro para permitir la variación dinámica de las propiedades ópticas de la heterogeneidad. Este enfoque se ha utilizado en muchos estudios para evaluar la detectabilidad de objetos de diferente contraste. Este enfoque también permite el uso de análisis de detalles de contraste para determinar el contraste mínimo detectable para cada tamaño de inclusión en el espectro.

## 5.4. Fantomas basados en hidrogel

La mayoría de las sustancias que encapsulan el agua como componente principal y forman una matriz rígida que tiene una movilidad limitada del agua están en la categoría de hidrogeles. La gelatina y la agarosa son dos de los ejemplos más comunes.

Los fantomas basados en agar se han utilizado en imágenes por resonancia magnética (MRI) y ultrasonido. El agar y la gelatina permiten la inclusión de moléculas orgánicas y constituyentes basados en células, al tiempo que proporcionan un objeto semisólido que puede tener una variedad de formas.

### 5.4.1. Aditivos a los fantomas de gelatina para mejorar su función.

Dado que los fantomas de gelatina se usan generalmente durante períodos de un día a una semana o más y luego se descartan, comúnmente se fabrican con partículas de dispersión menos costosas. La construcción con microesferas de poliestireno es posible, pero es bastante costosa. El uso de dióxido de titanio ( $TiO_2$ ) o polvo de aluminio ( $Al_2O_3$ ) polvo es la norma, ya que son baratos y

proporcionan un medio razonablemente confiable para mezclar un dispersor en la gelatina líquida o la solución de agar mientras se enfriá.

La Tabla 5.4. resume algunos de los principales aditivos utilizados para mejorar la función de los fantomas a base de gelatina. La inclusión de formaldehído al 0,2% en gelatinas aumenta la temperatura de fusión de la matriz de gelatina al aumentar la reticulación de las fibras mientras se preserva el módulo de Young más bajo. Esto permite que el espectro se use a temperatura ambiente sin necesidad de refrigeración. Esto también se puede lograr con fantomas basados en agar, pero estos pueden volverse frágiles y desmoronarse bajo el estrés aplicado.

El aditivo EDTA es probablemente el más común, porque su menor toxicidad simplifica los procedimientos de manejo. La inclusión de penicilina también se ha informado por el mismo motivo. Si bien estos aditivos mantendrán una buena estabilidad biológica durante muchos días y semanas, no evitarán que la gelatina se seque, y los fantomas deben mantenerse sellados en recintos herméticos como bolsas o contenedores de plástico. También se ha estudiado que mantener los fantomas en aceite vegetal es una excelente manera de preservar el contenido de agua. Este proceso puede proporcionar una matriz intacta durante años de uso de un solo fantoma de gelatina, aunque las otras moléculas bioquímicas incluidas pueden no durar tanto.

Si a los fantomas de gelatina se les añade sangre, estos proporcionan un excelente modelo de espectros tisulares en el infrarrojo cercano, donde los absorbentes dominantes son la hemoglobina y el agua. Para el uso de estudios terapéuticos, estos fantomas son ideales, ya que pueden tener las mismas propiedades elásticas que el tejido humano y propiedades térmicas similares.

Additives	Function	Limitations	Stability	References
EDTA Penicillin	To avoid bacterial growth (0.5 g/L) Sigma Chemical Co., St. Louis, MO		Days to weeks	61,92,98,104,105
Yeast Sodium azide	Remove molecular oxygen		Hours	98,157
Formaldehyde	Increase melting temperature above room temp. Requires 0.2%		Years	101,104
Whole blood	Provide realistic tissue spectra	Oxygen saturation is not easily changed	Days	98,160
Ink	Provide flat absorption spectra	Not stable nor repeatable unless highly calibrated and repeatably mixed	Days to years	
Organic molecules (i.e., glucose)	Matrix holds most organic compounds	Stability of each molecule must be assessed	Days	55,96
Fluorophores	Compatible with aqueous dissolving compounds Gelatin provides additional capabilities to deaggregate	May need to avoid aggregation effects with addition of additional agents	Days to weeks	55,58,98
Heterogeneities	Test tomography and imaging capabilities Inclusions can be liquid or solid	Clear enclosures need to be avoided due to light channelling Index of refraction changes significantly for solid inclusions	Days to weeks	160
Gadolinium Copper Sulphate	Provide varying levels of magnetic resonance contrast Approx. 1 mg/ml		Years	62,104,105,160
Actinometry agents	Provide measure of photochemical dose deposition	Unstable over long periods of time	Hours	57,58

Tabla 5.4. Aditivos usados en fantomas de gelatina. [BRI 2006].

## 5.5. Fantomas de resina de poliéster y poliuretano

Los fantomas de resina de poliéster, para su construcción requieren mezclar una resina y un endurecedor para crear una resina sólida transparente, que normalmente se establece en unos pocos días a temperatura ambiente o en unas pocas horas a temperatura elevada. La mezcla completa de la resina y el endurecedor es fundamental para obtener un volumen homogéneo que se cure oportunamente. Hay un calor y un gas significativos generados durante este proceso. La desgasificación del espectro durante el proceso de curado inicial es fundamental para evitar un gran número de burbujas de aire incrustadas en el fantoma. La desgasificación inicial durante el proceso de curado provocará una expansión masiva de la resina debido a la gran cantidad de gas presente; sin embargo, el retraso del inicio de la desgasificación, o ciclos repetidos de desgasificación y represurización, pueden romper las burbujas presentes en el espectro y reducir gradualmente el volumen fantoma para que sea predominantemente resina con poco gas.

Additive	Function	Limitations	Stability	References
TiO <sub>2</sub>	Provide stable and calibrated scatter spectra	Not exactly representative of tissue scatter spectra	Years	23
Microspheres	Provide precise scattering value	Cost	Years	109
Ink (India Ink) (900NP ink)	Provide flat absorption spectra	Not stable nor repeatable unless highly calibrated	Years	900NP <sup>109</sup> India <sup>90,91,161</sup>
Heterogeneities	Holes can be embedded in these with machining, or using preformed inclusions	Clear enclosures need to be avoided due to light channeling Index of refraction changes may be significant between resin and aqueous inclusions	Years	Vessels <sup>162,163</sup> Cylinder <sup>90,91</sup> Spheres <sup>113</sup>

Tabla 5.5. Aditivos que pueden ser usados en fantomas de resina. [BRI 2006].

## 5.6. Temperatura de vulcanización de los fantomas de silicona

Blas y Beck introdujeron los fantomas blandos de silicona a temperatura ambiente (RTV) a base de silicona volátil.

Estos fantomas se producen rápidamente, tienen una textura de goma suave similar a la del tejido rígido, y puede incluir dispersores y absorbentes no orgánicos. La preparación del material es similar a los fantomas a base de resina descritos en la sección anterior. Mezclar el RTV con su endurecedor inicia un proceso químico que solidifica el compuesto, y la generación de calor y gas requiere bombeo al vacío. Esta desgasificación elimina las burbujas que se generan cuando se cura. En la Tabla 5.6. se usa un resumen de algunos aditivos utilizados con fantomas RTV.

Estos fantomas se han utilizado para estudiar la formación de lesiones cutáneas usando melanina y absorbentes que imitan las lesiones cutáneas. Los únicos inconvenientes principales de este material de matriz son el costo y el tiempo de endurecimiento, pero estos no son prohibitivos, y un tejido flexible de fantoma puede ser bastante útil para aplicaciones donde el contacto mecánico con el tejido es importante.

Additive	Function	Limitations	Stability	References
TiO <sub>2</sub> Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Scattering	Mixing consistency is critical Degassing to remove air bubbles is critical	Years	115,116,92,117,164
Molecular absorbers	Possible		Years	150
Heterogeneities	Test tomography and imaging capabilities		Years	118

Tabla 5.6. Aditivos en fantomas de silicona. [BRI 2006].

## 5.7. Nuevos materiales para fantomas ópticos

Además de los materiales discutidos en las dos secciones anteriores, hay una serie de materiales que se han utilizado para fantomas que tienen propiedades intrínsecas de matriz y de dispersión que están interrelacionadas. Estos están menos organizados que el grupo anterior, pero tienen propiedades que podrían convertirlos en opciones útiles para ciertos estudios. Estos van desde geles de alcohol polivinílico, masa y teflón hasta tejidos "diseñados" o extirpados. Cada uno de estos se menciona brevemente en la Tabla 5.7. y se resume en las siguientes subsecciones.

Phantom material	Permanent	Solid/ liquid/ flexible	Biologically compatible	Organic chemical compatible	Inclusions possible?	Adjustable absorption	Adjustable scattering	Index of refraction	Recommended use	References
Polyvinyl alcohol gel	Y	F	N	N	Y	Y	Y	1.36	Heterogeneity studies with deformation Thermal studies Acoustic studies (higher cost OK)	119,120,124
Dough	N	F	Y	Y	Y	Y	N	1.35	Heterogeneity phantom studies (fixed $\mu_s'$ )	N/A
Engineered tissue models	N	F	Y	Y	Y	Y	N	1.35	Scientific study of biochemistry and biology	127
Ex vivo tissue	N	F	Y	Y	Y	N	N	1.35	Reality check scientific studies	134-136 134,137-141

Tabla 5.7. Materiales y tejidos con dispersión intrínseca dentro de la matriz de material. [BRI 2006].

### 5.7.1. Fantomas de alcohol de polivinilo

A veces denominados criogeles, debido a que su coeficiente de dispersión y rigidez aumentan con ciclos repetidos de congelación / descongelación, lo que les permite adaptarse a aplicaciones específicas. Éstos se utilizaron originalmente en la ecografía y la investigación MRI121-123, y se han adoptado recientemente para la tomografía fotoacústica, donde la combinación de propiedades de dispersión elástica y óptica los hace ideales para este enfoque de imagen híbrida. Se ha demostrado la capacidad de crear fantomas flexibles, sin aumentar la dispersión, al incluir dimetil-sulfóxido (DMSO), reduciendo así la aparente "blancura" producida por la congelación del agua en los ciclos. Este fantoma puede considerarse una matriz transparente, en la que las microesferas o el TiO<sub>2</sub> podrían integrarse para crear fantomas de dispersión óptica bien controlados, mientras que las propiedades elásticas se establecen independientemente.

### 5.7.2. Fantomas a base de masa

Si bien el concepto de usar masa o Play-Doh™ puede parecer poco científico, estos fantomas tienen una promesa considerable debido a su facilidad de construcción, facilidad de uso y un largo tiempo de almacenamiento. La composición de estos fantasmas se basa en una receta para el juguete infantil, plastilina. Esta composición conduce a un espectro flexible con  $\mu_s' = 1.6 \text{ nm}^{-1}$  a una longitud de onda de 800 nm.

### 5.7.3. Tejido Ex-vivo

Si bien el tejido ex vivo no es técnicamente un fantoma, su amplio uso en espectroscopía e imagen de tejidos merece alguna mención. Debido a la complejidad biológica del espectro de absorción y fluorescencia del tejido, así como a la complejidad de imitar estructuras en capas y de dispersión con precisión, a menudo es útil para evitar fantomas y simplemente utilizar tejido extirpado.

Los tejidos más usados son las pechugas de pollo ya que son extremadamente bajas en concentración sanguínea y tienen poco coeficiente de dispersión. El coeficiente de dispersión de estos tejidos no puede ser alterado cuando se extirpa el tejido, pero la absorción debida a la sangre disminuye después de la eliminación.

## 5.8. Fantomas multicapa

Un fantoma multicapa, es un conjunto de periodos de reflexión periódica o dispersión en capas transparentes de espesor conocido.

En técnicas como OCT, las capas reflectantes también deben tener características de dispersión homogéneas para aparecer como uniformes en las imágenes. Debido a esto se han fabricado una serie de fantomas de varias capas para cubrir las frecuencias espaciales en el orden de la resolución axial.

### 5.8.1. Fantomas a base de polielectrolitos

Los polielectrolitos son polímeros cuyas unidades de repetición soportan un grupo de electrolitos que contienen iones libres, que hacen que la sustancia eléctrica pueda conducir.

Las bicapas cargadas se forman usando un conjunto de capa por capa a partir de soluciones acuosas de polianión durante 15 minutos, con 1 minuto de sucesivos lavados en agua como se muestra en la Figura 5.1.

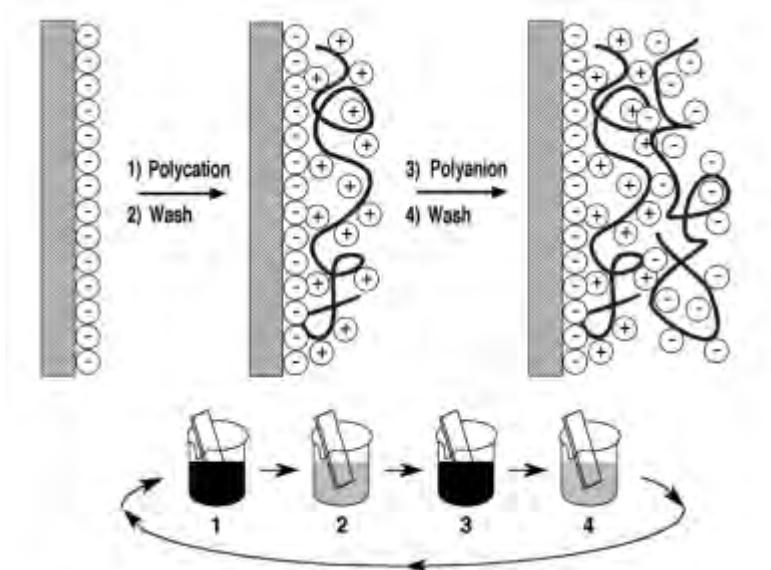


Figura 5.1. Proceso para recubrimiento de bicapas por inmersión de polielectrolitos. [ROB 2012]

Como se acaba de comentar, el proceso para producir un revestimiento de microesferas PS sobre un sustrato de vidrio requiere el depósito de la capa por capa, de polielectrolitos electroestáticos.

Un parámetro clave es la escala de longitud de Debye o detección, más allá de que la carga electroestática ya no contribuye a la unión superficial. Esta longitud de Debye viene dada por:

$$K^{-1} = \left( 4\pi N_A L_b C_p \frac{1}{\epsilon} \right)^{-0.5} \quad (5.3)$$

## 5.9. Propiedades opto-mecánicas de fantomas estructurales.

Las propiedades ópticas más importantes del tejido para imágenes de OCT son la retrodispersión y la atenuación. La luz que se propaga a través de un tejido es dispersada por los componentes de este tales como células, orgánulos y fibras y absorbida por pigmentos tales como la hemoglobina y la melanina, y por el agua.

En OCT, la luz de la fuente se atenúa (dispersada y absorbida) en el camino incidente, y atenúa de nuevo en el camino de retorno.

La fuerza de retrodispersión está influenciada por el coeficiente de atenuación y su anisotropía, y proporciona el contraste mecánico para diferenciar las estructuras del tejido. El contraste de imágenes OCT puede ser aumentado por medición del

coeficiente de atenuación, que se ha demostrado como uno de los medios para identificar las lesiones en el cáncer, mediante de formación de imágenes y de componentes de la placa en arterias ateroscleróticas.

La luz retrodispersada es la suma de las ondas de luz que regresan de los múltiples dispersores que están contenidos dentro del volumen de sondeado, que está determinado por la longitud de coherencia de la fuente y el tamaño del punto de iluminación a esa profundidad. La interferencia coherente de estos componentes de retrodispersión, da lugar a la estructura granulada observada en las imágenes de OCT.

### 5.9.1. Fantomas de Silicona

Los fantomas de silicona fueron introducidos por primera vez en el campo de la OCT, para demostrar el contraste magnetomotriz en la OCT.

La silicona proporciona una matriz suave a la que se puede integrar una gran variedad de dispersores absorbentes e inorgánicos. Estos componentes se incorporan antes de añadir el catalizador. Para fantomas PTU, se han utilizado los siguientes dispersores: dióxido de titanio, microesferas de sílice, alúmina, y, nanocápsulas de oro.

Esta fantomas presenta un reto, el cual consiste en poder conseguir un producto homogéneo. Para poder conseguir esa homogeneidad, se pueden utilizar diferentes técnicas de manera individual o combinada como por ejemplo la sonicación, la desgasificación al vacío...

La matriz de silicona tiene un índice de refracción uniforme cercano al de los tejidos y contribuye muy poco a la dispersión. En la siguiente figura (Figura 5.2), se muestra una curva de calibración típica de una matriz de silicona, que contiene alúmina.

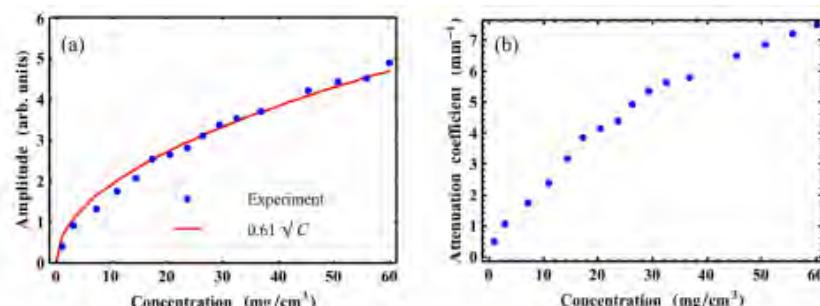


Figura 5.2. Amplitud de dispersión inversa y coeficiente de atenuación total de fantomas de silicona.  
 [LAM 2012].

## 5.9.2. Fantomas de fibrina.

Aunque la silicona tiene numerosas ventajas para la fabricación de fantomas, posee el problema de que resulta incompatible con algunos constituyentes de los tejidos biológicos. Por ello, comienzan a utilizarse los fantomas de fibrina puesto que no poseen ese problema.

La fibrina es una proteína de origen natural en los seres humanos que proporciona soporte estructural para coágulos de sangre y está formada a partir de la proteína fibrinógeno mediante la proteólisis inducida por la enzima trombina.

Una matriz de fibrina mejora los atributos clave asociados con materiales compatibles, como por ejemplo agar y gelatina.

En la Figura 5.3. (A) se muestra un microscopio electrónico de barrido de imagen de un fantoma de fibrina. Durante el proceso de coagulación, las fibras de fibrina agregada se unen para formar la matriz 3-D que se ve en la Figura 5.3 (A).

Para introducir la dispersión a los fantomas de fibrina, se puede utilizar una gama de materiales, a partir de tejidos constituyentes, tales como sangre y lípidos, polvos inorgánicos...

Los valores medidos para los fantomas con mayor o menor concentración de intralípidos se presentan en la Figura 5.3 (B). Para cada concentración, las mediciones se registran en intervalos, en la dirección x, y se promedian.

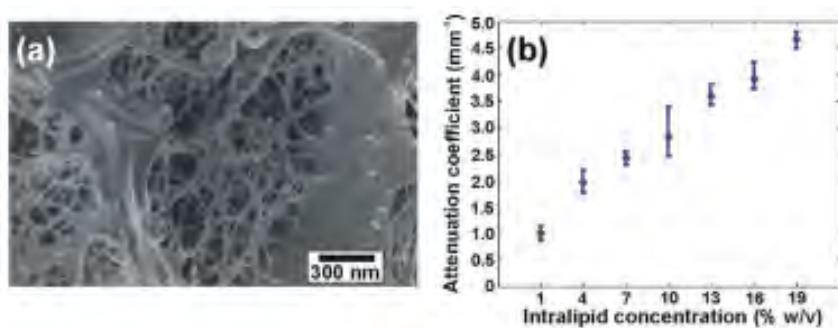


Figura 5.3 (A) Imagen SEM de gel de fibrina, (B) Coeficiente de atenuación, mT medido por fantomas con diferente %, w/v concentraciones de intralípidos. [LAM 2012].



Figura 5.4. Fantomas de fibrina bicapa, con diferentes concentraciones de intralípidos en ambas capas. [LAM 2012].

### 5.9.3. Fantomas PVA-C

Este tipo de fantomas necesita ser almacenado en agua o en algún recipiente húmedo hermético.

Las propiedades de este tipo de fantomas se pueden ver afectadas por diversos aspectos:

- Disolventes
- FTC
- Aditivos

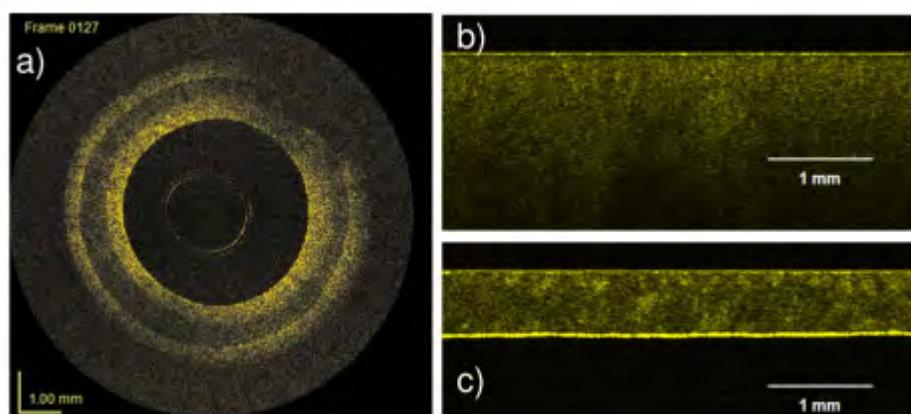


Figura 5.5. Imágenes OCT: (a) Fantoma de arteria multicapa PVA-C, (b) Muestra de 2 FTCs de espesor 4 mm PVA-C y (c) Muestra con 2 FTCs PVA-C de espesor 0.380 mm. [LAM 2012].

### 5.9.4. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas permiten caracterizar la respuesta de un material a una carga aplicada. Existen dos propiedades mecánicas fundamentales: la elasticidad y la viscoelasticidad.

#### 5.9.4.1. Elasticidad

La elasticidad de un material se caracteriza usando el módulo de elasticidad, definido como la relación entre la tensión, la fuerza por unidad de área, la tensión, el cambio fraccional de longitud como se muestra:

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon_0} = \frac{F}{\frac{\Delta L}{L}} \quad (5.4)$$

Aunque los comportamientos mecánicos de los tejidos biológicos pueden ser altamente no lineales, el módulo elástico proporciona una medida conveniente para la comparación de los tipos de tejidos, así como un medio para distinguir entre un tejido patológico y un tejido benigno.

#### 5.9.4.2. Viscoelasticidad

Los tejidos blandos son normalmente viscoelásticos. Esta propiedad quiere decir que estos tejidos presentan tanto propiedades elásticas como viscosas. La cepa de un material viscoelástico viene dada por la siguiente expresión:

$$\epsilon(t) = \epsilon_0 + \epsilon_1 \left( 1 - \exp \left( \frac{-t}{T_1} \right) \right) \quad (5.5)$$

### 5.10. Técnicas de diseño de fantomas.

Existen diferentes técnicas para la creación de fantomas. En este trabajo se van a dividir en dos tipos: las técnicas para la creación de fantomas birrefringentes y las técnicas para la creación de otros tipos de fantomas.

#### 5.10.1. Diseño de fantomas birrefringentes

Para la obtención de imágenes de birrefringencia con PS-OCT, un espectro ideal debería:

- 1) Exhibir una retrodifusión suficiente para generar una señal de OCT apreciable.

- 2) Contener varias regiones lateral y axialmente bien definidas con birrefringencia distinta pero homogénea.
- 3) Tener una matriz de host de dispersión no birrefringente.

Las propiedades de dispersión de los elementos birrefringentes y la matriz de fondo deberían dar como resultado un patrón de moteado completamente desarrollado en el tomograma reconstruido para imitar mejor a los tejidos biológicos. El confinamiento espacial de los elementos birrefringentes permite la segmentación y evaluación de la precisión de la medición de birrefringencia dentro de estas áreas.

Para el estado de entrada única PS-OCT, que reconstruye el retardo acumulado y asume una orientación constante del eje óptico a lo largo de la profundidad, bastaría una sola capa birrefringente. Recientemente, un mayor esfuerzo se ha dirigido a la reconstrucción del retraso local (es decir, birrefringencia), que ofrece una visión más intuitiva de los tejidos que tienen una arquitectura en capas. Además, la orientación del eje óptico también se puede reconstruir de una manera resuelta en profundidad. Para acomodar estas capacidades, apuntamos a dos capas birrefringentes axialmente superpuestas con distintas orientaciones del eje óptico, como se muestra esquemáticamente en la Figura 5.6. Una capa es una banda birrefringente larga, y la otra consiste en cuatro elementos birrefringentes con distintos niveles de birrefringencia. El ángulo de los ejes ópticos entre las dos capas birrefringentes se maximiza a 45 grados. Los elementos birrefringentes están incrustados en una matriz no birrefringente y ofrecen una geometría conveniente para imágenes de sobremesa. Para permitir también la obtención de imágenes de PS-OCT basadas en catéter, integramos una disposición similar de elementos birrefringentes en la matriz de fondo revestida a lo largo de un tubo capilar de vidrio.

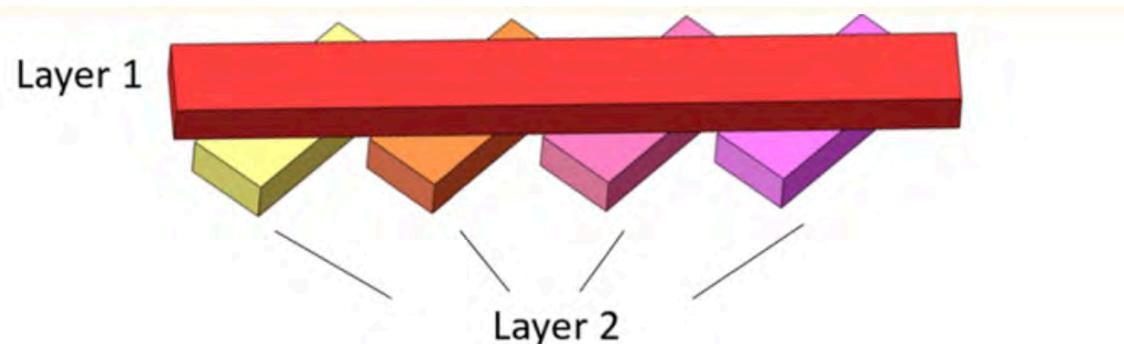


Figura 5.6. Disposición de elementos birrefringentes en el fantoma. La capa 1 consiste en una banda birrefringente larga; La capa 2 consta de cuatro elementos birrefringentes con distintos niveles de birrefringencia. [LIU 2017]

### 5.10.1.1. Birrefringencia inducida por estrés

El estrés induce la birrefringencia en muchos polímeros al aumentar la alineación de las cadenas del polímero, un efecto conocido como foto-elasticidad. La birrefringencia  $\Delta n$  a través de una banda de material fotoelástico se correlaciona linealmente con la tensión  $\sigma$ :

$$\Delta n = C\sigma. \quad (5.6)$$

donde  $C$  se conoce como el coeficiente óptico de estrés. Además, el estrés está relacionado linealmente con la tensión de un material elástico. Atribuimos esto a los dos efectos competitivos que tienen lugar en un material elástico estirado, como se ilustra en la Figura 5.7 (a). El primer efecto es la deformación elástica, que aumenta la alineación de las cadenas del polímero, creando así la birrefringencia; el segundo es el flujo viscoso, mediante el cual las cadenas moleculares se deslizan una contra otra y disminuyen la birrefringencia. Este segundo efecto conduce a la llamada "relajación del estrés" en los materiales viscoelásticos.

El estado gomoso de los polímeros es una fase intermedia entre el estado sólido vítreo y la fase líquida, tal como se resume en la Figura 5.7 (b). La temperatura que separa el estado vítreo del estado cauchutoso es la temperatura de transición vítreo. El caucho no vulcanizado (poliisopreno, temperatura de transición vítreo de -70 °C) reside en la fase gomosa a temperatura ambiente y exhibe las propiedades viscoelásticas típicas de este estado.

Para superar las deficiencias de la viscoelasticidad del caucho, se opta por un polímero con una temperatura de transición vítreo más alta, es decir, por encima de la temperatura ambiente. Se elige policarbonato (PC), que tiene una temperatura de transición vítreo de 145 °C. Tanto las películas de PC de dispersión como transparentes están disponibles comercialmente con varias opciones de grosor.

Aquí, se utiliza películas con un espesor de 250 µm (CT301326, Goodfellow Inc). Las películas de PC dispersas generan una señal de OCT adecuada con moteado completamente desarrollado y son fáciles de cortar a las dimensiones deseadas con tijeras o una recortadora de papel. El calentamiento de PC por encima de 145 °C y su conversión al estado viscoelástico permite un estiramiento controlado sin requerir una fuerza significativa. Enfriar el material estirado y devolverlo al estado vítreo "congela" la disposición molecular y mantiene la birrefringencia inducida, pero libera la fuerza de contracción inducida por la deformación elástica.

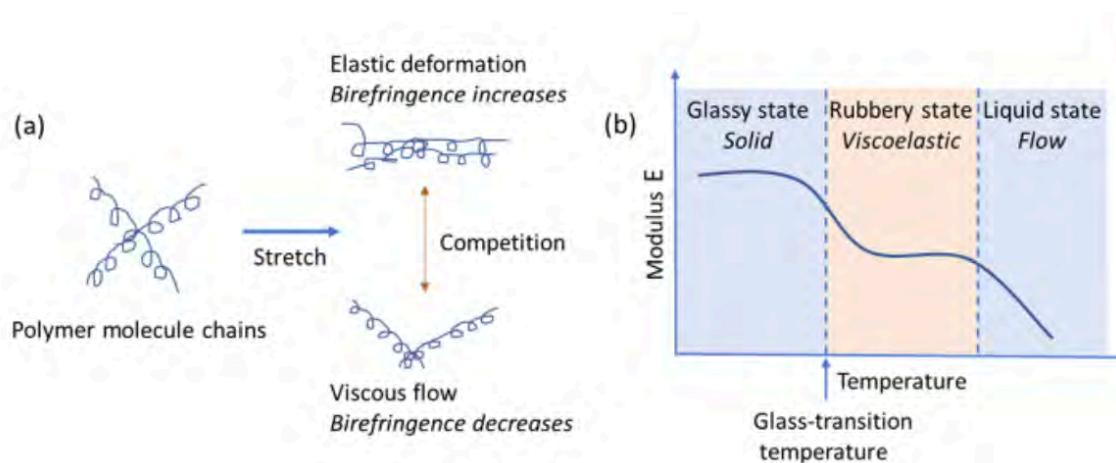


Figura 5.7. a) Comportamiento de cadenas de polímeros de estado elástico bajo tensión. (b) Transiciones de estado físico en polímeros en función de la temperatura. [LIU 2017]

### 5.10.1.2. Recocido

El proceso de fabricación de las películas de PC parece inducir estrés residual que da como resultado un patrón de birrefringencia visible en las imágenes transversales (Figura 5.8 (a)). Para crear muestras con birrefringencia homogénea y controlable y orientación del eje óptico, la birrefringencia residual debe eliminarse antes del estiramiento. Aprovechando el fenómeno de relajación del estrés, se corta la película de PC en tiras de 10 mm de ancho. Estas, se intercalan entre dos placas de metal y se colocan en un horno a 150°C durante 24 horas de recocido. Este proceso elimina por completo la tensión de birrefringencia residual y proporciona muestras con birrefringencia homogéneamente baja al inicio (Figura 5.8 (b)). Las placas de metal son necesarias para evitar que la película para PC se pandee, y las tiras recocidas mejor que las hojas más grandes, presumiblemente porque liberan tensión interna también a través de la flexión en el plano.

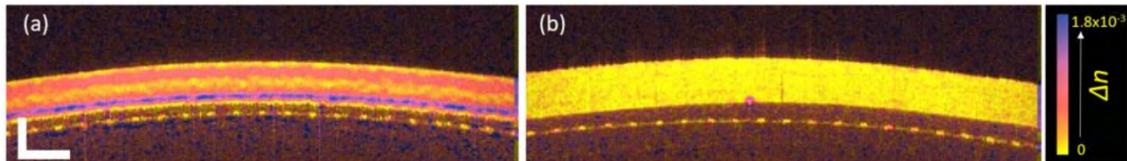


Figura 5.8. Secciones transversales de PS-OCT que muestran (a) los patrones de birrefringencia presentes en las películas de PC comerciales debido a la tensión residual y (b) la birrefringencia homogéneamente baja después de las bandas de recocido de PC. Barras de escala horizontales y verticales de 2 mm y 250  $\mu\text{m}$ , respectivamente. [LIU 2017]

### 5.10.1.3. Extensión

El esquema de la configuración utilizada para estirar las tiras de PC, junto con el procedimiento detallado, se muestra en la Figura 5.9 (a). Se Utilizan pesos ( $2 \times \sim 200 \text{ g}$ ) asegurados directamente a la banda de la PC para aplicar una fuerza de tracción constante. Se usaron rieles para evitar el balanceo de los pesos. Para aplicar tensión a la banda de PC solo después de la transición al estado de caucho, se coloca toda la configuración de estiramiento en el horno a  $150^\circ \text{C}$ , mientras se soportan los pesos con un espaciador. Después de calentar durante 30 minutos, se retiró el espaciador para aplicar la tensión, lo que alargó la tira. La cantidad de elongación fue controlada por la altura del espaciador. Una vez que los pesos llegaron a su posición más baja, inmediatamente se abre la puerta del horno para enfriar la muestra de PC y se elimina toda la configuración del horno.

El esfuerzo,  $\sigma$ , se define por la fuerza de la gravedad que tira hacia abajo de los pesos,  $G$ , y el área de la sección transversal de la tira,  $A$ , y está dada por  $\sigma = G / A$ . Una vez que los pesos alcanzan su posición más baja, el soporte equilibra las fuerzas para mantener el esfuerzo correspondiente a este alargamiento. Para obtener una birrefringencia comparable en magnitud a la de la mayoría de los tejidos biológicos (es decir, 0 a  $\sim 2 \times 10^{-3}$ ), una ceja de  $\sim 5\%$  demostró ser suficiente para PC. Por lo tanto, puede despreciarse el cambio del área de sección transversal durante el estiramiento, y el retardo  $\delta$  puede controlarse ajustando el ancho  $w$  de la banda como:

$$\delta \propto \frac{1}{w} \quad (5.7)$$

En la práctica, es difícil ajustar con precisión la elongación a un valor absoluto. Sin embargo, el ancho de cada tira puede variarse para generar diferentes niveles de birrefringencia mientras se aplica la misma cantidad de elongación (Figura 5.9 (b)). Las tiras se pueden cortar en elementos más pequeños adecuados para la integración en los fantomas finales. Específicamente, en nuestro experimento, preparamos una serie de tiras para PC con anchos que van de 2 a 7 mm. La longitud suspendida original fue de 70 mm, que luego se estiró en un 5% a 73,5 mm. Las áreas cercanas a los extremos ( $\sim 10 \text{ mm}$ ) de las tiras mostraron birrefringencia

anormal, y solo se cortó la parte media de las tiras en bandas ( $20 \times 4$  mm para la losa y  $10 \times 2$  mm para los fantomas cilíndricos) y áreas rectangulares más pequeñas ( $2 \times 4$  mm para la losa y  $1 \times 2$  mm para los fantomas cilíndricos), y los ensambló en fantomas. También se prepararon pequeñas áreas rectangulares a partir de tiras recocidas sin estirar para que sirvan como regiones con la birrefringencia más baja.

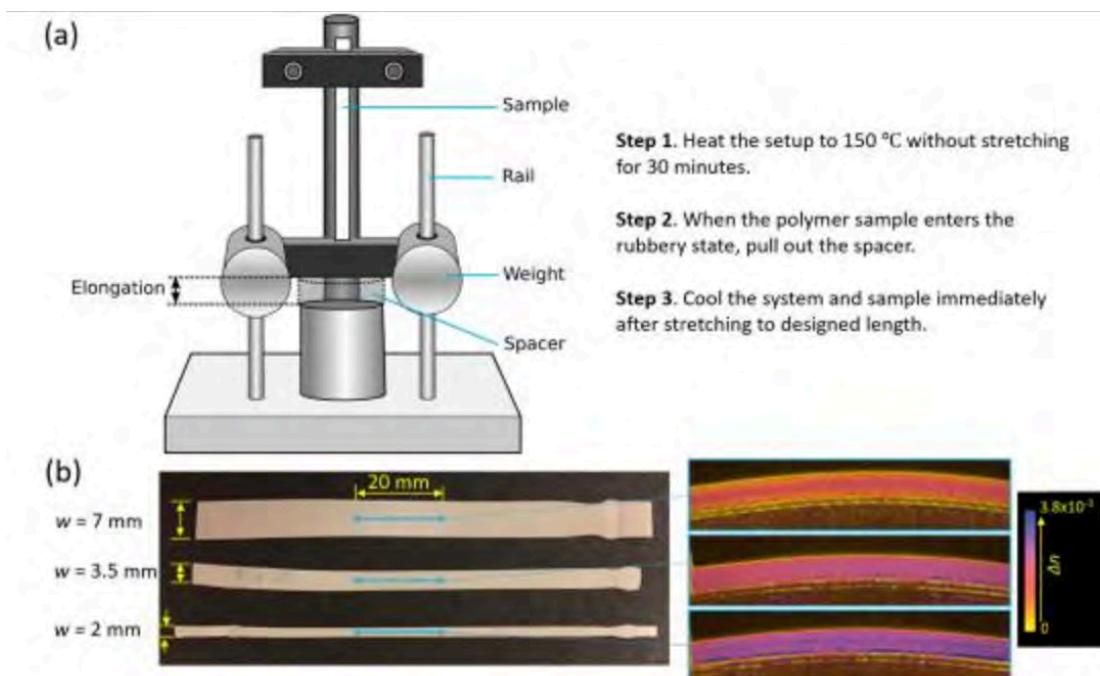


Figura 5.9. (a) Esquema del aparato de estiramiento y pasos de precalentamiento, estiramiento y enfriamiento. (b) Fotografía de tres tiras de PC de diferentes anchuras después de estirarlas junto con las correspondientes imágenes transversales de PS-OCT que muestran los niveles de birrefringencia obtenidos. [LIU 2017]

#### 5.10.1.4. Matriz

Existen numerosos materiales, que pueden ser utilizados para la creación de los fantomas ópticos. Para el método descrito anteriormente, se ha decidido utilizar epoxi, que se caracteriza por ser duradera, transparente y no birrefringente. Más importante aún, la resina epoxi es inicialmente líquida y se solidifica dentro de las 9 horas de curado después de mezclarse con el endurecedor epoxi, lo que permite una ventana de tiempo conveniente para fundir los fantomas. Concretamente, para la realización de la matriz, se mezclan 40 ml de resina epoxi con 0.5 g de polvo de TiO<sub>2</sub>. Para mezclar uniformemente las partículas en el epoxi, se somete a ultrasonidos la mezcla durante 2 horas en un baño de agua a 60 °C. El endurecedor se añadió luego a la resina en una relación de volumen de 1:2 y se vertió en el molde. Los moldes se prepararon a partir de látex de caucho para definir la forma exterior del fantoma. El látex de caucho se usa frecuentemente para hacer moldes

y es fácil de separar del yeso después del curado. Los elementos PC birrefringentes fueron colocados y dispuestos dentro del molde antes de verter el epoxi.

### 5.10.1.5. Resultados

Los resultados obtenidos tras la aplicación de este método son los siguientes:

- Medición de birrefringencia:

Para verificar la relación entre el estrés y la birrefringencia inducida, preparamos una banda de PC recocida, la cortamos en forma de cuña y la estiramos utilizando el método propuesto para crear birrefringencia, como se muestra en la Figura 5.10 (a). Se espera que su ancho linealmente variable resulte en un retraso inversamente relacionado. La birrefringencia resultante en la proyección en la cara, obtenida al tomar la birrefringencia media entre la superficie superior e inferior segmentada manualmente de la cuña, exhibe el comportamiento esperado (Figura 5.10 (b)). Sin embargo, la reconstrucción del retraso local tiene sus propias limitaciones y posibles artefactos, como la envoltura y una mayor dependencia del moteado. Para evaluar más directamente el retraso de la luz que pasa a través de la muestra de cuña estirada, se coloca la muestra entre dos portaobjetos de vidrio y determinamos el estado de polarización de la luz reflejada desde la primera superficie del tobogán superior y la segunda superficie del tobogán inferior (Figura 5.10 (c)). Para reducir los fuertes reflejos especulares y evitar la saturación del detector, todo el ensamblaje de la muestra se sumergió en agua para obtener imágenes. Los dos estados de polarización de entrada modulada de nuestro instrumento PS-OCT permitieron calcular el retardo acumulado entre estas dos interfaces. Limitando el análisis al área central a lo largo de la tira (línea azul punteada en la Figura 5.10 (b)), se desenvuelve el retraso a lo largo de la tira desde el lado más ancho de la tira, y se evalúa la media y la desviación estándar del retraso en 20 líneas A adyacentes perpendiculares a la cuña. Se observa una relación lineal entre  $1/w$  y el retraso medio ( $R^2 = 0.997$ ), como se muestra en la Figura 5.10 (d). Esto confirma la expectativa y demuestra que la birrefringencia puede controlarse cuantitativamente ajustando el ancho de la tira.

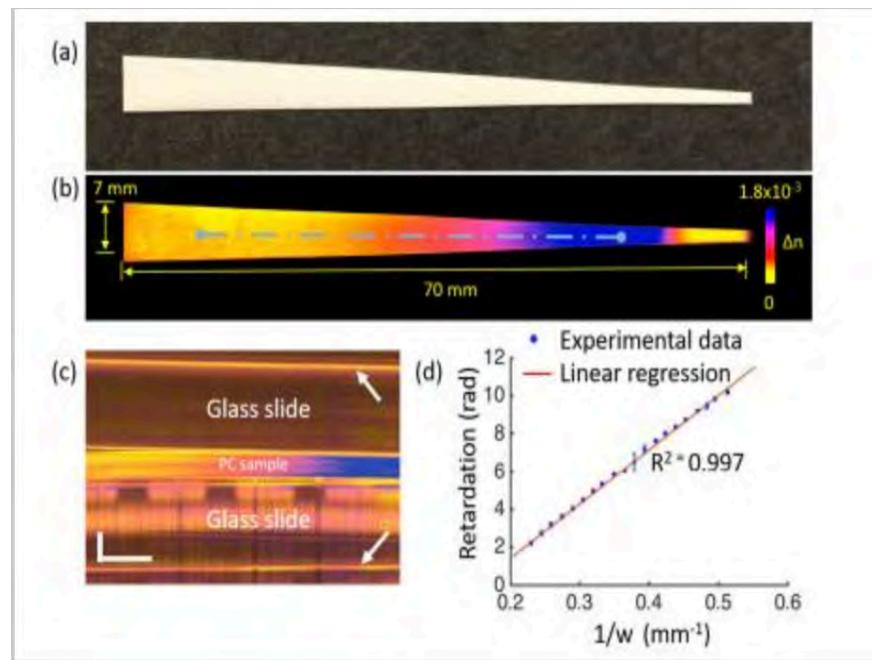


Figura 5.10. (a) Fotografía de la muestra de cuña después del estiramiento y (b) proyección de birrefringencia en el rostro coincidente obtenida del conjunto de datos volumétricos de PS-OCT. (c) Una imagen representativa de sección transversal que ilustra las superficies de referencia (flechas) usadas para medir el retraso acumulado. Barras de escala horizontales y verticales: 1 mm y 250  $\mu\text{m}$ , respectivamente. (d) Retardo acumulado medido contra  $1 / w$ , donde  $w$  es el ancho de la tira, junto con la regresión lineal.

Las barras de error indican la desviación estándar en 20 mediciones en distintas posiciones perpendiculares a la cuña. [LIU 2017]

- Fantomas ensamblados.

La Figura 5.11 presenta las imágenes de intensidad, birrefringencia y DOP obtenidas de un fantoma losa (a-c) y un fantoma de forma cilíndrica (d-e), respectivamente. Para el fantoma de la losa, la Figura 36 (a) muestra secciones transversales a través de todas las regiones birrefringentes. Las Figuras 5.11 (b) y 5.11 (c) son dos imágenes en persona, cuyas ubicaciones de profundidad se indican en la Figura 5.11 (a). La Figura 5.11 (d) muestra secciones transversales de la imagen ficticia cilíndrica con una exploración rotacional de la sonda de fibra de aspecto lateral en el catéter intravascular. La figura 5.11 (e) presenta una sección longitudinal correspondiente generada a partir del conjunto de datos volumétricos registrado mientras gira y tira de la sonda de fibra. La dispersión de los segmentos birrefringentes es ligeramente más fuerte que la de la matriz, y ya delinea los elementos individuales. Los mapas de birrefringencia presentan más claramente los elementos individuales y sus diferentes niveles de birrefringencia. El DOP indica estados de polarización uniformes, excepto en los bordes verticales de los segmentos incrustados. Aunque los índices de refracción de las tiras de PC y el material de la matriz parecen muy

cercanos, es probable que su diferencia residual perturbe los estados de polarización en estas áreas. Este efecto es más pronunciado en las imágenes basadas en catéteres, donde el haz de sondeo se propaga a través de esta interfaz, no solo a lo largo de ella, como en el caso de las imágenes de sobremesa. Sin embargo, dentro de los elementos birrefringentes, el DOP permanece alto, validando las medidas reconstruidas de birrefringencia.

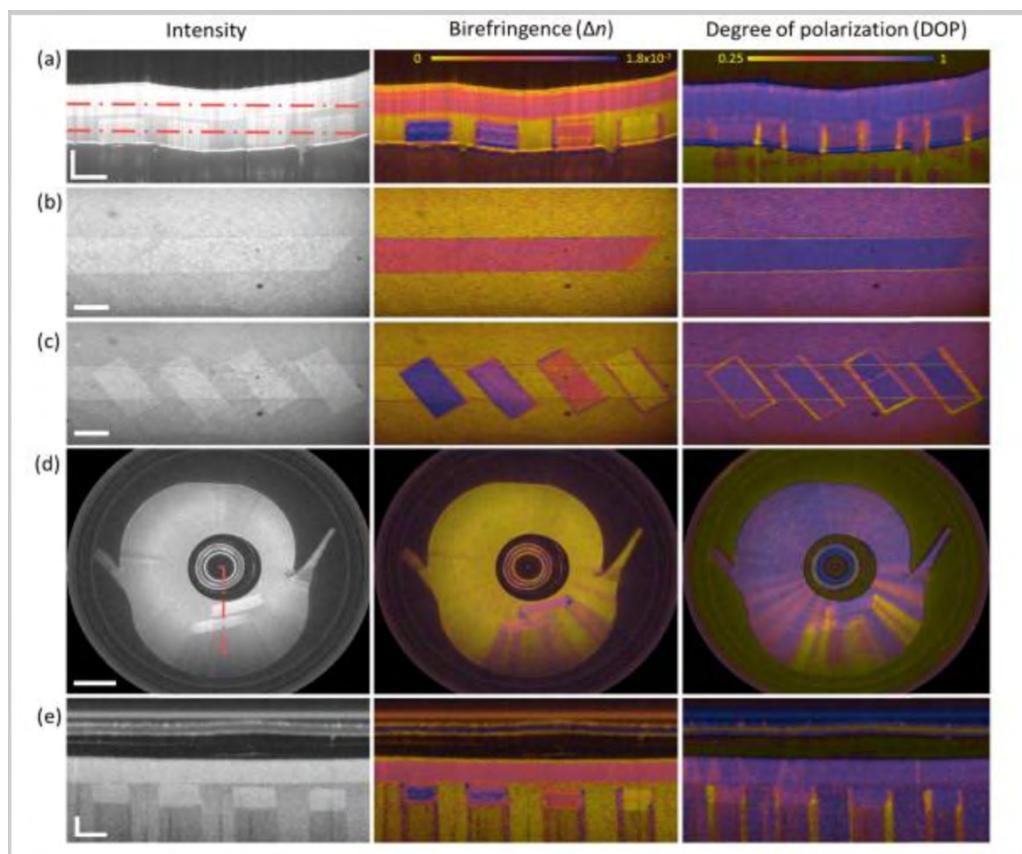


Figura 5.11. Intensidad, birrefringencia e imágenes DOP de la losa (a-c) y cilíndricos (d-e) fantomas. (a) Imágenes transversales representativas del fantoma de birrefringencia para el sistema de escaneo galvanométrico. (b) y (c) Imágenes enfrentadas a diferentes profundidades como lo indican las líneas discontinuas rojas en (a). Barras de escala horizontales y verticales para (a-c): 2 mm y 250  $\mu$ m, respectivamente. (d) Imágenes representativas obtenidas de una exploración rotacional con el catéter. Barra de escala: 1 mm. (e) Secciones longitudinales obtenidas de un conjunto de datos de retirada, con su ubicación correspondiente indicada por la línea roja discontinua en (d). Barras de escala radiales y horizontales: 250  $\mu$ m y 1 mm, respectivamente. [LIU 2017]

## 5.10.2. Diseño de otros tipos de fantomas

Para el diseño de fantomas, es necesario analizar las propiedades ópticas de los tejidos biológicos, es decir, realizar un estudio en profundidad de las características físicas y bioquímicas en el tejido que influyen en su interacción con la luz.

Otro punto a tener en cuenta antes de diseñar un fantoma es conocer cual va a ser su aplicación, ya que si la aplicación es menor de 1mm es muy importante analizar los coeficientes de absorción, dispersión y anisotropía.

Además de lo anterior, debemos estudiar la fabricación de un fantoma es la elección del material y su correcto diseño, para ello debemos de estudiar la región del espectro, así como los parámetros del diseño geométrico del espesor, heterogeneidades, contenedores y posibles limitaciones de mecanizado.

Otra característica muy importante es la sensibilidad espectral a las características moleculares del tejido, por lo que se ha hecho cada vez más importante en el proceso para desarrollar fantomas fiables que imiten con precisión la química de los tejidos.

En la siguiente tabla podemos observar la dispersión que se produce en los diferentes materiales con los que podemos fabricar fantomas.

Scatterer material	Permanent	Biologically compatible	Organic chemical	Particle size [nm]	Index of refraction	Particle distribution function	Recommended Use	References
Lipids	N	Y	Y	10 to 500 nm	1.45	Exponentially weighted to smaller sizes, impossible to get a single size distribution	Intralipid, milk, mixture Theory/experimental tests and multiple phantom contrast studies	7,30,60,80,81,148,149
Polymer microspheres	Y	Y	Y	50 nm to 100 $\mu$ m	1.59	Single size function as ordered, with possible 1 to 2% variance.	Most accurate theoretical prediction of properties Used with all aqueous, resin, and RTV phantoms	1. Bangs Laboratories (Fishers, IN) 2. Polysciences Inc., Warrington, PA, and Eppelheim, Germany 3. Duke Scientific Inc. (Palo Alto, CA). 55,109,150,151
TiO <sub>2</sub> Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> powders	Y	Y	Y	20 to 70 nm	2.4 to 2.9	Exponentially weighted or single size can be ordered	Used with gelatin, RTV, and resin phantoms	Sigma-Aldrich Inc. commonly cited Many possible manufacturers and distributors Many different forms
Quartz glass microspheres	Y	Y	Y	250 nm	N/A	Single size function, with 10% variance	Used with resin phantoms	Darmstadt Inc., Germany <sup>152</sup>

Tabla 5.8. Dispersión de los componentes de fantasmas ópticos. [BRI 2006].

En la mayoría de los fantomas, la elección del agente de dispersión es independiente de la elección de la matriz de composición. Hay 3 principales opciones: micropartículas de lípidos, micro partículas de polímero y metal blanco con polvos de óxido.

El beneficio de las micro-partículas de lípidos, es que son biológicamente similares a lo que se cree que causa la dispersión en el tejido.

La siguiente opción son las micro-esferas de polímero, que es una excelente opción ya que se produce en tamaños regulares con un gran control de calidad.

La tercera y última opción es el dióxido de titanio, ésta es a menudo el principal pigmento en pintura blanca y plásticos blancos, debido a su alto coeficiente de dispersión.

### **5.10.2.1. Propiedades ópticas necesarias para la fabricación de fantomas**

Cuando la luz se propaga a través de un tejido, esta, puede ser dispersada por diferentes constituyentes de los tejidos, tales como células, orgánulos y fibras. Ese mismo haz de luz también puede ser absorbido por algunos pigmentos como la melanina, la hemoglobina y el agua.

Otro aspecto importante es la luz retrodispersada, que es la suma de las ondas de luz que vuelven de múltiples dispersores. La interferencia coherente de estos componentes de retrodispersión, da lugar a la estructura granulada observada en las imágenes de OCT.

### **5.10.2.2. Fabricación de fantomas multicapa**

En algunas modalidades como en la OCT, las capas reflectantes también deber tener características de dispersión homogéneas que aparezcan uniformes en la imagen tomada.

Debido a esta necesidad, apareció la idea de crear fantomas formados por varias capas. Para poder desarrollarlos se utiliza la técnica que se comenta a continuación.

En primer lugar, se recubre por inmersión un sustrato de vidrio tratado con plasma con varias bicapas cargadas con poli electrolitos. Los poli-electrolitos son polímeros cuyas unidades de repetición soportan un grupo de electrolitos que contiene iones libres que hacen que la sustancia eléctrica pueda conducir. En la siguiente figura (Figura 5.12) se pueden observar el procedimiento mediante el cual recubrimos por inmersión un sustrato de vidrio.

Después de que las partículas PS son absorbidas por el sustrato de cristal, una formulación de elastómero (PDMS) de aproximadamente 1 mm de espesor se moldea sobre la monocapa PS.

Estas microesferas de PS son incluidas en la construcción del elastómero PDMS curado y en el posicionado de la interfase vidrio-elastómero. Cuando la construcción se des-lamina desde el cristal, las partículas se mantienen en el elastómero PDMS como una monocapa de partículas de PS posicionado axialmente subyacente a la superficie del polímero. Esta construcción se invierte

y una película transparente PDMS con un espesor equivalente al diámetro de las microesferas PS podría ser aplicada con un dispositivo de recubrimiento de flujo en la superficie superior de la construcción inicial.

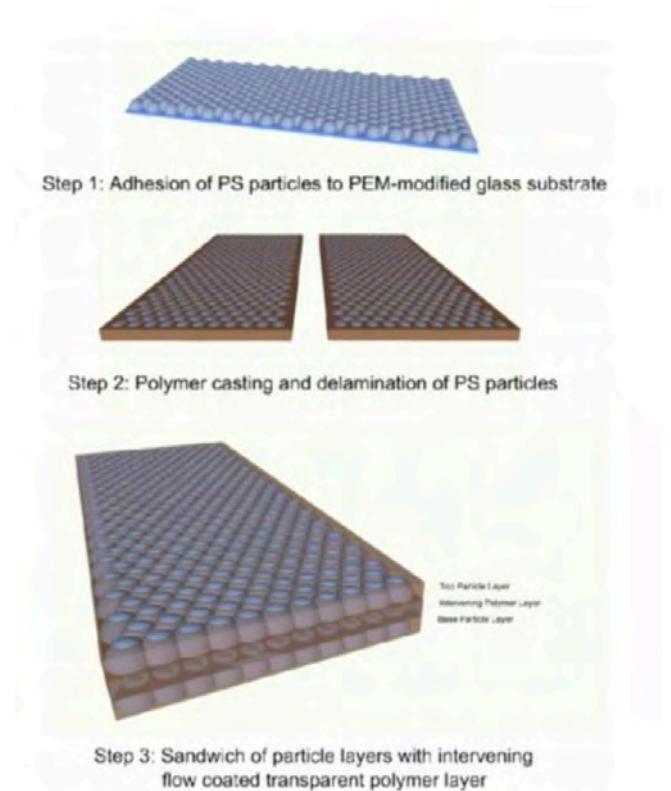


Figura 5.12. Fabricación de fantomas de varias capas. [ROB 2012].

## 5.11. Conclusión

En este capítulo de fantomas y materiales de fantomas se observan temas comunes dentro de un campo en el que se puede observar una gran diversidad de aplicaciones y métodos distribuidos a lo largo de cientos de laboratorios de investigación.

Los principales problemas que existen en el trabajo de fantomas son la falta de uniformidad y la falta de un estándar para su comparación.

Para la aplicación de fantomas en sistemas teóricos o experimentales, las opciones óptimas están basadas en una buena calibración y en tener cantidades conocidas, y en esto las microesferas y los lípidos son las mejores opciones ya que permiten el uso de emulsiones acuosas o de fantomas sólidos de gelatina.

Este enfoque se ha convertido en un estándar de facto, aunque no hay ningún método universalmente aceptado para medir las propiedades ópticas de los fantomas.

# Capítulo 6:

## Conclusiones

---

Para poder comprender el comportamiento de la luz, tanto en el espacio como en los tejidos biológicos, son necesarios los conocimientos de electromagnetismo, procesos fotofísicos (refracción, dispersión y absorción), y conceptos relacionados con la propagación. La interacción luz- tejido supone y supondrá un avance impresionante en el ámbito científico, sanitario e incluso industrial.

Como se ha visto en este trabajo, para poder comprender los fantomas, previamente se deben de conocer cuales son los diferentes tejidos biológicos existentes, junto a sus características, su composición, sus funciones, y que pertenece a cada uno de ellos, como se ha comentado en el cuarto capítulo.

Una vez definidos los tejidos biológicos, era necesario caracterizarlos, por lo que en el cuarto capítulo se han determinado las propiedades ópticas los modelos ópticos de los tejidos biológicos, así como la forma de obtener esos valores para caracterizarlos.

Mediante la técnica de OCT se pueden desarrollar fantomas capaces de simular las propiedades ópticas, mecánicas y estructurales de los tejidos. En el capítulo 5 se habla de 3 materiales: silicona, fibrina y PVA-C. También se ha discutido acerca de las ventajas y desventajas de cada material analizando los resultados de las simulaciones.

Para la correcta fabricación de un fantoma debemos de seguir un protocolo que nos especifique aquello que debemos de tener en cuenta para su fabricación.

Gracias a todo lo anterior se ha podido desarrollar el concepto de fantoma, que, tanto en la actualidad como en un futuro, tienen y van a tener gran relevancia en la evolución de la medicina, ingeniería biomédica... puesto que es un campo en el que aun no se ha terminado de trabajar, debido a la infinidad de posibilidad que existen para crearlos, y gracias también a su versatilidad, ya que, al existir una gran variedad de fantomas, cada unos con sus propias características, como hemos visto en los capítulos 6 y 7, podemos recrear infinidad de tejidos...

# Capítulo 7: Bibliografía.

---

- **[ALV 2016]** Álvaro Mier Fernández. Trabajo fin de grado Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación. “Estudio de materiales y técnicas para la fabricación de fantomas monocapa y multicapa”. Octubre 2016.
- **[BRI 2006]** Brian W. Pogue; Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, 2006
- **[FAN 2015]** Félix Fanjul-Vélez, Roberto Pérez-Raba, Irene Salas-García, José Luis Arce-Diego, “Diagnóstico de patologías neurodegenerativas mediante procesado de imágenes de Resonancia Magnética: aplicación a la enfermedad de Alzheimer”, CASEIB 2015.
- **[FEL 2015]** Félix Fanjul-Vélez, Irene Salas-García, Noé Ortega-Quijano, José Luis Arce-Diego, “FDTD-based Transcranial Magnetic Stimulation model applied to specific neurodegenerative disorders”, Computer Methods and Programs in Biomedicine 118, 34-43 (2015).
- **[IRE 2015]** Mihail Zverev, Félix Fanjul-Vélez, Irene Salas-García, José Luis Arce-Diego, “Modelado predictivo de la estimulación neuronal óptica sobre redes neuronales en procesos neurodegenerativos”, CASEIB 2015.
- **[JIH 2016]** Jihoon Park, Fabrication of various optical tissue phantoms by the spin-coating method, 2016
- **[JUN 2013]** L.C Junqueira, Jose Carneiro; “Histología básica. Texto y Atlas”; 2013.
- **[LAM 2012]** Brendan F. Kennedy, Review of tissue simulating phantoms with controllable optical, mechanical and structural properties for use in optical coherence tomography, Guy Lamouche, 2012
- **[LIU 2017]** X. Liu, Kathy Beaudette, X. Wang, L. Liu, B. E. Bouma and M. Villiger, “Tissue-like phantoms for quantitative birefringence imaging”, *Biomedical Optics Express* 2017 Oct 1, 8(10): 4454–4465, 12 de septiembre de 2017.
- **[MAR 2007]** Markolf H.Niemz, Lasser- “Tissue Interactions, Fundamentals and applications”; 2003
- **[MIH 2015]** Mihail Zverev, Félix Fanjul-Vélez, Irene Salas-García, José Luis Arce-Diego, “Optical neural stimulation modeling on degenerative neocortical neural networks”, Proceedings of SPIE 9536, 95361I (2015).
- **[ORT 2016]** M. Zverev, F. Fanjul-Vélez, I. Salas-García, N. Ortega-Quijano, J. L. Arce-Diego, Analysis of Optical Neural Stimulation effects on neural networks affected by neurodegenerative diseases, Proceedings of SPIE (Volumen 9690), pp. 96901Q-1 a 96901Q-5, Marzo 2016.
- **[ROB 2012]** Robert C. Chang, Peter Johnson, Fabrication and characterization of a multilayered optical tissue model with embedded scattering microspheres in polymeric materials, 2012
- **[VAL 2003]** Valery V. Tuchin; “Biomedical Photonics Handbook 3”; 2003

- **[VOD 2003]** Tuan Vo-Dinh; “Biomedical Photonics Handbook”; 2003
- **[WEB 1]** <https://www.ingenieriabiomedica.org>
- **[WEB 2]** <https://es.slideshare.net/OthonielHernandezOvando/que-es-ingenieria-biomedica>
- **[WEB 3]** <https://es.wikipedia.org/wiki/Birrefringencia>
- **[WEB 4]** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5654792/>
- **[WEB 5]** <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/>
- **[ZVE 2015]** Mihail Zverev, Félix Fanjul-Vélez, Irene Salas-García, José Luis Arce-Diego, “Estudio de los efectos de la estimulación óptica sobre una red neuronal con procesos neurodegenerativos”, OPTOEL 2015.