

ANÁLISIS POLARIMÉTRICO DE TEJIDOS BIOLÓGICOS MEDIANTE TEXTURAS DE CRISTAL LÍQUIDO EQUIVALENTES

Félix Fanjul Vélez, Noé Ortega Quijano, Irene Salas García, José Luis Arce Diego
ffanjul@teisa.unican.es; nortega@teisa.unican.es; irene.salas@alumnos.unican.es; jlarce@teisa.unican.es
Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento de Tecnología Electrónica e Ingeniería de Sistemas y Automática, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander, Cantabria, España

Abstract- In this work, we present a method for the analysis of biological tissues based on the use of equivalent liquid crystal textures. From a measured Mueller matrix of the tissue sample (in this case, a healthy porcine skin region), the Lu-Chipman polar decomposition is performed. Then, we focus on the study of tissue anisotropy. Considering a planar liquid crystal with the polymers organized in a way analogous to that of collagen fibers in tissue, the retardance component of the tissue can be assigned to an equivalent liquid crystal. From this matrix, a further study enables to extract more information about the biological tissue microstructural characteristics.

I. INTRODUCCIÓN

La introducción de técnicas ópticas en el campo de la biomedicina ha proporcionado nuevas y valiosas herramientas para la práctica médica, además de mejorar las ya existentes [1]. El empleo de dichas técnicas puede aplicarse a dos objetivos principales: tratamiento y caracterización de tejidos biológicos. El tratamiento engloba técnicas como la Terapia Láser de Baja Intensidad (LILT) o la Terapia Fotodinámica (PDT). Por otro lado, la caracterización trata de extraer nueva información de los tejidos biológicos para permitir la detección de enfermedades en un estado de desarrollo incipiente, lo que permitiría llevar a cabo un tratamiento adecuado en un gran número de casos.

Las técnicas ópticas de diagnóstico aprovechan diferentes interacciones ópticas, como es el caso de la Espectroscopía de Fluorescencia o, más recientemente, la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT). Su objetivo es la adquisición de imágenes de tejidos biológicos que mejoren las características de las técnicas de imagen convencionales como los ultrasonidos o los rayos X. La introducción de información polarimétrica, de forma adicional a las medidas de intensidad, permite incrementar el contraste de las imágenes obtenidas, y consecuentemente hace posible un mejor diagnóstico. Un ejemplo de la inclusión de información de polarización es la Tomografía de Coherencia Óptica Sensible a la Polarización (PS-OCT).

Las propiedades polarimétricas de la luz al interactuar con cualquier medio en general, y con tejidos biológicos en particular, depende fuertemente de la estructura del medio. Un gran número de tejidos biológicos muestran anisotropía óptica, debido fundamentalmente a la birrefringencia lineal causada por las estructuras fibrosas que abundan en la matriz extracelular del tejido conjuntivo. Este hecho, además del acusado esparcimiento que tiene lugar en este tipo de medio, hace necesario el desarrollo de modelos precisos que

permitan entender y describir la propagación de la luz en tejidos biológicos. En este trabajo se propone un método comparativo para la extracción de información acerca de la estructura del tejido, basado en el análisis de las propiedades polarimétricas de los cristales líquidos y en su fuerte analogía con los tejidos biológicos anisótropos. La caracterización completa de la polarización de la luz y de la influencia de una cierta muestra en ella requiere el uso del cálculo de Mueller. Como primera aproximación al modelo propuesto, se ha descompuesto la matriz de Mueller de un cierto tejido mediante el algoritmo de Lu-Chipman. Esta descomposición separa la matriz inicial en tres componentes responsables respectivamente del retardo, de la absorción y de la despolarización de la muestra. Debido a que el scattering es débil, y por tanto la despolarización es suficientemente baja, la primera de las componentes mencionadas puede asociarse a una lámina de cristal líquido birrefringente equivalente con los polímeros organizados de forma análoga a las fibras de colágeno del tejido biológico. El análisis se aplica a una muestra de piel porcina sana.

Con el objetivo de estudiar todos los aspectos mencionados, este trabajo ha sido estructurado en varios apartados. En la sección II se presenta una introducción a los cristales líquidos, prestando especial atención a la birrefringencia inducida por el orden. Posteriormente, el apartado III recoge las matrices de Jones fundamentales para varios cristales líquidos. La sección IV, por su parte, presenta el cálculo de Mueller como forma de caracterización de tejidos biológicos, resaltando la importancia de la descomposición de Lu-Chipman. Por último, en el apartado V se analiza una muestra de tejido biológico mediante la analogía con una lámina de cristal líquido. La sección VI recoge las principales conclusiones del trabajo.

II. PROPIEDADES DE LOS CRISTALES LÍQUIDOS

La mayoría de las sustancias se encuentran en una de las tres fases básicas: sólida, líquida o gaseosa. La principal diferencia entre ellas estriba en el grado de orden posicional dentro del material. Los cristales líquidos son un estado de la materia en el cual las partículas presentan un estado intermedio entre la fase líquida y una fase sólida de estructura cristalina. Las moléculas de los cristales líquidos presentan anisotropía de forma, teniendo normalmente la forma de un elipsoide de revolución. La principal característica de los cristales líquidos es que presentan un alto grado de orden

orientacional, mientras que el orden posicional está limitado. Consecuentemente, pueden definirse tres tipos, fases o mesofases diferentes de cristales líquidos: nemático, si hay una ausencia total de orden posicional (es decir, si muestran un posicionamiento totalmente aleatorio de las partículas); esméctico, si las moléculas exhiben orden en una dimensión (es decir, si los centros de las moléculas están dispuestos en capas paralelas); y colestérico, que es un tipo especial de cristal líquido nemático en el cual la orientación de las moléculas varía helicoidalmente a lo largo de un eje de rotación.

La principal fuente de birrefringencia en cristales líquidos y polímeros es la estructura ordenada del sistema. El orden orientacional mide la tendencia de las moléculas a alinearse según la dirección dada por el vector director del sistema. Por lo tanto, se define el parámetro de orden S como:

$$S = \frac{1}{2} \langle 3 \cos^2(\theta) - 1 \rangle, \quad (1)$$

siendo θ el ángulo entre la partícula y el eje óptico. Se asume que el campo local es isótropo, y que $\varepsilon = n^2$ en tanto en cuanto estamos trabajando con frecuencias ópticas. Si se considera simetría uniaxial, el índice de refracción medio se define como

$$\langle n^2 \rangle = \frac{1}{3} (n_e^2 + 2n_o^2). \quad (2)$$

Esta expresión tiene en cuenta la corrección de campo local. A partir de las expresiones previas, puede obtenerse la siguiente ecuación [2]:

$$\frac{n_e^2 - n_o^2}{\langle n^2 \rangle + 2} = \frac{\rho N_A}{3\varepsilon_0 M} (\alpha_p - \alpha_s) S. \quad (3)$$

donde α_p es la polarizabilidad molecular paralela, α_s es la polarizabilidad molecular perpendicular, N_A es el número de Avogadro y ρ/M es el volumen molar recíproco. Como puede observarse, el término a la izquierda de la ecuación tiene una alta relación con la birrefringencia del medio, mientras que el término a la derecha es directamente proporcional al parámetro de orden orientacional S . Puede concluirse, por tanto, que la Ecuación 5 constituye la demostración de que la birrefringencia de un cristal líquido depende del orden orientacional, así como de la anisotropía de polarizabilidad molecular y del volumen molar recíproco.

III. CARACTERIZACIÓN DE CRISTALES LÍQUIDOS MEDIANTE EL FORMALISMO DE JONES

El cálculo de Jones es una herramienta muy útil para el análisis de un gran número de situaciones, siendo en particular una herramienta muy útil para la caracterización de cristales líquidos, mientras se mantenga la condición de incidencia normal. Para incidencia oblicua, el método puede emplearse sólo de forma muy limitada, para ángulos cercanos a la incidencia normal. Para el caso de ángulos mayores, la validez de los resultados obtenidos es discutible, ya que este método no tiene en cuenta los fenómenos de interferencia que se producen para ángulos elevados debido a la reflexión de Fresnel en las interfases. Para esta situación, puede aplicarse el método de la matriz de Jones extendida, mientras que para casos más complejos es necesario emplear otras formas de cálculo, como el método de Berreman [2].

El cálculo de Jones es la técnica convencional para calcular las propiedades ópticas de medios birrefringentes

multicapa para incidencia normal [3]. La matriz global de un sistema compuesto por una serie de dispositivos concatenados puede obtenerse simplemente mediante el producto matricial ordenado de las matrices de Jones individuales. En el caso general de una estructura de cristal líquido torsionado, la matriz de Jones para un ángulo de torsión macroscópico Φ y dirección de entrada según el eje x es:

$$J = e^{i\frac{\pi d}{\lambda}(n_e + n_o)} \begin{bmatrix} a & b \\ -b^* & a^* \end{bmatrix}, \quad (4)$$

donde a, b, γ, β vienen dados por

$$a = \frac{\Phi}{\gamma} \sin \Phi \sin \gamma + \cos \Phi \cos \gamma - i \frac{\beta}{\gamma} \cos \Phi \sin \gamma, \quad (5)$$

$$b = \frac{\Phi}{\gamma} \cos \Phi \sin \gamma - \sin \Phi \cos \gamma - i \frac{\beta}{\gamma} \sin \Phi \sin \gamma, \quad (6)$$

$$\gamma = \sqrt{\beta^2 + \Phi^2}, \quad (7)$$

$$\beta = \frac{\pi d (n_e - n_o)}{\lambda}. \quad (8)$$

IV. CARACTERIZACIÓN DE TEJIDOS BIOLÓGICOS MEDIANTE EL CÁLCULO DE MUELLER

Los tejidos biológicos presentan, en general, un alto grado de heterogeneidad. El tamaño medio de las heterogeneidades es comparable a la longitud de onda, por lo que se produce un fuerte esparcimiento que despolariza la radiación óptica incidente [1-7]. Debido a este comportamiento, las matrices de Mueller son la herramienta más potente para estudiar la interacción entre la luz y los tejidos en términos de polarización. La matriz de Mueller tiene 16 elementos, e incluye todas las propiedades del tejido o de cualquier otra muestra relacionadas con la polarización [4-6].

Es posible extraer información precisa acerca de la despolarización, la retardancia y la diatenuación de una matriz de Mueller por medio de la descomposición polar propuesta por Lu y Chipman [8]. Este método descompone una cierta matriz de Mueller en tres componentes, $M = M_\Delta \cdot M_R \cdot M_D$.

El proceso de cálculo de estas componentes será brevemente descrito a continuación. En primer lugar se calcula la componente de diatenuación. A partir de la primera fila de la matriz de Mueller se obtiene el vector de diatenuación \vec{D} , y a partir de su vector unitario y su módulo se construye la submatriz m_D . La matriz de diatenuación puede ser obtenida como:

$$M_D = m_{00} \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^t \\ \vec{D} & m_D \end{bmatrix}. \quad (9)$$

El cálculo de la componente de despolarización M_Δ requiere obtener la submatriz m_Δ , que se lleva a cabo mediante la siguiente expresión:

$$m_\Delta = \varepsilon \frac{(\sqrt{\lambda_1} + \sqrt{\lambda_2} + \sqrt{\lambda_3}) m'(m')^t + \sqrt{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3} I}{m'(m')^t + (\sqrt{\lambda_1 \lambda_2} + \sqrt{\lambda_2 \lambda_3} + \sqrt{\lambda_1 \lambda_3}) I}. \quad (10)$$

Mediante esta ecuación, la expresión final resultante es:

$$M_\Delta = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^t \\ \vec{P}_\Delta & m_\Delta \end{bmatrix}. \quad (11)$$

La matriz de retardancia M_R puede ser calculada a partir de las anteriores, y mediante esta última matriz pueden obtenerse varios parámetros de interés como la retardancia total R , la retardancia lineal δ , la rotación óptica ψ y la orientación θ del eje rápido con respecto al eje horizontal [8].

Un despolarizador puro ideal, con retardancia y diatenuación nulas, tiene la siguiente matriz de Mueller:

$$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a & 0 & 0 \\ 0 & 0 & b & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c \end{bmatrix}, \quad |a|, |b|, |c| \leq 1. \quad (12)$$

Una consecuencia natural es que la componente M_Δ de la descomposición de Lu-Chipman se parecerá a esta matriz, pero no será totalmente idéntica, dado que a pesar de la estructura heterogénea de los tejidos biológicos, en general las muestra medidas no se comportan como medios totalmente despolarizadores.

Debido a este hecho, resulta conveniente introducir un parámetro, llamado potencia de despolarización, que se deriva directamente de los parámetros a , b y c de la Ecuación 14. Al igual que la entropía, mide la despolarización introducida por la componente M_Δ de un modo sencillo:

$$\Delta = 1 - \frac{|a| + |b| + |c|}{3}, \quad 0 \leq \Delta \leq 1. \quad (13)$$

V. MODELADO DE TEJIDOS BIOLÓGICOS

Todos los aspectos mencionados en las secciones anteriores convergirán ahora en una aplicación práctica: el modelado de un tejido biológico mediante la analogía con una lámina de cristal líquido. El análisis se aplicará a una muestra de piel porcina. Antes de realizar la caracterización de dicha muestra, conviene revisar brevemente la estructura básica y la composición de la piel [9]. La piel es un medio ópticamente turbio compuesto por dos capas principales: epidermis y dermis. La epidermis es la capa más externa de la piel. Está formada por tejido epitelial escamoso estratificado, y su grosor medio se encuentra entre 0.07 y 0.12 mm. A su vez, tiene cinco capas: estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinoso y estrato germinativo o estrato basal. La queratina, pigmento que desempeña una función protectora, desempeña un papel clave en esta capa. Por su parte, la dermis está formada por tejido conjuntivo. Su grosor llega a tomar valores entre 0.5 y 3 mm, dependiendo de si se trata de piel fina o de piel gruesa, estando los valores promedios situados entre 1 y 2 mm. Tiene dos capas: la capa papilar, contigua a la epidermis y formada por tejido conjuntivo laxo, y la capa reticular, compuesta de tejido conjuntivo denso. Ambos tienen fibras de elastina y de colágeno. Por último, la hipodermis, constituida por tejido conjuntivo y adiposo, conecta la piel con las estructuras más profundas. La Figura 1 muestra esquemáticamente todas las capas mencionadas tanto para piel gruesa como para piel fina, salvo el estrato lúcido, que al ser una capa muy delgada sólo sería visible en el esquema de piel gruesa.

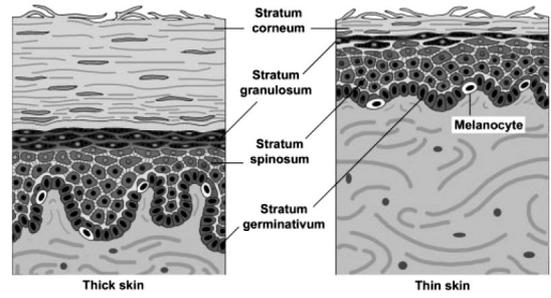


Fig. 1. Estructura de piel gruesa y piel fina [10].

La muestra considerada en este trabajo corresponde a una región cutánea sana, sin ninguna alteración patológica. Se parte de una matriz de Mueller medida en configuración de backscattering para una longitud de onda de 550 nm con un ángulo de detección tal que permite evitar la reflexión especular proveniente de la muestra [11]. Esta matriz de Mueller caracteriza completamente el comportamiento en polarización de dicha muestra de piel.

$$M = \begin{pmatrix} 1 & 0.045 & -0.036 & -0.004 \\ 0.045 & 0.268 & -0.033 & 0.008 \\ -0.021 & 0.034 & -0.289 & 0.0047 \\ 0.007 & -0.006 & -0.026 & -0.205 \end{pmatrix}. \quad (14)$$

El objetivo fundamental es trabajar sobre esta matriz, aplicando los algoritmos y procesos necesarios para separar los diferentes efectos y alcanzar así una mejor comprensión de sus características intrínsecas. Para lograr este objetivo, se aplica la descomposición polar de Lu-Chipman presentada en la sección anterior, obteniéndose como resultado tres matrices correspondientes a las componentes de diatenuación, despolarización y retardancia, respectivamente.

Asumiendo que el esparcimiento es débil, y por lo tanto que la despolarización es suficientemente baja, el comportamiento retardador de la estructura del tejido puede considerarse similar a la de un cristal líquido equivalente. Por lo tanto, como primera aproximación, se asignará la matriz de la componente de retardo del tejido a una lámina de cristal líquido que, por lo tanto, será equivalente al tejido en términos de retardo, presentando la misma birrefringencia. La componente correspondiente a la retardancia, obtenida mediante la descomposición de Lu-Chipman, es:

$$M_R = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0.0056 & -0.0007 \\ 0 & 0.0057 & -0.9981 & 0.0612 \\ 0 & -0.0003 & -0.0612 & -0.9981 \end{pmatrix}. \quad (15)$$

Esta operación permite, potencialmente, realizar un análisis más profundo de la microestructura del tejido por medio de la analogía con los cristales líquidos. A continuación, se comprobó que la componente de retardo verifica las diferentes condiciones de realizabilidad física, chequeo que permite asegurar que la probabilidad de que se hayan producido errores de medida o de procesamiento es baja. Una vez efectuada dicha verificación, obtenemos la matriz de Jones equivalente. Esta operación es posible ya que la matriz considerada está exenta de efectos de despolarización como resultado de la descomposición de Lu-Chipman. Por lo tanto, existe una relación directa entre la matriz de Mueller y la matriz de Jones del retardador asociado a la muestra. La

matriz de Jones obtenida, en representación polar normalizada, es:

$$J_R = \begin{pmatrix} 1 & 0.0026 \cdot e^{j0.0306} \\ 0.0031 \cdot e^{j0.0306} & 1 \cdot e^{-j3.0804} \end{pmatrix}. \quad (16)$$

Comparando esta matriz con la matriz de Jones de los dispositivos básicos, se puede comprobar que en efecto es muy similar a la de un retardador lineal homogéneo. De hecho, mediante la descomposición de Lu-Chipman se calculó que la retardancia lineal de la muestra es de 176.491° . La retardancia total es la misma, siendo la retardancia elíptica nula en este caso.

La birrefringencia consiste en la existencia de diferencias en el retardo para componentes de polarización ortogonales, lo que produce una diferencia de fase entre ellas. En la piel, la birrefringencia está causada fundamentalmente por la anisotropía lineal que presentan la queratina de la epidermis y el colágeno de la dermis. En ambos casos, se trata de estructuras fibrosas que están presentes en la matriz extracelular del tejido conjuntivo. Las fibras de colágeno, largos hilos cilíndricos, están dispuestas de forma ordenada en ausencia de patologías, por lo que esta disposición muestra un gran paralelismo con la organización de los polímeros en las láminas de cristal líquido [12]. Por lo tanto, puede establecerse una analogía entre tejidos biológicos y cristales líquidos a nivel microestructural, en términos de birrefringencia.

Debido a la disposición de las fibras de colágeno, que se encuentran alineadas de forma paralela a la superficie de la piel, a lo largo de capas consecutivas, la textura de cristal líquido apropiada para establecer la analogía es la textura planar. La matriz de Jones de la textura de cristal líquido propuesta puede obtenerse a partir de las ecuaciones 6-10, fijando un ángulo de torsión nulo. De esta forma, particularizando para una longitud de onda de 550 nm, se obtiene que $(n_e - n_o)d = 2.696 \cdot 10^{-7}$. Tomando un valor de $\Delta n = n_e - n_o = 1.5 \cdot 10^{-3}$ para la birrefringencia, que se encuentra entre los valores típicos registrados para piel porcina, resulta que el grosor de la lámina de cristal líquido planar equivalente es de 0.09 mm.

En este cálculo ha sido tenido en cuenta el hecho de que la matriz ha sido medida en configuración de backscattering, por lo que la distancia recorrida por el haz de luz es el doble del grosor de la lámina. La conclusión que puede obtenerse mediante el método empleado es que la microestructura del tejido biológico que es responsable del comportamiento birrefringente puede modelarse mediante una lámina de cristal líquido planar del grosor obtenido. Es importante resaltar que el índice de refracción extraordinario es mayor que el ordinario, lo que corresponde a un medio uniaxial positivo. Esto corrobora los resultados, ya que el índice de refracción extraordinario para cristales líquidos con partículas cilíndricas es siempre mayor que el índice ordinario.

VI. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha presentado un modelo óptico innovador de tejidos biológicos. Está basado en la analogía existente entre las microestructuras anisótropas de los tejidos biológicos y ciertos cristales líquidos. Las propiedades fundamentales de los cristales líquidos han sido revisadas, así

como la aplicación del cálculo de Jones a la caracterización de su comportamiento en polarización. Acto seguido, se ha presentado el cálculo de Jones, así como la descomposición de Lu-Chipman. Finalmente, se ha presentado un breve ejemplo del modelo propuesto, en el cual se establece una analogía entre una muestra de piel porcina y una lámina de cristal líquido planar, basándonos en los paralelismos microestructurales entre ambos medios.

El modelo presentado en este trabajo resulta útil en la medida en que ciertos cambios que afectan a la estructura pueden ser empleados para determinar el estado sano o patológico de un cierto tejido a estudiar. Dado que en morfología médica convencional las diferentes patologías son diagnosticadas basándose en alteraciones estructurales en las muestras de tejido, el hecho de que estas alteraciones se ven reflejadas en la polarización hace de las técnicas polarimétricas una buena herramienta de diagnóstico potencial. De hecho, un gran número de alteraciones estructurales que se observan en diferentes procesos patológicos se deben a la pérdida de regularidad en las fibras de colágeno. El proceso descrito anteriormente podría ser aplicado, por tanto, a piel con alguna patología o con daño producido térmicamente, por ejemplo. Asimismo, el procedimiento aplicado aquí a partir de la matriz de Mueller de un punto, puede extenderse a medidas de la matriz de Mueller superficiales (2D) o incluso a medidas tomadas mediante técnicas tomográficas tales como la PS-OCT, constituyendo de esta forma un parámetro de contraste adicional para el diagnóstico de tejidos biológicos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto TEC2006-06548/TCM del Ministerio de Ciencia e Innovación.

REFERENCIAS

- [1] T. Vo-Dinh, *Biomedical Photonics Handbook*, CRC Press, 2003.
- [2] T. Scharf, *Polarized light in liquid crystals and polymers*, John Wiley & Sons, USA, 2007.
- [3] R. C. Jones, "A new calculus for the treatment of optical systems", *Journal of the Optical Society of America*, vol. 31, no. 7, 1941.
- [4] H. Mueller, "The foundations of Optics", *Journal of the Optical Society of America*, vol. 38, pp. 671-685, 1948.
- [5] E. Collet, *Polarized Light*, Dekker, USA, 1993.
- [6] D. S. Kliger, J. W. Lewis and C. E. Randall, *Polarized light in optics and spectroscopy*, Academic Press, USA, 1990.
- [7] D. Pereda Cubián, J. L. Arce Diego and R. Rentmeesters, "Polarization properties characterization of biological tissues by means of the Mueller-coherence matrix method", *Applied Optics*, vol. 44, no. 3, 2005.
- [8] S. Y. Lu and R. A. Chipman, "Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition", *Journal of the Optical Society of America*, vol. 13, no. 5, 1996.
- [9] L. C. Junqueira and J. Carneiro, *Histología básica*, Masson, Barcelona, 2005.
- [10] A. S. Pakurar and J. W. Bigbee, *Digital Histology*, Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2004.
- [11] F. Boulvert, Y. Piederriere, G. Le Brun, B. Le Jeune and J. Cariou, "Comparison of entropy and polarization memory rate behaviors through a study of weakly-anisotropic depolarizing biotissues", *Optics Communications*, vol. 272, no. 2, pp. 534-538, 2007.
- [12] S. C. Cowin, "How is a tissue built?", *Journal of Biomechanical Engineering*, vol. 122, pp. 553-569, 2000.