

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**CARACTERIZACIÓN DE MELANOMAS EN
MODELO ANIMAL SOMETIDOS A
HIPERTERMIA MAGNÉTICA MEDIANTE
TOMOGRFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA
(OCT)**

(Characterization of melanomas in an animal
model subjected to magnetic hyperthermia
using Optical Coherence Tomography (OCT))

Para acceder al Título de

***Graduada en
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación***

Autora: Meryem Boucetaoui El Kalai

Septiembre - 2025

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

Realizado por: Meryem Boucetaoui El Kalai

Director del TFG: Olga M. Conde Portilla, José Alberto Gutiérrez Gutiérrez

Título: “Caracterización de melanomas en modelo animal sometidos a hipertermia magnética mediante Tomografía de Coherencia Óptica (OCT).”

Title: “Characterization of melanomas in animal models subjected to magnetic hyperthermia through Optical Coherence Tomography (OCT).”

Presentado a examen el día: 17 de Septiembre de 2025

para acceder al Título de

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Pascual Gutiérrez, Juan P.

Secretario (Apellidos, Nombre): Lechuga Solaegui, Yolanda

Vocal (Apellidos, Nombre): Quintela Incera, María A.

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)

AGRADECIMIENTOS: Este Trabajo Fin de Grado ha sido realizado gracias a los medios aportados por los proyectos de investigación HyPERfusioCAM (DTS22/00127), INTRACARDIO(DTS17-00055) financiados por el ISCIII cofinanciado con fondos FEDER. Los proyectos ETCOSPAR (EQC2019-006589-P, financiado por la AEI/MICIU y fondos FEDER, Unión Europea), PERFORMANCE (PID2022-137269OB-C22 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER, Unión Europea) y PALACE (TED2021-130378B-C21) financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR.

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a mis directores, Olga y José Alberto, por la confianza depositada en mí, su paciencia y su apoyo constante. Sin su dedicación y orientación, este trabajo no habría sido posible.

A Shayamita Ghosh y Mónica López Fanarraga, por su dedicación en el diseño del protocolo, la adquisición de muestras y los trabajos de hipertermia magnética, y muy especialmente a Verónica Mieites, por su implicación en todas estas tareas y por su gran ayuda en las medidas OCT.

A mi familia, por su cariño y respaldo incondicional, y a mis amigos y compañeros, por su apoyo y ánimos a lo largo de este proceso.

Resumen

El principal objetivo de este Trabajo Fin de Grado es la validación de la Tomografía de Coherencia Óptica (*Optical Coherence Tomography*, OCT) para caracterizar y diferenciar tejido tumoral de melanoma, así como evaluar los efectos de un tratamiento de hipertermia magnética (MH) con nanopartículas en su microentorno tumoral.

Para el estudio deben conocerse las propiedades ópticas de propagación de la luz al interactuar con tejido biológico, así como los requisitos de propagación del modelo utilizado, Beer-Lambert. Una vez comprendidas las bases teóricas, es necesario familiarizarse con el sistema de medida OCT y con el proceso de captura de la intensidad de radiación procedente de las muestras. El posterior procesamiento de los datos incluye la evaluación del coeficiente de atenuación μ_t y del parámetro A , obtenidos tras la aplicación de técnicas de ajuste, para establecer métricas precisas sobre la propagación y absorción de la luz.

En este trabajo se analiza la propagación y absorción de la luz en distintos tipos de tumores con nanopartículas magnéticas, comparando los resultados obtenidos en función de μ_t y A , con el fin de extraer conclusiones sobre la influencia de las nanopartículas y del tratamiento de hipertermia magnética. Además, se realiza un análisis bibliográfico de estudios previos con tejidos tumorales y tratamientos similares, para contextualizar y validar los resultados obtenidos.

La conclusión principal de este estudio es que tanto la atenuación de la luz como los valores de A dependen ligeramente del tipo de nanopartículas presentes en el tejido y de la aplicación de hipertermia magnética, lo que permitiría establecer criterios para la clasificación y diferenciación de tumores según su composición y su respuesta al tratamiento.

Abstract

The main aim of this Bachelor's Thesis is to validate Optical Coherence Tomography (OCT) as a technique for identifying and characterizing melanoma tumor tissue, as well as evaluating the effects of magnetic hyperthermia (MH) treatment with nanoparticles on the tumor microenvironment.

To accomplish this, it is essential to investigate the optical propagation characteristics of light when interacting with biological tissue, along with the propagation requirements of the Beer-Lambert model applied. Once the theoretical foundations are established, familiarity with the OCT measurement system and the methodology for capturing radiation intensity from the samples is required. Subsequent data processing involves estimating the attenuation coefficient μ_t and the parameter A through fitting procedures, in order to obtain accurate metrics of light propagation and absorption.

In this project, the propagation and absorption of light in various types of tumors containing magnetic nanoparticles are analyzed, comparing the results in terms of μ_t and A to draw conclusions about the influence of nanoparticles and the magnetic hyperthermia treatment. Moreover, a literature review of previous studies involving tumor tissues and analogous therapeutic methods was carried out to provide context and support the validation of the findings.

The main conclusion of this study is that both light attenuation and A values are slightly dependent on the type of nanoparticles present in the tissue and the application of magnetic hyperthermia, allowing for the establishment of criteria to classify and differentiate tumors according to their composition and treatment response.

Lista de acrónimos

CAFs Fibroblastos asociados al cáncer, *Cancer-Associated Fibroblasts*

ECM Matriz extracelular, *Extra-Cellular Matrix*

EMT Transición epitelio-mesenquimal, *Epithelial-Mesenchymal Transition*

FFT Transformada Rápida de Fourier, *Fast Fourier Transform*

FOV Campo de visión, *Field Of View*

GIF Grupo de Ingeniería Fotónica

GIONF Nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de oro, *Gold-coated Iron Oxide Nanoparticles*

GLOBOCAN Observatorio Global del Cáncer, *Global Cancer Observatory*

HGF Factor de crecimiento de hepatocitos, *Hepatocyte Growth Factor*

IQR Rango intercuartílico, *Inter-Quartile Range*

MH Hipertermia magnética, *Magnetic Hyperthermia*

MNPs Nanopartículas magnéticas, *Magnetic Nano-Particles*

OAC Coeficiente de atenuación óptica, *Optical Attenuation Coefficient*

OCT de Coherencia Óptica, *Optical Coherence Tomography*

ROIs Regiones de interés, *Regions Of Interest*

SD-OCT OCT en Dominio Espectral, *Spectral-Domain OCT*

SS-OCT OCT de Barrido de Fuente, *Swept-Source OCT*

TD-OCT OCT en Dominio Temporal, *Time-Domain OCT*

TME Microambiente tumoral, *Tumor Micro-Environment*.

VEGF Factor de crecimiento endotelial vascular, *Vascular Endothelial Growth Factor*

Índice general

1	Introducción y Motivación del Trabajo	1
1.1	Microambiente tumoral en melanoma	1
1.1.1	Fibroblastos asociados al cáncer (CAFs)	2
1.1.2	Influencia de los CAFs en la resistencia terapéutica del melanoma	2
1.2	Objetivos	4
1.3	Estructura del Trabajo	5
2	Fundamentos Teóricos	7
2.1	Fenómenos ópticos en la interacción luz-materia	7
2.1.1	Refracción	7
2.1.2	Reflexión	8
2.1.3	Absorción	9
2.1.4	Esparcimiento	9
2.2	Propiedades ópticas de la OCT	9
2.2.1	Coherencia	10
2.2.2	Interferometría	10
2.3	Tomografía de Coherencia Óptica (OCT)	12
2.3.1	Tipos de OCT	12
2.3.2	Resolución en OCT	14
2.4	Modelos de propagación y parámetros ópticos en sistemas OCT para tejidos biológicos	15
2.4.1	Modelo Beer-Lambert	15
3	Materiales y Métodos	17
3.1	Materiales	17
3.1.1	Equipamiento experimental	17
3.1.2	Muestras	20
3.2	Metodología	22
3.2.1	Configuración y captura de los volúmenes OCT	22
3.2.2	Procesamiento de datos	23
3.2.3	Selección de regiones de interés (ROIs)	26
3.2.4	Segmentación de tejido	26
3.2.5	Calibración óptica	27

3.2.6	Filtrado / Suavizado	28
3.2.7	Ajuste Beer-Lambert	28
3.2.8	Modelo de Beer-Lambert y ajuste lineal	28
4	Análisis de los resultados	31
4.1	Resultados	31
4.1.1	Alineamiento y eliminación del aire	31
4.1.2	Calibración óptica	32
4.1.3	Filtrado / Suavizado	32
4.1.4	Estimación del coeficiente de atenuación	33
5	Conclusiones y Líneas futuras	59

Índice de figuras

1.1	Microambiente tumoral en melanoma.	2
2.1	Cambio de dirección de un rayo de luz al pasar por la superficie que separa dos medios distintos, debido a la diferencia en sus índices de refracción. Imagen obtenida de [13].	8
2.2	Tipos de reflexión: (A) reflexión especular, en la que los rayos reflejados mantienen su paralelismo tras incidir sobre la superficie; (B) reflexión difusa, donde los rayos se dispersan en múltiples direcciones al interactuar con una superficie irregular. Imagen obtenida de [15].	8
2.3	Tipos de <i>scattering</i> : (a) Rayleigh , (b) Mie. Imagen obtenida de [18].	9
2.4	Coherencia de una onda: (A) incoherente; (B) coherencia espacial; (C) coherente. Imagen obtenida de [21].	10
2.5	Tipos de interferencia: (A) constructiva, donde las ondas se combinan en fase, aumentando su amplitud; (B) destructiva, donde se superponen en oposición de fase, provocando atenuación o cancelación. Imagen obtenida de [25].	11
2.6	Interferómetro de Michelson: (a) interferómetro, la fuente de luz extendida es una lámina de vidrio esmerilado que difunde la luz de un láser; (b) vista plana del interferómetro. Imagen obtenida de [26]	12
2.7	TD-OCT: la luz de la fuente se divide en un haz que ilumina la muestra y otro de referencia. Las reflexiones de ambos brazos se combinan y el detector registra la interferencia, obteniendo un perfil de profundidad (A-scan). Este proceso se repite en distintas posiciones laterales para construir una imagen 2D o 3D de la muestra. Imagen obtenida de [27].	13
2.8	SD-OCT (izquierda) y SS-OCT (derecha): en SD-OCT se separan las longitudes de onda con un espectrómetro; en SS-OCT se barre la longitud de onda en el tiempo. En ambos casos, la interferencia registrada se transforma mediante FFT en un A-scan que refleja la profundidad de la muestra. Imagen obtenida de [27].	14
3.1	Sistema OCT del Grupo de Ingeniería Fotónica (GIF), Universidad de Cantabria. Imagen obtenida de [29].	17
3.2	Sistema de escaneo OCTP1300PS. Imagen obtenida de [29].	19
3.3	Lente OCT modelo OCT-LK3. Imagen obtenida de [18].	20

3.4	Imagen compuesta con las 47 muestras tumorales analizadas en el estudio.	20
3.5	Desarrollo del modelo tumoral: (A) cultivo y amplificación <i>in vitro</i> de la línea celular de melanoma murino; (B) trasplante subcutáneo en la región interescapular de 2×10^5 células de melanoma por huésped; (C) localización e identificación de tumor sólido pigmentado de melanoma (flecha). Imagen obtenida de [30].	21
3.6	Montaje experimental de hipertermia magnética sobre tumores ex vivo (bobinas interna y externa). Imagen obtenida de [6].	22
3.7	Esquema de la metodología aplicada para la elaboración del trabajo.	24
3.8	B-scan de la muestra en el centro del melanoma, $y = N_y/2$, mostrando la intensidad en función de la posición lateral x y profundidad z .	25
3.9	Perfil A-scan de intensidad a $x = 100$ en la sección central $y = N_y/2$, mostrando la variación de la intensidad en profundidad.	25
3.10	Comparación entre un A-scan sin aplanar (izquierda) y el mismo A-scan después del proceso de aplanamiento (derecha).	26
3.11	Comparación entre un B-scan sin aplanar (izquierda) y el mismo B-scan después del proceso de aplanamiento (derecha).	27
4.1	Comparación entre un B-scan original (izquierda) y el mismo B-scan tras el proceso de aplanamiento (derecha).	31
4.2	Ejemplo de un B-scan sin calibrar (izquierda) y el mismo B-scan tras la calibración con el phantom (derecha).	32
4.3	Ejemplo de un B-scan sin filtrar (izquierda) y el mismo B-scan tras la aplicación del filtro de mediana (derecha). El filtrado reduce el ruido preservando los bordes y la información estructural.	33
4.4	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las primeras cuatro muestras de control sin hipertermia magnética.	34
4.5	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t de control con hipertermia magnética.	34
4.6	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF sin hipertermia.	35
4.7	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF sin hipertermia.	36
4.8	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF con hipertermia (MH).	36
4.9	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF con hipertermia (MH).	37
4.10	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de GIONF con hipertermia, bobina interna.	37
4.11	Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC84 sin hipertermia.	38

4.12 Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC84 con hipertermia (MH).	39
4.13 Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC84 con hipertermia, bobina interna.	40
4.14 Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC109 sin hipertermia.	40
4.15 Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC109 con hipertermia (MH).	41
4.16 Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC109 con hipertermia, bobina interna.	42
4.17 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control: (fondo rosa) muestras de control sin MH; (fondo naranja) muestras de control con MH.	43
4.18 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control agrupadas: (fondo rosa) muestras de control sin MH; (fondo naranja) muestras de control con MH.	43
4.19 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas GIONF: (fondo rosa) GIONF sin MH; (fondo naranja) GIONF con MH externa; (fondo verde) GIONF con MH interna.	44
4.20 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas GIONF agrupadas: (fondo rosa) GIONF sin MH; (fondo naranja) GIONF con MH externa; (fondo verde) GIONF con MH interna.	45
4.21 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC84: (fondo rosa) IC84 sin MH; (fondo naranja) IC84 con MH externa; (fondo verde) IC84 con MH interna.	46
4.22 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC84 agrupadas: (fondo rosa) IC84 sin MH; (fondo naranja) IC84 con MH externa; (fondo verde) IC84 con MH interna.	46
4.23 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC109: (fondo rosa) IC109 sin MH; (fondo naranja) IC109 con MH externa; (fondo verde) IC109 con MH interna.	47
4.24 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC109 agrupadas: (fondo rosa) IC109 sin MH; (fondo naranja) IC109 con MH externa; (fondo verde) IC109 con MH interna.	48
4.25 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control y con nanopartículas GIONF, IC84 e IC109 agrupadas sin MH: (fondo rosa) Control sin MH; (fondo naranja) GIONF sin MH; (fondo verde) IC84 sin MH; (fondo azul) IC109 sin MH.	49
4.26 Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control y con nanopartículas GIONF, IC84 e IC109 agrupadas con MH: (fondo rosa) Control con MH; (fondo naranja) GIONF con MH; (fondo verde) IC84 con MH; (fondo azul) IC109 con MH.	50

4.27	Factor de proporcionalidad A en muestras de control: (izquierda) muestras de control sin MH; (derecha) muestras de control con MH.	52
4.28	Factor de proporcionalidad A en muestras de control agrupadas: (fondo verde) muestras de control con MH; (fondo rosa) muestras de control sin MH.	52
4.29	Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas GIONF: (fondo naranja) GIONF sin MH; (fondo verde) GIONF con MH externa; (fondo rosa) GIONF con MH interna.	53
4.30	Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas GIONF agrupadas: (fondo naranja) GIONF sin MH; (fondo verde) GIONF con MH externa; (fondo rosa) GIONF con MH interna.	54
4.31	Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC84: (izquierda) IC84 sin MH; (centro) IC84 con MH externa; (derecha) IC84 con MH interna.	55
4.32	Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC84 agrupadas: (fondo naranja) IC84 sin MH; (fondo verde) IC84 con MH externa; (fondo rosa) IC84 con MH interna.	55
4.33	Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC109: (izquierda) IC109 sin MH; (centro) IC109 con MH externa; (derecha) IC109 con MH interna.	56
4.34	Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC84 agrupadas: (fondo rosa) IC84 sin MH; (fondo naranja) IC84 con MH externa; (fondo verde) IC84 con MH interna.	57

Capítulo 1

Introducción y Motivación del Trabajo

El melanoma metastásico constituye una de las formas más agresivas de cáncer de piel, caracterizado por su elevada capacidad de diseminación y la resistencia frente a terapias convencionales [1]. Según GLOBOCAN 2022, ocupa el puesto 22 en mortalidad por cáncer a nivel mundial, con 58.667 muertes registradas ese año [2]. Aunque la cirugía es eficaz en fases localizadas, la mayoría de los pacientes con melanoma metastásico requieren terapias sistémicas, cuya eficacia se ve limitada por toxicidades y resistencias intrínsecas del tumor.

El desarrollo del melanoma metastásico puede estar influido por diversos factores, entre los que destacan los antecedentes familiares de melanoma, haber padecido previamente esta enfermedad y la exposición a radiación ultravioleta, ya sea de origen natural o artificial [3].

Las técnicas convencionales para el diagnóstico incluyen principalmente biopsias y estudios histopatológicos. En cuanto a técnicas de imagen, se utilizan con frecuencia rayos X, resonancia magnética y tomografía computarizada. Aunque efectivas, estas técnicas requieren tiempos prolongados y personal especializado para su ejecución. Además, varias implican el uso de radiación ionizante o agentes de contraste, lo que representa un riesgo adicional para el paciente [4].

1.1 Microambiente tumoral en melanoma

El desarrollo y progresión del melanoma metastásico, al igual que en otros tipos de cáncer, está profundamente influenciado por el microambiente tumoral, en inglés TME (TME, *Tumor Micro-Environment*). El TME (Fig. 1.1) constituye un sistema altamente complejo formado por células tumorales, células inmunes infiltrantes, fibroblastos asociados al cáncer, en inglés CAFs (CAFs, *Cancer-Associated Fibroblasts*), células endoteliales, células lipídicas, matriz extracelular, en inglés ECM (ECM, *Extra-Cellular Matrix*) y múltiples moléculas de señalización [5]. Esta red celular no solo sostiene el crecimiento tumoral, sino que también induce inmunosupresión, promueve metástasis, favorece la resistencia a fármacos y condiciona la respuesta a terapias dirigidas, lo que representa una de las principales causas del fracaso terapéutico en cáncer.

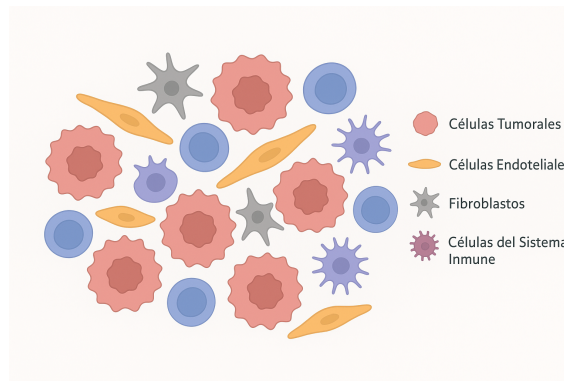


Figura 1.1: Microambiente tumoral en melanoma.

Aunque la arquitectura básica del TME se conserva entre diferentes tumores, el melanoma metastásico presenta particularidades relevantes, como ECM rígida, vasculatura tumoral anómala, alta presión intersticial y baja infiltración de células CAR-T, condiciones que dificultan la penetración y eficacia de los tratamientos [6]. Las células CAR-T son linfocitos T del paciente modificados genéticamente en inmunoterapia para portar receptores artificiales capaces de reconocer y unirse a antígenos específicos de células tumorales, lo que les permite destruirlas selectivamente [7].

1.1.1 Fibroblastos asociados al cáncer (CAFs)

En el MET del melanoma, CAFs son clave por su plasticidad y heterogeneidad. Pueden favorecer el crecimiento tumoral mediante interacciones con las células cancerosas, remodelación de la matriz extracelular y modulación inmune. Se han identificado subtipos como myCAF, iCAF y ApCAF, cada uno con funciones distintas, lo que hace esencial su estudio para desarrollar terapias que bloqueen o modulen los CAFs [8].

1.1.2 Influencia de los CAFs en la resistencia terapéutica del melanoma

Inmunoterapia

La inmunoterapia es un tratamiento que potencia la capacidad del sistema inmunitario para reconocer y destruir células cancerosas. Incluye estrategias como inhibidores de puntos de control inmunitario, células T modificadas, anticuerpos monoclonales y vacunas terapéuticas, con el objetivo de mejorar la respuesta frente al tumor y limitar su crecimiento [9].

Los CAFs contribuyen a la resistencia a la inmunoterapia al bloquear la actividad de los linfocitos T, aumentar la población de células T reguladoras (Tregs), expresar puntos de control inmunitario como PD-L1, PD-L2 y CTLA-4, y remodelar la matriz extracelular. Además, modifican el metabolismo del MET, creando un entorno desfavorable que dificulta la infiltración y el funcionamiento de las células T efectoras (linfocitos T que reconocen y destruyen células tumorales) [10].

Quimioterapia

La quimioterapia es un tratamiento con fármacos diseñado para destruir, reducir o frenar el crecimiento de los tumores [9].

Los CAF favorecen la quimiorresistencia al inducir la transición epitelio-mesenquimal, en inglés EMT (EMT, *Epithelial-Mesenchymal Transition*), un proceso mediante el cual las células tumorales pierden sus características epiteliales y se vuelven más móviles, invasivas y resistentes. Además, adquieren características de células madre, lo que les permite regenerarse y sobrevivir mejor frente a los fármacos.

Asimismo, los CAF remodelan la ECM, dificultando la penetración de los medicamentos; alteran el metabolismo celular, inhiben la apoptosis (muerte celular) y modulan la respuesta inmune. También pueden transferir moléculas protectoras mediante exosomas, reforzando la supervivencia del tumor frente a la quimioterapia [10].

Radioterapia

La radioterapia es un tratamiento que utiliza radiación ionizante para dañar el ADN de las células tumorales e inducir su muerte [9]. Sin embargo, los CAFs pueden disminuir la efectividad de este tratamiento mediante varias estrategias.

Estudios *in vitro* y *in vivo* han demostrado que, tras la radiación, los CAF secretan mayores cantidades de factor de crecimiento hepático, en inglés HGF (HGF, *Hepatocyte Growth Factor*), una proteína que estimula la proliferación, migración y supervivencia de las células. Esta molécula activa su receptor c-Met en las células tumorales, lo que favorece su proliferación y metástasis. Además, se observa un aumento en la secreción de CXCL12 (quimiocina homeostática), que estimula la migración, invasión y resistencia a fármacos de las células cancerosas, fenómeno relacionado con EMT [10].

Terapias combinadas con nanopartículas

A pesar de los avances en tratamientos convencionales como la quimioterapia, la inmunoterapia y la radioterapia, estos presentan importantes efectos secundarios y la tasa de supervivencia en casos de melanoma metastásico continúa siendo baja. Como alternativa, las terapias basadas en nanopartículas han despertado gran interés, ya que mejoran la precisión del tratamiento y reducen la toxicidad sistémica.

En este contexto destacan las nanopartículas magnéticas, en inglés MNPs (MNPs, *Magnetic Nano-Particles*), partículas a escala nanométrica con un núcleo magnético que encuentran aplicaciones en diagnóstico y terapia, actuando como agentes de contraste en diferentes técnicas de imagen y como sistemas de transporte de fármacos dirigibles mediante campos magnéticos. Además, bajo la acción de un campo magnético alterno, las MNPs permiten generar hipertermia magnética capaz de inducir apoptosis en células tumorales. Además, su funcionalización con fármacos, péptidos, radionúclidos o polímeros les confiere propiedades multifuncionales que posibilitan

enfoques diagnóstico-terapéuticos de gran eficacia [11].

En este proyecto se emplearon nanopartículas de carburo de hierro (Fe_3C) funcionalizadas con péptidos dirigidos al receptor del factor de crecimiento endotelial vascular, en inglés (VEGF, *Vascular Endothelial Growth Factor*), aprovechando tanto su núcleo magnético como su cubierta gráfica, la cual protege al hierro de la oxidación y reduce la toxicidad en condiciones fisiológicas. Estas nanopartículas no solo pueden generar hipertermia magnética en presencia de campos alternos, sino también calor bajo irradiación en el infrarrojo cercano (terapia fototérmica), lo que facilita la modificación controlada del microambiente tumoral. La hipertermia magnética con nanopartículas busca destruir el colágeno que encapsula los tumores sólidos, permitiendo así la infiltración de células CAR-T y, en conjunto, incrementando la eficacia de terapias combinadas frente al melanoma [6]. En imágenes ópticas, el colágeno denso aumenta la dispersión de la luz, elevando el coeficiente de atenuación.

1.2 Objetivos

El principal objetivo de este trabajo es verificar la validez de la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT, *Optical Coherence Tomography*) para la caracterización y diferenciación de las propiedades ópticas en muestras sometidas a diferentes terapias basadas en nanopartículas y en hipertermia magnética. Esta técnica permite obtener imágenes en tiempo real con alta resolución y penetración de hasta 3 mm, en 2D o 3D, sin necesidad de cortes ni tratamientos previos sobre el tejido.

Con OCT se pretende evaluar de forma no invasiva las variaciones en el coeficiente de atenuación, asociadas a los cambios estructurales y morfológicos inducidos por la presencia de nanopartículas y por el tratamiento térmico controlado, lo que posibilita analizar la eficacia y el impacto de cada terapia sobre el tejido estudiado. La OCT es una técnica de imagen no invasiva que mide cómo se atenúa la luz a medida que atraviesa el tejido. El coeficiente de atenuación óptica, en inglés OAC (*OAC, Optical Attenuation Coefficient*) cuantifica esta pérdida debida a la dispersión y la absorción, las cuales están fuertemente influenciadas por el contenido y la estructura del colágeno. La OCT presenta numerosas ventajas, entre ellas la rapidez en la obtención de imágenes y la posibilidad de realizar análisis en tiempo real, lo que la convierte en una herramienta eficiente para el seguimiento de terapias. Aunque se emplea principalmente en oftalmología y dermatología, su aplicación en el seguimiento de terapias contra el cáncer es limitada, por lo que se plantea su uso en modelos animales para observar la estructura completa del tejido y obtener información sobre el comportamiento celular durante el tratamiento.

Para cumplir con este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos parciales:

- Analizar cómo interactúa la luz con distintos tipos de tejidos tratados con nanopartículas y expuestos (o no) a técnicas de hipertermia magnética.
- Aprender a realizar medidas de intensidad óptica con un sistema OCT y comprender su interpretación.

- Manejar y analizar cubos de datos tridimensionales utilizando Python.
- Aplicar técnicas de procesamiento de señal e imagen sobre los datos obtenidos con el equipo OCT.
- Determinar los coeficientes de atenuación en diferentes regiones de tejido tumoral de melanoma mediante modelos de propagación de luz, como el modelo de Beer-Lambert.
- Comparar los resultados obtenidos con referencias bibliográficas para verificar y validar la metodología empleada.

1.3 Estructura del Trabajo

En este documento se presentan los conocimientos fundamentales necesarios para comprender este trabajo, organizado en cinco capítulos, cada uno subdividido en secciones específicas:

- **Capítulo 2: Fundamentos Teóricos.** Se abordan las bases teóricas relacionadas con la interacción luz-tejido y las propiedades ópticas que sustentan el funcionamiento de la OCT. Además, se presentan los modelos de propagación de la luz aplicados a tejidos biológicos.
- **Capítulo 3: Materiales y Métodos.** Se describe el equipamiento experimental utilizado y el manejo de las muestras biológicas. Además, se explica el procedimiento seguido desde la adquisición de los datos mediante OCT hasta su procesamiento, incluyendo filtrado, segmentación y generación de mapas de atenuación.
- **Capítulo 4: Análisis de Resultados.** En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos en diferentes condiciones de tratamiento del tejido, comparándolos con los modelos teóricos de propagación de la luz.
- **Capítulo 5: Conclusiones y Líneas Futuras.** Se resumen los hallazgos más relevantes y se plantean posibles líneas de investigación futura, orientadas a optimizar la evaluación no invasiva de terapias innovadoras mediante OCT y su potencial aplicación en estudios preclínicos.

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos

En este capítulo se explican los fenómenos ópticos que se han estudiado a lo largo del trabajo. Además, se presentan los conceptos teóricos en los que se basa la OCT, su funcionamiento, los diferentes tipos que existen y cómo se comporta la luz al propagarse por distintos materiales.

2.1 Fenómenos ópticos en la interacción luz-materia

Entre las características que definen y permiten clasificar los comportamientos ópticos, en este trabajo se describirán aquellas que permiten entender las distintas formas en que la luz puede interactuar con un medio material o biológico.

2.1.1 Refracción

La refracción es el fenómeno que ocurre cuando una onda cambia de dirección al pasar de un material a otro. Esto sucede únicamente si la onda incide con un ángulo distinto de cero respecto a la normal de la superficie y si los dos materiales tienen diferentes índices de refracción. Este cambio de dirección se debe a que la velocidad de propagación de la onda varía en cada medio. El índice de refracción, n (ec. 2.1), es una medida que indica en cuánto se reduce la velocidad de la onda al propagarse en un medio determinado respecto a la velocidad de la luz en el vacío c .

$$n = \frac{c}{v} \quad (2.1)$$

La relación entre los ángulos de incidencia y refracción (ec. 2.2), y los índices de refracción de ambos medios se conoce como Ley de Snell (Fig. 2.1).

$$n_1 \sin(\theta_1) = n_2 \sin(\theta_2) \quad (2.2)$$

Siendo n_1 y n_2 los índices de refracción de los medios, y θ_1 y θ_2 los ángulos de incidencia y refracción, respectivamente [12].

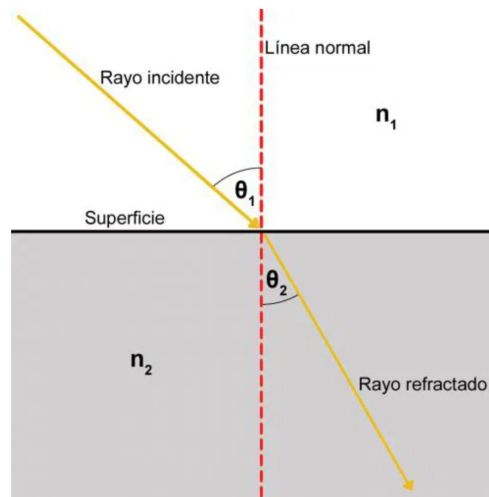


Figura 2.1: Cambio de dirección de un rayo de luz al pasar por la superficie que separa dos medios distintos, debido a la diferencia en sus índices de refracción. Imagen obtenida de [13].

2.1.2 Reflexión

La reflexión de la luz ocurre cuando las ondas inciden sobre una superficie o interfaz que no absorbe su energía, provocando que dichas ondas se desvíen y regresen al medio original. La luz incidente que llega a una superficie se refleja con un ángulo igual al de incidencia, medido respecto al vector normal a la superficie, formando la llamada onda reflejada [14].

Si la superficie del material presenta irregularidades, es posible diferenciar dos tipos de reflexión de la luz. La reflexión especular (Fig. 2.2 A) se produce cuando las irregularidades del medio son pequeñas en comparación con la longitud de onda de la luz incidente. La reflexión difusa (Fig. 2.2 B) se produce cuando las irregularidades del medio son de un orden de magnitud comparable al tamaño de la longitud de la onda de la luz incidente [15].

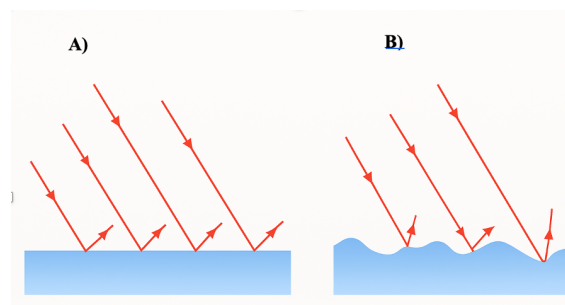


Figura 2.2: Tipos de reflexión: (A) reflexión especular, en la que los rayos reflejados mantienen su paralelismo tras incidir sobre la superficie; (B) reflexión difusa, donde los rayos se dispersan en múltiples direcciones al interactuar con una superficie irregular. Imagen obtenida de [15].

2.1.3 Absorción

La absorción de la luz ocurre cuando un material capta la energía de la radiación incidente y la transforma en otro tipo de energía, generalmente térmica. Esto sucede cuando la frecuencia de la luz coincide con la frecuencia a la que vibran los electrones del material. Como cada sustancia responde a diferentes frecuencias, se absorben distintas longitudes de onda, lo que explica, entre otros fenómenos la variedad de colores que percibimos en los objetos [16].

La capacidad de absorción de un material se puede expresar en función de la sección eficaz de absorción, σ_a , y de la concentración de elementos absorbentes presentes en el material, ρ [17]:

$$\mu_a = \rho \cdot \sigma_a \quad (2.3)$$

2.1.4 Esparcimiento

El esparcimiento o *scattering* es un fenómeno por el cual la luz cambia de dirección al atravesar un medio turbio. Este proceso se describe principalmente mediante las teorías de Rayleigh y Mie (Fig. 2.3). La primera explica el esparcimiento cuando las partículas son mucho más pequeñas que la longitud de onda, actuando como pequeños dipolos, mientras que la segunda ofrece una descripción rigurosa para partículas esféricas, incluyendo estructuras multicapa o con variaciones internas. En tejidos biológicos, que presentan gran heterogeneidad estructural, ocurren múltiples tipos de *scattering*. La eficiencia con la que un material dispersa la luz se mide mediante el coeficiente de *scattering* (μ_s), que refleja la caída exponencial de la intensidad luminosa con la distancia. En presencia de absorción, se usa el coeficiente de atenuación total μ_t (ec. 2.4) [18].

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (2.4)$$

donde μ_a es el coeficiente de absorción.

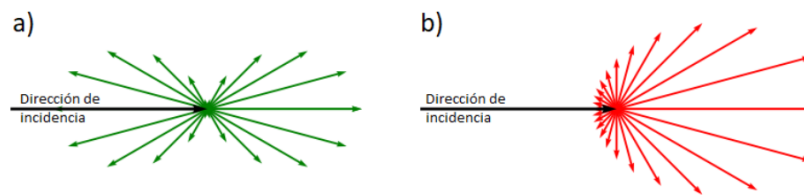


Figura 2.3: Tipos de *scattering*: (a) Rayleigh , (b) Mie. Imagen obtenida de [18].

2.2 Propiedades ópticas de la OCT

La OCT se fundamenta en el uso de interferometría de baja coherencia, técnica que permite obtener imágenes seccionales de alta resolución. Mediante la interferencia entre un haz de referencia y otro retrodisperso por el tejido, se generan patrones que dependen del desfase óptico entre ambos. Esta propiedad, combinada con el uso de luz con baja longitud de coherencia, permite discriminar

estructuras internas con precisión micrométrica [19]. A continuación, se introducen los conceptos de coherencia e interferometría, esenciales para comprender el principio físico en el que se basa esta técnica.

2.2.1 Coherencia

La coherencia es una propiedad de la luz que hace referencia a la existencia de una relación de fase constante entre las ondas que la componen. Cuando dicha relación se mantiene estable en el tiempo, se dice que la luz es coherente (Fig. 2.4 C). En caso contrario, si la fase varía aleatoriamente, se considera incoherente (Fig. 2.4 A). Sólo la radiación coherente, como la emitida por un láser, es capaz de generar patrones de interferencia, ya que todos los componentes del haz presentan fases correladas [20].

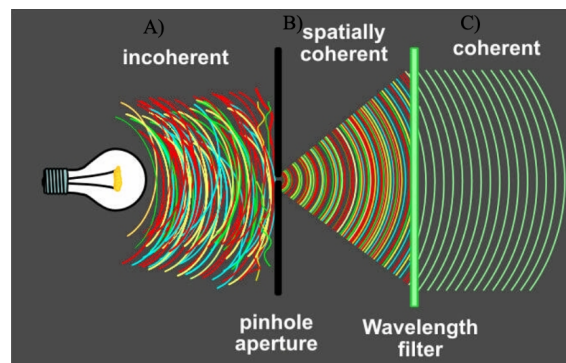


Figura 2.4: Coherencia de una onda: (A) incoherente; (B) coherencia espacial; (C) coherente. Imagen obtenida de [21].

Existen dos tipos de coherencia: la coherencia temporal y la coherencia espacial. La coherencia temporal se refiere a la capacidad de una onda luminosa de mantener una fase constante a lo largo del tiempo en un mismo punto del espacio. Esta propiedad está directamente relacionada con la monocromaticidad (longitud de onda única) de la fuente de luz [22]. La coherencia espacial se refiere a la constancia de la fase entre distintos puntos del espacio. Una fuente tiene alta coherencia espacial cuando su frente de onda mantiene una fase constante. Esto permite enfocar la luz en un único punto o hacer que se propague en un haz paralelo [22].

2.2.2 Interferometría

La interferometría es una técnica que se basa en el fenómeno de la interferencia, producido al superponer y combinar dos haces de luz en un mismo punto del espacio [23]. La interferencia puede ser constructiva (Fig. 2.5 B), cuando las ondas están en fase y sus amplitudes se suman, generando una mayor intensidad; o destructiva (Fig. 2.5 A), cuando están desfasadas y sus amplitudes se cancelan, reduciendo o anulando la señal resultante [24].

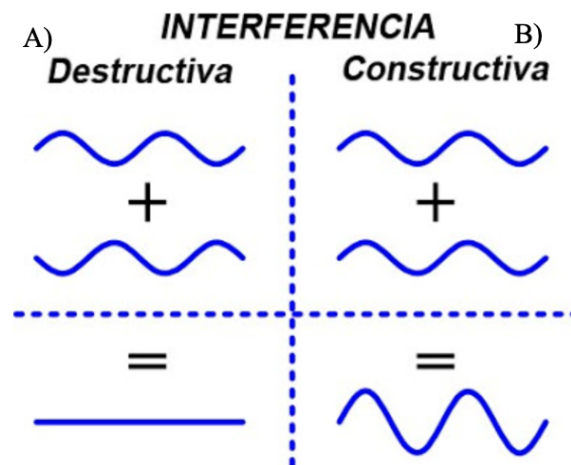


Figura 2.5: Tipos de interferencia: (A) constructiva, donde las ondas se combinan en fase, aumentando su amplitud; (B) destructiva, donde se superponen en oposición de fase, provocando atenuación o cancelación. Imagen obtenida de [25].

El interferómetro es el instrumento que utiliza la interferencia entre dos haces de luz, permitiendo detectar diferencias muy pequeñas. Existen diferentes tipos de interferómetros, como los de Twyman-Green y Fizeau, que se clasifican según si dividen el frente de onda o la amplitud del haz. Todos emplean trayectorias ópticas distintas que se combinan para formar un patrón de interferencia, mejorando la resolución angular, aunque con menor captación de luz [23].

El **interferómetro de Michelson** (Fig. 2.6) divide un haz de luz en dos caminos mediante un espejo semitransparente. Cada haz viaja hasta un espejo (uno fijo, otro móvil) y luego se recombinan. Al interferir, generan franjas que varían según la diferencia de trayectorias recorridas. Si esta diferencia es un múltiplo de la longitud de onda, la interferencia es constructiva. El sistema permite medir desplazamientos extremadamente pequeños observando el desplazamiento de las franjas de interferencia. Una lámina compensadora asegura que ambos haces recorran el mismo grosor de vidrio [26].

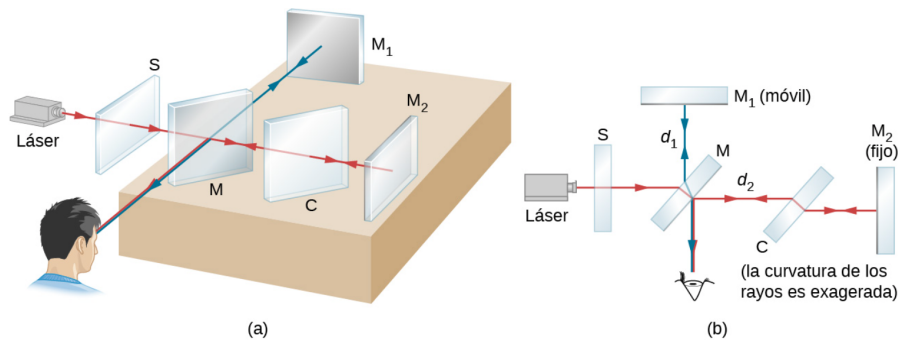


Figura 2.6: Interferómetro de Michelson: (a) interferómetro, la fuente de luz extendida es una lámina de vidrio esmerilado que difunde la luz de un láser; (b) vista plana del interferómetro. Imagen obtenida de [26]

2.3 Tomografía de Coherencia Óptica (OCT)

La Tomografía de Coherencia Óptica es una técnica de imagen no invasiva que produce imágenes transversales de tejido con alta resolución. Permite obtener imágenes en tiempo real gracias a su alta velocidad de escaneo y procesamiento [27]. Funciona mediante interferometría de baja coherencia con luz infrarroja. Cada tejido refleja la luz de forma distinta, lo que permite generar imágenes codificadas según su diferencia de índices de refracción. En OCT, la imagen se construye a partir de medidas llamadas A-scans, que muestran cómo se retrodispersa la luz en distintas profundidades por debajo de un punto del tejido. Si se mueve el haz a lo largo de la superficie del tejido y se recopilan muchos A-scans seguidos, se forma una imagen bidimensional llamada B-scan que muestra un corte transversal del tejido [27].

2.3.1 Tipos de OCT

Existen dos tipos principales de sistemas OCT : el sistema en el dominio temporal (TD-OCT, *Time Domain*) y el sistema en el dominio frecuencial o de Fourier (FD-OCT, *Fourier Domain*).

TD-OCT Dominio temporal

Este sistema (Fig. 2.7) funciona modulando la longitud del brazo de referencia para escanear la profundidad de la muestra. La luz se divide en dos haces: uno que incide sobre la muestra y otro sobre un espejo móvil. Al combinar la luz reflejada de ambos brazos, se obtiene un perfil de reflectividad en profundidad (A-scan). Al mover el haz lateralmente sobre la muestra y combinar muchos A-scans, se construye una imagen transversal (B-scan) [27].

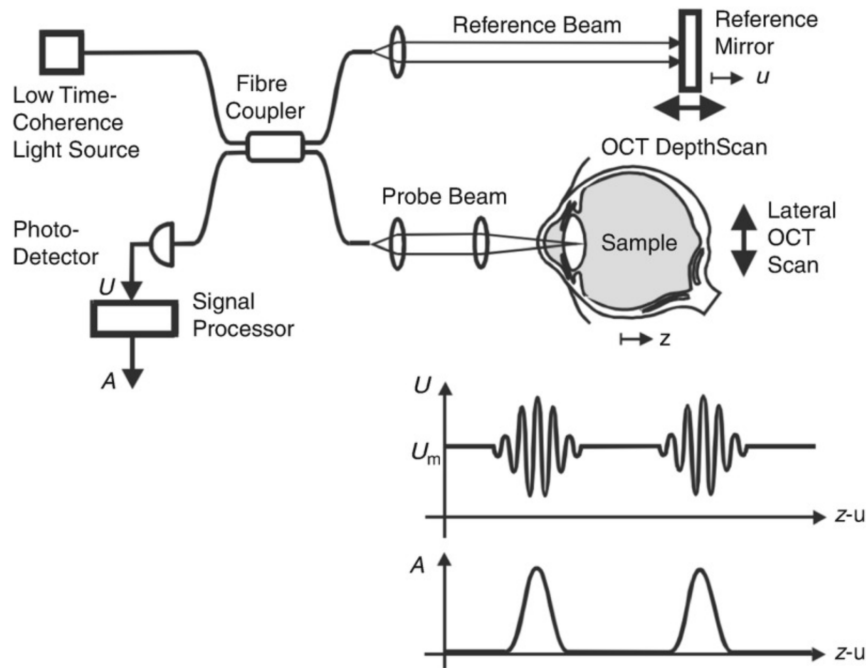


Figura 2.7: TD-OCT: la luz de la fuente se divide en un haz que ilumina la muestra y otro de referencia. Las reflexiones de ambos brazos se combinan y el detector registra la interferencia, obteniendo un perfil de profundidad (A-scan). Este proceso se repite en distintas posiciones laterales para construir una imagen 2D o 3D de la muestra. Imagen obtenida de [27].

FD-OCT Dominio espectral

En este sistema (Fig. 2.8), no se requiere mover mecánicamente el brazo de referencia. En su lugar, se utiliza el análisis espectral de la señal interferométrica para obtener la información de profundidad. Aplicando la transformada de Fourier inversa sobre la señal espectral, se puede recuperar el interferograma en el dominio temporal. Dentro de la FD-OCT existen dos tipos:

SD-OCT Dominio espectral: Este sistema usa un espectrómetro para separar las diferentes longitudes de onda de la luz retrodispersada, capturando un espectro que luego se procesa mediante la transformada de Fourier para obtener los A-scans.

SS-OCT Barrido de fuente: En este caso, se utiliza una fuente de luz que barre distintas longitudes de onda rápidamente. Cada longitud se detecta de forma secuencial con un fotodetector, generando un interferograma que se procesa con una transformada de Fourier para obtener el perfil A-scan en profundidad [27].

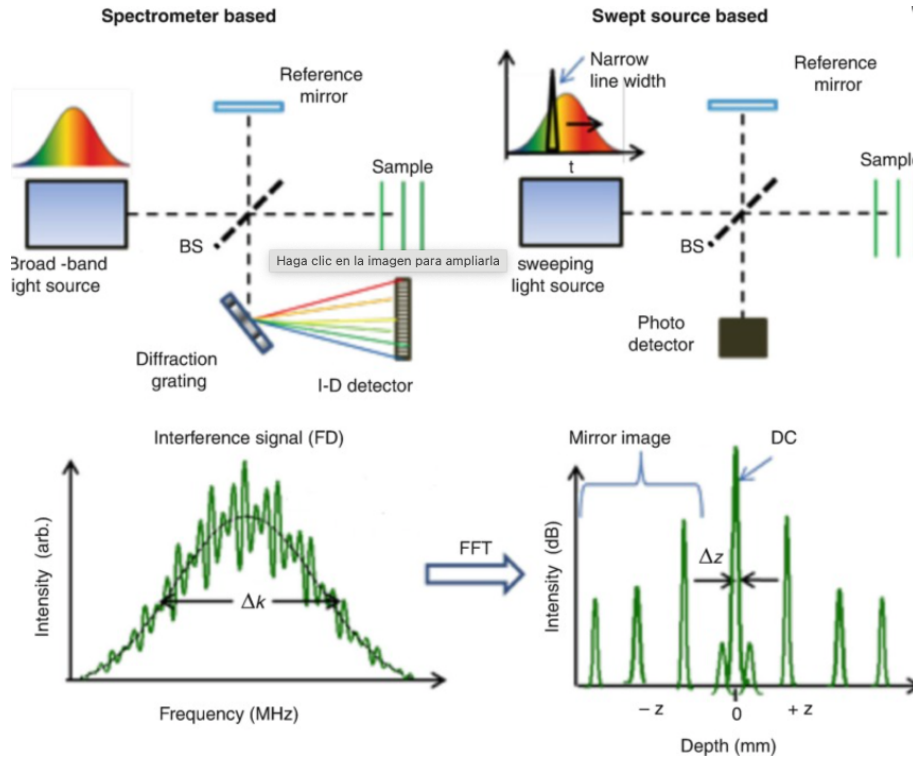


Figura 2.8: SD-OCT (izquierda) y SS-OCT (derecha): en SD-OCT se separan las longitudes de onda con un espectrómetro; en SS-OCT se barre la longitud de onda en el tiempo. En ambos casos, la interferencia registrada se transforma mediante FFT en un A-scan que refleja la profundidad de la muestra. Imagen obtenida de [27].

2.3.2 Resolución en OCT

La resolución en OCT se contabiliza en dos componentes fundamentales: axial y lateral. Estas resoluciones se encuentran desacopladas, ya que dependen de parámetros distintos del sistema, como la fuente de luz y la óptica de enfoque, respectivamente.

La **resolución axial**, o la capacidad de discernir dos puntos en profundidad (ec. 2.5), depende de la fuente de luz. Está determinada por la longitud de coherencia de la fuente, que a su vez depende de su longitud de onda central λ_0 y de su ancho de banda espectral $\Delta\lambda$ (FWHM, *Full Width at Half Maximum*).

$$\delta z = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} \quad (2.5)$$

En un medio con índice de refracción n , la resolución axial (ec. 2.6) real se ajusta dividiendo por n , ya que la luz se propaga más lentamente en el medio:

$$\delta z = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \cdot \frac{\lambda_0^2}{n \Delta\lambda} \quad (2.6)$$

La **resolución lateral**, o la capacidad de discernir dos puntos espaciados sobre la superficie

del tejido, depende de la óptica de enfoque del sistema, en concreto de la apertura numerica (NA, *Numerical Aperture*) y del tamaño del haz. Para un haz gaussiano se puede expresar como:

$$\delta x = 2\sqrt{\ln(2)} \cdot w_0 = 2\sqrt{\ln(2)} \cdot \frac{2\lambda_0 f_{\text{sys}}}{\pi n d} \quad (2.7)$$

donde w_0 es el radio mínimo del haz (cintura), f_{sys} es la distancia focal del sistema, n es el índice de refracción del medio, y d es el diámetro del haz antes de la lente [27].

2.4 Modelos de propagación y parámetros ópticos en sistemas OCT para tejidos biológicos

En esta sección se describe el modelo de Beer-Lambert, que permite caracterizar la propagación de la luz en tejidos biológicos y así estimar el coeficiente de atenuación.

2.4.1 Modelo Beer-Lambert

La ley de Beer-Lambert [28] describe cómo la intensidad de la luz disminuye exponencialmente al atravesar un medio absorbente, según la expresión (ec. 2.8):

$$I(z) = I_0 e^{-\mu_t z} \quad (2.8)$$

donde I_0 es la intensidad inicial de la luz antes de entrar al tejido, e $I(z)$ es la intensidad después de recorrer una profundidad z dentro del mismo. El coeficiente μ_t representa el coeficiente de atenuación del tejido, que cuantifica la pérdida de intensidad tanto por la absorción de la radiación como por la desviación de la luz de su trayectoria original debido al esparcimiento.

La Tomografía de Coherencia Óptica se fundamenta principalmente en la estimación del coeficiente de atenuación que está condicionado principalmente por el coeficiente de *scattering*, ya que mide la intensidad de la luz que es retrodispersada por el tejido. El coeficiente total de atenuación es muy parecido al coeficiente de *scattering*, dado que se elige una longitud de onda en la que la absorción es mínima y, por tanto, despreciable. Al analizar la luz retrodispersada, el recorrido óptico implica que la luz atraviesa la muestra dos veces: una al llegar hasta el fondo y otra al regresar hacia el detector. Por esta razón, la expresión de la ecuación original se modifica para tomar en cuenta este doble trayecto, quedando como (ec. 2.9) :

$$I(z) = I_0 e^{-2\mu_t z} \quad (2.9)$$

El objetivo de las medidas OCT, más allá del análisis de imagen propiamente dicho, es ajustar la señal de intensidad recogida para extraer el coeficiente de atenuación, lo que permite caracterizar las propiedades del tejido.

Capítulo 3

Materiales y Métodos

En este capítulo se presentan los materiales y equipos experimentales, así como los tejidos biológicos utilizados, y se describen los métodos aplicados para la realización de este Trabajo de Fin de Grado.

3.1 Materiales

3.1.1 Equipamiento experimental

La información y las imágenes presentadas en esta sección han sido extraídas del sitio web oficial de Thorlabs, el fabricante del sistema OCT y del software de adquisición [29].

Sistema SD-OCT

Se ha utilizado el equipo comercial SD-OCT de dominio espectral Series Telesto del fabricante Thorlabs, disponible en el Grupo de Ingeniería Fotónica (GIF). Este equipo (Fig. 3.1) está formado por la unidad base, el sistema de escaneo y el kit de lentes.



Figura 3.1: Sistema OCT del Grupo de Ingeniería Fotónica (GIF), Universidad de Cantabria. Imagen obtenida de [29].

La unidad base del sistema es el modelo TEL221PS. Las características de imagen del sistema OCT dependen principalmente de los componentes y el diseño de esta unidad, que incluye un motor OCT, un ordenador de alto rendimiento, software preinstalado y un kit de desarrollo. El motor OCT cuenta con una fuente de luz superluminiscente, electrónica de escaneo y un módulo de detección sensible a la polarización. A continuación, se presentan las características principales de esta unidad base:

- Longitud de onda central: 1300 nm.
- Profundidad de imagen (Aire/Agua): 3.5 mm / 2.6 mm.
- Resolución axial (Aire/Agua): 5.5 μm / 4.2 μm .
- Tasa de líneas A-Scan: 5.5, 28, 48 y 76 kHz.
- Sensibilidad: 94 dB (a 76 kHz) hasta 109 dB (a 5.5 kHz).
- Máximo de píxeles por A-Scan: 1024.
- Escáneres compatibles: OCTP-1300PS, OCTP-1300PS/M, OCTG13PS.

El OCTP-1300PS (Fig. 3.2) es un sistema de escaneo que permite obtener imágenes 2D y 3D de una muestra mediante el movimiento controlado del haz de luz. Está basado en un interferómetro tipo Michelson, formado por un módulo de colimación de fibra, un divisor de haz óptico integrado, un brazo de referencia y un módulo de escaneo. El módulo de divisor de haz consiste en un cubo no polarizante de 20 mm montado dentro de una jaula de 30 mm fijada a un soporte de rotación bloqueable. La jaula tiene cuatro puertos, uno de ellos cerrado con una tapa, que puede usarse opcionalmente para acoplar luz de manera asimétrica, conectar un segundo detector o una segunda longitud de onda. El brazo de referencia, ubicado dentro del sistema cerca de la muestra, contiene un espejo que refleja la luz de vuelta al interferómetro y permite ajustar la longitud óptica del camino. Esta disposición garantiza la estabilidad de fase entre los brazos y reduce las distorsiones por dispersión al igualar ópticamente la longitud de ambos caminos. El escáner realiza barridos rasterizados en dos dimensiones (X e Y) con alta velocidad de muestreo y cuenta con una cámara integrada que permite visualizar la muestra en tiempo real durante las medidas.



Figura 3.2: Sistema de escaneo OCTP1300PS. Imagen obtenida de [29].

La lente empleada en este trabajo corresponde al modelo **OCT-LK3** (Fig. 3.3). Opera en una longitud de onda central de 1315 ± 65 nm, ofrece una resolución lateral de $13 \mu\text{m}$ y una distancia focal efectiva de 36 mm. Además, proporciona un campo de visión de $10 \times 10 \text{ mm}^2$. Esta lente fue seleccionada por ofrecer un equilibrio adecuado entre resolución y campo de visión.

El kit de lentes incluye también los modelos **OCT-LK2** y **OCT-LK4**, compatibles con la unidad base, que permiten obtener diferentes configuraciones en términos de resolución, distancia focal y campo de trabajo.



Figura 3.3: Lente OCT modelo OCT-LK3. Imagen obtenida de [18].

3.1.2 Muestras

En este TFG se han medido y caracterizado muestras de tejido utilizando 23 ratones procedentes de una línea ampliamente empleada en modelos experimentales *in vivo*, debido a su alta tasa de supervivencia posnatal y facilidad de manipulación. De estos ratones se obtuvieron un total de 47 muestras tumorales (Fig. 3.4), que fueron proporcionadas por el Grupo de Nanomedicina de la Universidad de Cantabria-IDIVAL y medidas posteriormente en el Grupo de Ingeniería Fotónica de la Universidad de Cantabria-IDIVAL.

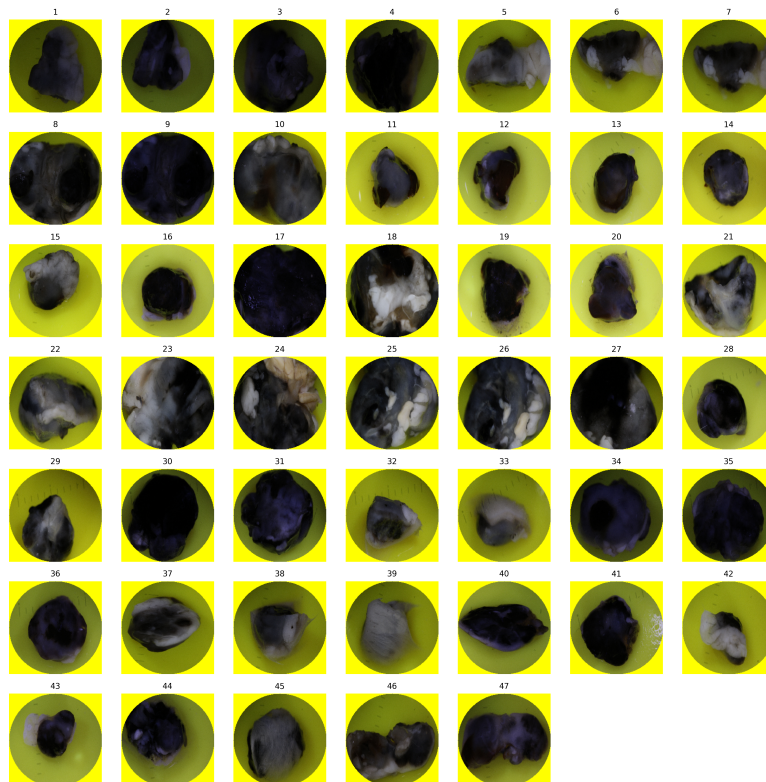


Figura 3.4: Imagen compuesta con las 47 muestras tumorales analizadas en el estudio.

El modelo tumoral de melanoma (Fig. 3.5) consiste en inyectar células de melanoma *B16-F10* bajo la piel de ratones recién nacidos, entre los días 2 y 9 de vida, lo que permite que se formen tumores sólidos en 4 a 10 días. La inmadurez del sistema inmunológico de estos ratones evita que rechacen el tumor. Posteriormente, se inyectaron nanopartículas de carburo de hierro, distribuyéndose distintos tipos en diferentes grupos de ratones: Iron carbide (Fe_7C_3), Iron carbide (Fe_5C_2) y nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de oro, en inglés GIONF (GIONF, *Gold-coated Iron Oxide Nanoparticles*).

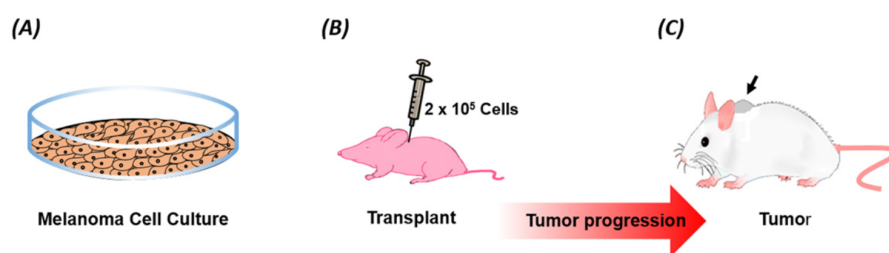


Figura 3.5: Desarrollo del modelo tumoral: (A) cultivo y amplificación *in vitro* de la línea celular de melanoma murino; (B) transplante subcutáneo en la región interescapular de 2×10^5 células de melanoma por huésped; (C) localización e identificación de tumor sólido pigmentado de melanoma (flecha). Imagen obtenida de [30].

Para obtener las muestras, los ratones fueron sacrificados y se extrajeron los tumores de la zona interescapular, los cuales se midieron con el equipo OCT. Posteriormente, los tumores se fijaron en formol siguiendo el protocolo aprobado, se incluyeron en parafina y se tiñeron para su estudio histológico [30].

Después de inyectar las nanopartículas en los ratones, los tumores se extrajeron *ex vivo* para evaluar el impacto de la hipertermia magnética, en inglés MH (MH, *Magnetic Hyperthermia*) sobre el microambiente tumoral. Los tumores se organizaron según el tipo de nanopartícula utilizada y, dentro de cada grupo, se aplicó MH en algunos tumores mientras que otros no recibieron hipertermia. Además, en algunos casos la MH se aplicó mediante la bobina interna (*internal coil*) y en otros desde el exterior. La configuración experimental utilizada se muestra en la (Fig. 3.6) y fue realizada por el grupo de Nanomedicina de la Universidad de Cantabria-IDIVAL.

Se planificó un protocolo de medidas que permite evaluar los cambios producidos sobre muestras control, sin inyección de MNP, y que también permite evaluar el impacto de la hipertermia magnética (MH) y sus diferentes configuraciones.

A continuación, se detallan las cantidades de muestras tumorales por grupo:

- **Control sin hipertermia (no MH):** 4
- **Control con hipertermia (MH):** 2
- **GIONF(hierro recubierto con oro):**

- Sin MH: 8
 - Con MH, bobina externa: 6
 - Con MH, bobina interna: 2
- **IC84:**
- Sin MH: 5
 - Con MH, bobina externa: 6
 - Con MH, bobina interna: 2
- **IC109:**
- Sin MH: 4
 - Con MH, bobina externa: 6
 - Con MH, bobina interna: 2

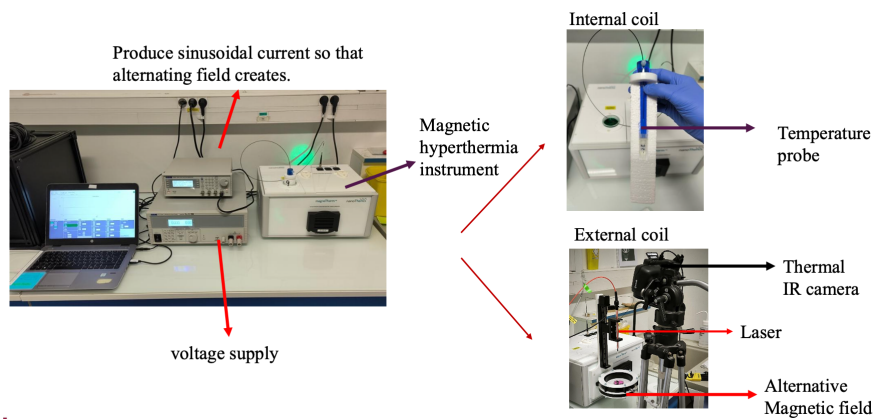


Figura 3.6: Montaje experimental de hipertermia magnética sobre tumores ex vivo (bobinas interna y externa). Imagen obtenida de [6].

En todos los casos, se realizaron medidas OCT desde ambos lados de la muestra tumoral para asegurar una caracterización más completa y precisa de la respuesta tisular frente a los distintos tratamientos.

3.2 Metodología

Las muestras (Fig. 3.4) se miden con el sistema OCT en las condiciones de fijado en las que se mantienen, sin necesidad de hacer ningún tipo de cortes o marcajes.

3.2.1 Configuración y captura de los volúmenes OCT

Antes de cada adquisición, se realizó el ajuste del sistema de imagen OCT con el objetivo de ubicar la muestra en la región superior del volumen escaneado. Esta configuración permite

minimizar el recorrido óptico de la luz en el tejido, lo que reduce los efectos de absorción y *scattering*, mejorando así la intensidad y definición de la señal adquirida.

Para llevar a cabo la adquisición de los datos se empleó el software *ThorImageOCT*, que ofrece control total sobre el escaneo y una visualización continuada de la muestra durante el proceso.

Configuración espacial y parámetros de escaneo

El software cuenta con herramientas como *Draw and Scan*, que permiten definir el trayecto de escaneo, ya sea como una línea (para escaneos 2D) o como un área completa (para escaneos 3D). Mediante la cámara integrada del sistema es posible visualizar la muestra durante la preparación, facilitando así una selección precisa de la región de interés. Además, el usuario puede modificar parámetros clave como la resolución espacial, el campo de visión, en inglés FOV (*FOV, Field Of View*) y la densidad de muestreo.

Las características técnicas de los escaneos realizados fueron las siguientes:

- Resolución: 761×761 píxeles en x e y (dimensiones espaciales superficiales) y 1024 píxeles en z (profundidad).
- Dimensiones físicas: $9 \text{ mm} \times 9 \text{ mm}$ (x, y), 3.58 mm en z (en aire).
- Tamaño de píxel: $13.01 \text{ }\mu\text{m}$ (x, y), $3.5 \text{ }\mu\text{m}$ (z , en aire).

Modos de escaneo disponibles

El sistema permite capturar información en distintos modos de adquisición, según el tipo de análisis requerido:

- **Modo 1D (A-scan):** Proporciona información espectral y axial en un único punto de la muestra.
- **Modo 2D (B-scan):** Escanea en una sola dirección siguiendo una línea sobre el tejido para obtener cortes transversales. Este modo permite aplicar promedios antes o después de la Transformada Rápida de Fourier (FFT), y ajustar parámetros de visualización como brillo, contraste y color.
- **Modo 3D (C-scan):** Realiza múltiples escaneos 2D para reconstruir un volumen tridimensional. Incluye una función de renderizado rápido que permite una previsualización del volumen en tiempo real.

3.2.2 Procesamiento de datos

En esta sección se detalla el procedimiento empleado para el filtrado y segmentación de los volúmenes de datos obtenidos con el sistema OCT. Tanto el preprocesamiento, como el análisis de los resultados, fueron desarrollados utilizando el lenguaje de programación Python, ejecutado en el entorno de desarrollo integrado PyCharm. Los datos fueron manejados en formato .h5 mediante la biblioteca h5py.

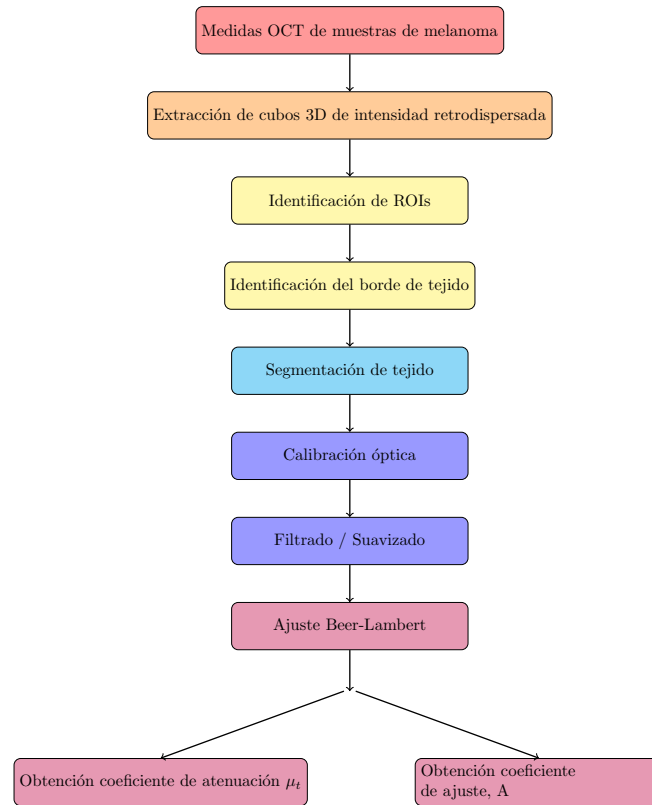


Figura 3.7: Esquema de la metodología aplicada para la elaboración del trabajo.

Visualización

Se realizaron representaciones tanto del A-scan como del B-scan de cada muestra para analizar cómo varía la intensidad óptica en función de la profundidad y la posición lateral.

Para extraer un B-scan, se selecciona una sección específica de la muestra biológica a lo largo de la dimensión y , que puede corresponder a la sección central ($y = \frac{N_y}{2}$) o a cualquier otra ubicación de interés, donde N_y representa el número total de píxeles en dicha dirección. Esta imagen bidimensional permite analizar la variación de la intensidad en función de la posición lateral x y la profundidad z (Fig. 3.8).

A partir del B-scan, también se obtuvo un perfil de intensidad (A-scan) en una posición fija, por ejemplo en $x = 100$, representando la intensidad en función de la profundidad en ese punto específico (Fig. 3.9).

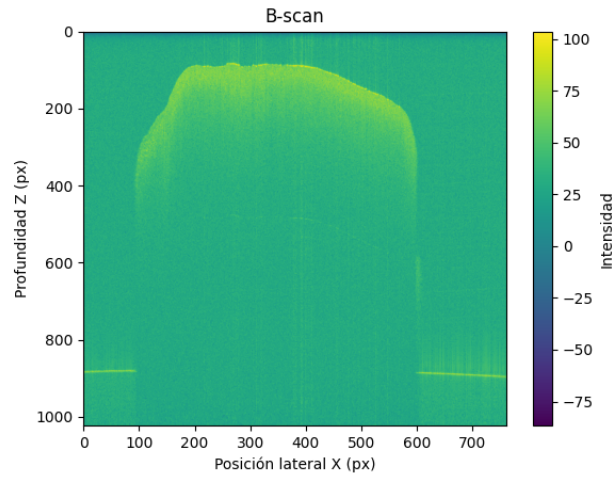


Figura 3.8: B-scan de la muestra en el centro del melanoma, $y = N_y/2$, mostrando la intensidad en función de la posición lateral x y profundidad z .

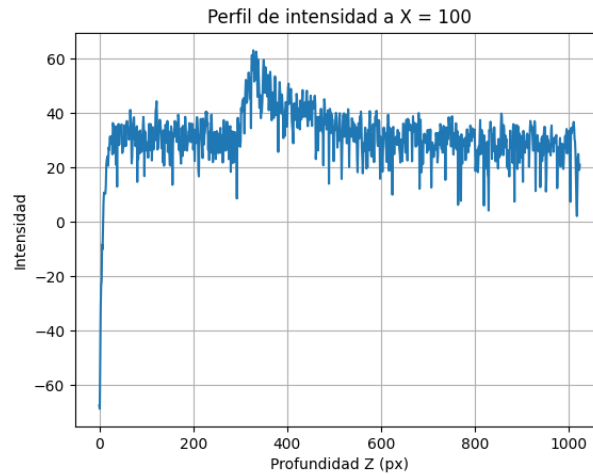


Figura 3.9: Perfil A-scan de intensidad a $x = 100$ en la sección central $y = N_y/2$, mostrando la variación de la intensidad en profundidad.

Al visualizar los A-scan y B-scan, se observó claramente la presencia del aire presente por encima del tejido en la zona superior de la superficie del cubo OCT, especialmente visible en la imagen del B-scan. En el A-scan en escala logarítmica, este fenómeno se refleja mediante un pico de intensidad alrededor del pixel 330. Este aumento brusco en la intensidad se debe a la reflexión de Fresnel producida por la diferencia en el índice de refracción entre el aire y la muestra. La presencia de aire se explica por la dificultad de colocar la muestra completamente plana sobre la superficie del cubo OCT, dado que normalmente la muestra presenta irregularidades. Estas zonas con aire se deben eliminar del análisis porque los modelos de propagación analizan la radiación al ingresar directamente a la muestra. Por ello, es necesario identificar con precisión el inicio de la superficie de la muestra y eliminar las regiones correspondientes al aire para obtener resultados

realistas.

3.2.3 Selección de regiones de interés (ROIs)

Las regiones de interés, en inglés ROIs (ROIs, *Regions Of Interest*) se delimitaron manualmente sobre los cubos OCT con el fin de restringir el análisis únicamente a la zona tumoral. De este modo, se evitó que las áreas externas al tumor, como grasa o restos epiteliales que podrían introducir ruido o sesgar los resultados, afectaran el procesamiento. Una vez definidas las ROIs, los pasos posteriores eliminación del aire, calibración, filtrado y ajuste del coeficiente de atenuación se aplicaron únicamente dentro de dichas regiones.

3.2.4 Segmentación de tejido

Alineamiento

Para alinear la superficie de la muestra en todos los cubos 3D adquiridos, se aplicó un procedimiento de aplanamiento individual sobre cada volumen. Este proceso consiste en localizar el punto de máxima intensidad en cada A-scan (perfil de intensidad en profundidad) y ajustar todos los datos del cubo a partir de esa posición.

En primer lugar, se recorre cada volumen tridimensional, compuesto por las dimensiones $x \times y \times z$, donde z corresponde al eje de profundidad. Para cada coordenada (x, y) , se extrae el A-scan correspondiente, es decir, el vector de intensidades a lo largo de z . A continuación, se emplea la función `argmax` de la librería NumPy, la cual permite identificar el índice z correspondiente al valor máximo de intensidad en ese A-scan. Esta posición representa la superficie de la muestra.

A partir de esta posición de máxima intensidad, se recorta el A-scan para conservar únicamente la información a partir de la superficie detectada. El resultado es almacenado en un nuevo cubo tridimensional, donde todos los A-scans han sido alineados de modo que la superficie de la muestra se encuentra en la misma posición en profundidad, z .

Este proceso permite eliminar el efecto de las irregularidades superficiales en la adquisición OCT, proporcionando así una base más uniforme para el análisis cuantitativo de los datos.

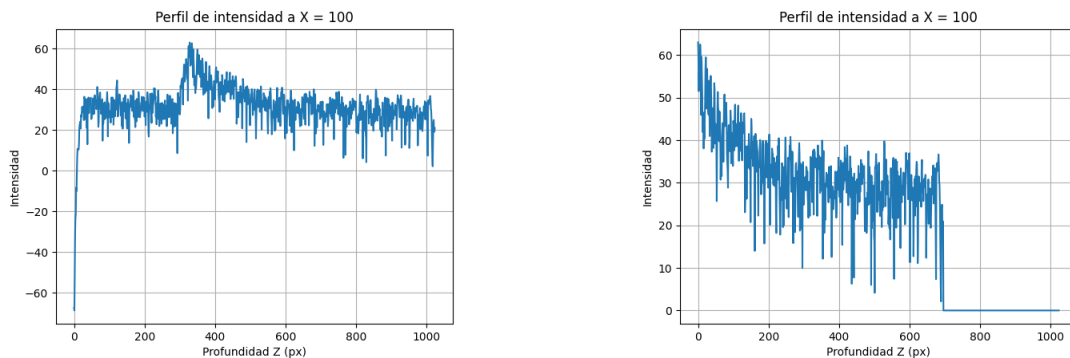


Figura 3.10: Comparación entre un A-scan sin aplanar (izquierda) y el mismo A-scan después del proceso de aplanamiento (derecha).

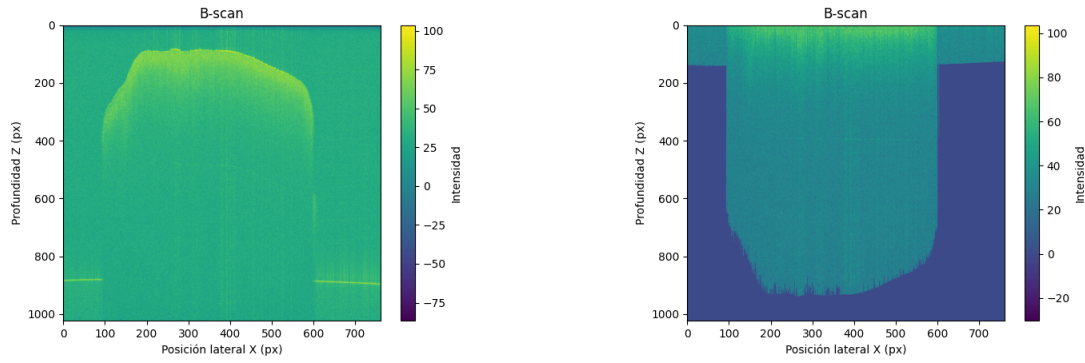


Figura 3.11: Comparación entre un B-scan sin aplanar (izquierda) y el mismo B-scan después del proceso de aplanamiento (derecha).

3.2.5 Calibración óptica

Con el objetivo de corregir las variaciones en la respuesta del sistema de adquisición, así y obtener valores de intensidad comparables entre distintas muestras, se aplicó un proceso de calibración utilizando un volumen OCT de referencia previamente medido sobre una muestra, también de referencia, con composición conocida que se denomina *phantom*.

Dicho volumen fue adquirido en las mismas condiciones que las muestras experimentales, convertido a unidades de milivatios y transformado mediante la aplicación del logaritmo natural. Para asegurar la validez del proceso, se consideraron únicamente los vóxeles con valores físicamente consistentes, descartando aquellos con intensidades no positivas.

Posteriormente, se procesaron los volúmenes de las muestras previamente aplanados. Las intensidades originales, expresadas en dBm, se transformaron a logaritmo natural utilizando la expresión que se muestra en la ecuación (3.1):

$$\ln(I) = \frac{\text{dBm}}{10} \cdot \ln(10) \quad (3.1)$$

Características del *phantom*:

El *phantom* utilizado consiste en microsferas monodispersas de poliestireno (Polybead Microspheres, modelo 07307-15) con un diámetro medio nominal de $0.50 \mu\text{m}$, empaquetadas en una suspensión acuosa al 2.5 % en peso/volumen (w/v) con mínima concentración de surfactante. Estas partículas tienen una densidad aproximada de 1.05 g/cm^3 y un coeficiente de variación (CV) del 3 %. La concentración de partículas es de aproximadamente 3.64×10^{11} partículas/ml.

El índice de refracción de las partículas es $n_p = 1.5657$ y el medio de suspensión tiene un índice de refracción $n_{med} = 1.3225$, ambos valores medidos a una longitud de onda de $1.3 \mu\text{m}$ [23].

3.2.6 Filtrado / Suavizado

Para mejorar la calidad de los datos y reducir el ruido presente en las señales, se aplicó un filtro de mediana sobre los volúmenes calibrados. Este tipo de filtro es especialmente útil para eliminar valores atípicos o impulsivos sin afectar significativamente los bordes ni la resolución espacial de la imagen.

El proceso consistió en filtrar cada A-scan dentro de la ROI, es decir, las señales unidimensionales a lo largo de la dimensión axial (profundidad). El filtro de mediana utiliza una ventana de tamaño definido para reemplazar cada valor por la mediana de los valores dentro de dicha ventana, suavizando así las variaciones abruptas causadas por ruido sin degradar la estructura subyacente de la señal. Se probaron diferentes tamaños de ventana y se concluyó que una ventana de tamaño 3 es la que mejor preserva la forma original de la muestra, equilibrando la reducción de ruido con la conservación de los detalles estructurales.

De esta manera, se obtiene un volumen suavizado que conserva la información relevante de la muestra, pero con menor presencia de artefactos, facilitando el análisis posterior y la estimación más precisa de parámetros ópticos.

3.2.7 Ajuste Beer-Lambert

3.2.8 Modelo de Beer-Lambert y ajuste lineal

Para extraer el coeficiente de atenuación óptica μ_t a partir de los volúmenes filtrados, se utilizó un modelo teórico de atenuación de la señal OCT. La intensidad de la señal medida en la muestra se puede expresar como

$$I_s(z) = I_s(0) e^{-2\mu_t z}, \quad (3.2)$$

donde $I_s(z)$ es la intensidad medida a la profundidad z , $I_s(0)$ es la intensidad inicial medida en la superficie de la muestra, y μ_t es la incógnita, es decir, el coeficiente de atenuación que se desea estimar. De manera similar, para el *phantom* de calibración, cuya atenuación μ_{t0} es conocida, la intensidad se describe como

$$I_p(z) = I_p(0) e^{-2\mu_{t0} z}, \quad (3.3)$$

donde $I_p(z)$ y $I_p(0)$ son valores medidos en profundidad y en la superficie del *phantom*, respectivamente.

Para eliminar artefactos sistemáticos y dependencias de la reflectividad inicial, se divide la intensidad de la muestra por la del *phantom*, obteniéndose

$$\frac{I_s(z)}{I_p(z)} = \frac{I_s(0)}{I_p(0)} e^{-2z(\mu_t - \mu_{t0})}. \quad (3.4)$$

Aquí, las cantidades $I_s(z)$, $I_s(0)$, $I_p(z)$ y $I_p(0)$ son datos medidos, mientras que μ_t sigue siendo la incógnita.

Aplicando el logaritmo natural para linealizar la ecuación, se obtiene

$$\ln \left(\frac{I_s(z)}{I_p(z)} \right) = \ln \left(\frac{I_s(0)}{I_p(0)} \right) - 2z(\mu_t - \mu_{t0}), \quad (3.5)$$

y finalmente se incorpora un factor de proporcionalidad A para modelar posibles variaciones adicionales en la reflectividad inicial, dando lugar a la ecuación utilizada para el ajuste lineal:

$$\ln \left(\frac{I_s(z)}{I_p(z)} \right) = A + \ln \left(\frac{I_s(0)}{I_p(0)} \right) - 2z(\mu_t - \mu_{t0}). \quad (3.6)$$

De este modo, a partir de los datos medidos dentro de la ROI de cada cubo OCT, se puede estimar la incógnita μ_t mediante un ajuste lineal.

Para cada A-scan dentro de la ROI, se realizó una regresión lineal de mínimos cuadrados entre la profundidad y el logaritmo de la intensidad calibrada. La pendiente de esta regresión (m) permitió calcular localmente el valor de μ_t mediante la relación

$$\mu_t = \mu_{t0} - \frac{m}{2}, \quad (3.7)$$

mientras que la ordenada al origen (b) correspondió al parámetro A .

Para implementar el ajuste descrito, se utilizó un procedimiento de regresión lineal basado en la función `numpy.linalg.lstsq`. Dado que la ecuación de atenuación se encuentra en su forma linealizada,

$$\ln \left(\frac{I_s(z)}{I_p(z)} \right) = A + \ln \left(\frac{I_s(0)}{I_p(0)} \right) - 2z(\mu_t - \mu_{t0}), \quad (3.8)$$

la relación entre $\ln(I_s(z)/I_p(z))$ y la profundidad z se puede expresar como una recta de la forma

$$y = mz + b, \quad (3.9)$$

donde $y = \ln(I_s(z)/I_p(z))$, la pendiente es $m = -2(\mu_t - \mu_{t0})$, y la ordenada al origen es $b = A + \ln(I_s(0)/I_p(0))$.

Con esta formulación, el problema se reduce a calcular la pendiente y la ordenada al origen mediante un ajuste lineal de mínimos cuadrados. Para cada píxel (x, y) dentro de la ROI, se resolvió un sistema con más ecuaciones que incógnitas, obteniendo la mejor aproximación posible.

$$M\theta \approx y, \quad (3.10)$$

donde M es la matriz de diseño que contiene la variable z y una columna de unos, $\theta = (m, b)$ son los parámetros a estimar, y y es el vector de intensidades logarítmicas. La función `numpy.linalg.lstsq`, que forma parte de la biblioteca NumPy en Python, devuelve los valores óptimos de m y b .

De esta manera, con los valores estimados de μ_t y A en cada punto del tejido, se generaron mapas bidimensionales que describen espacialmente sus propiedades ópticas. Estos mapas constituyen la base para análisis cuantitativos y visualizaciones posteriores.

Capítulo 4

Análisis de los resultados

En este capítulo se analizan y comparan los resultados obtenidos tras aplicar la metodología descrita en el capítulo anterior sobre las distintas medidas procesadas.

4.1 Resultados

4.1.1 Alineamiento y eliminación del aire

El procedimiento de aplanamiento aplicado sobre los volúmenes permitió uniformar la posición de la superficie de la muestra a lo largo de todos los A-scans. De esta manera, las irregularidades debidas a la topografía superficial quedaron compensadas, lo que facilita la comparación entre distintos volúmenes y la interpretación posterior de los parámetros ópticos.

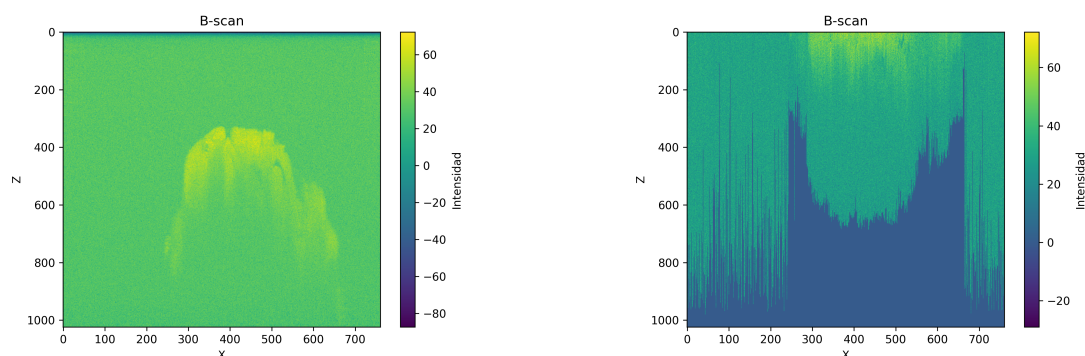


Figura 4.1: Comparación entre un B-scan original (izquierda) y el mismo B-scan tras el proceso de aplanamiento (derecha).

Este resultado confirma que el preprocesamiento inicial elimina los efectos de la irregularidad superficial, generando una base más robusta para la calibración y análisis cuantitativo de los volúmenes.

4.1.2 Calibración óptica

La aplicación del *phantom* de referencia permitió corregir las variaciones de la óptica del sistema y normalizar las intensidades entre volúmenes. Como resultado, los valores obtenidos reflejan de manera más confiable las propiedades ópticas de la muestra y no las fluctuaciones propias del sistema.

En la (Fig. 4.2) se muestra un B-scan representativo antes y después de la calibración. Se observa que la señal corregida presenta un contraste más uniforme, especialmente en las zonas profundas, lo que mejora la comparabilidad entre regiones de la muestra.

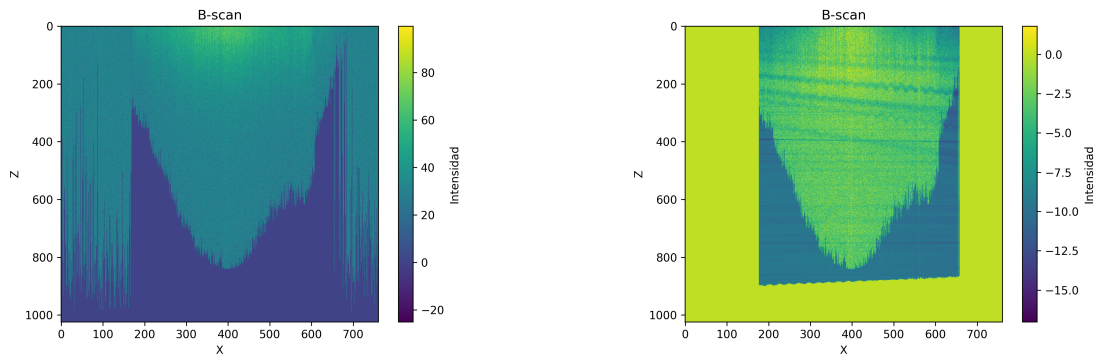


Figura 4.2: Ejemplo de un B-scan sin calibrar (izquierda) y el mismo B-scan tras la calibración con el phantom (derecha).

En conjunto, los resultados muestran que la calibración con el *phantom* logra reducir la influencia del sistema de adquisición, permitiendo que las comparaciones entre volúmenes se centren en las diferencias reales de las muestras.

4.1.3 Filtrado / Suavizado

El filtrado aplicado sobre los volúmenes calibrados permitió reducir el ruido impulsivo presente en los A-scans sin degradar la resolución espacial. Este efecto se aprecia especialmente en las regiones profundas de la muestra, donde la señal original presentaba valores espurios que dificultaban la interpretación.

En la (Fig. 4.3) se presenta un ejemplo representativo de un B-scan antes y después del filtrado. Puede observarse que, tras la aplicación del filtro de mediana, la señal aparece más homogénea y continua, manteniendo la definición de los bordes y mejorando la legibilidad de las estructuras.

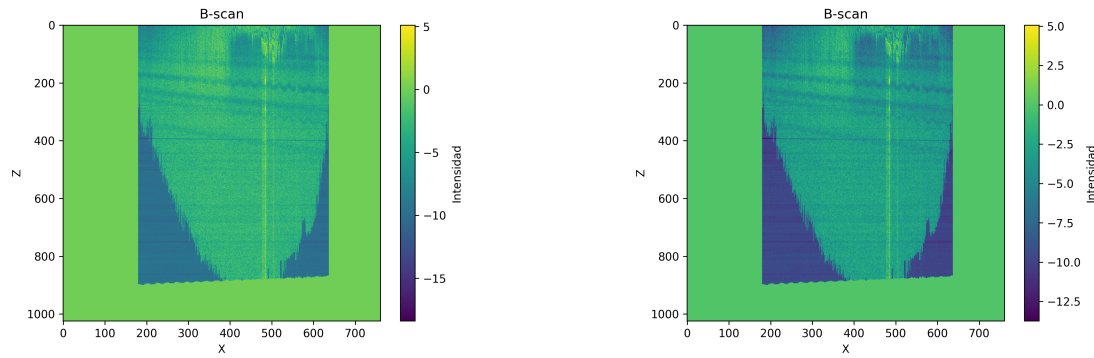


Figura 4.3: Ejemplo de un B-scan sin filtrar (izquierda) y el mismo B-scan tras la aplicación del filtro de mediana (derecha). El filtrado reduce el ruido preservando los bordes y la información estructural.

El resultado es un volumen más uniforme y robusto para la estimación del coeficiente de atenuación, ya que las variaciones abruptas debidas al ruido quedan eliminadas y las señales mantienen su coherencia interna.

4.1.4 Estimación del coeficiente de atenuación

A partir de los volúmenes ya preprocesados se estimaron los parámetros del modelo teórico mediante regresión lineal: el coeficiente de atenuación óptica μ_t y el factor de proporcionalidad A , asociado a la reflectividad inicial de la muestra. Ambos parámetros se calcularon de manera local para cada A-scan dentro de la ROI, generando así mapas bidimensionales que describen su distribución espacial.

Mapas de μ_t

En las (Fig. 4.4–4.16) se muestran los mapas obtenidos para μ_t en distintas categorías de nanopartículas. Cada categoría corresponde a un tipo diferente de nanopartícula, y cada subfigura representa una muestra específica. Se observa heterogeneidad espacial en los valores de μ_t , con regiones más densas ópticamente presentando mayores valores, mientras que zonas más homogéneas muestran valores más bajos y uniformes.

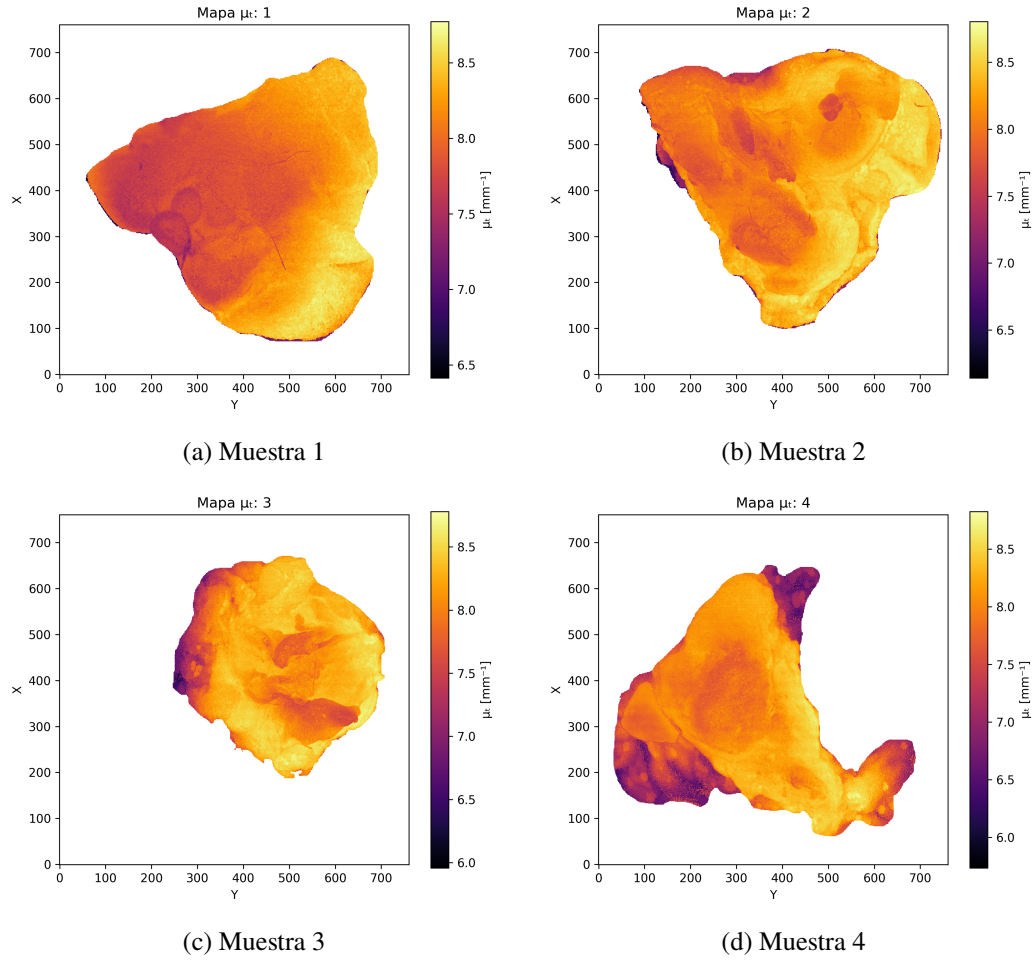
Control sin hipertermia magnética:

Figura 4.4: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las primeras cuatro muestras de control sin hipertermia magnética.

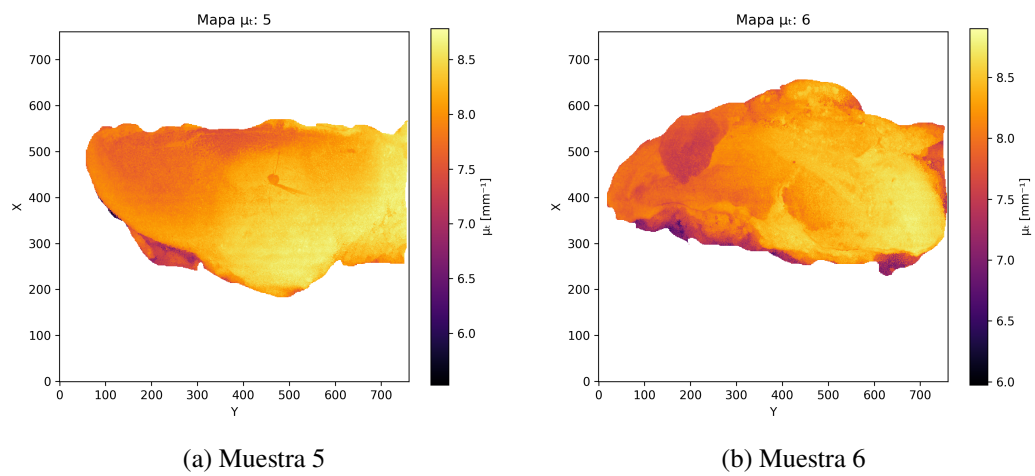
Control con hipertermia magnética:

Figura 4.5: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t de control con hipertermia magnética.

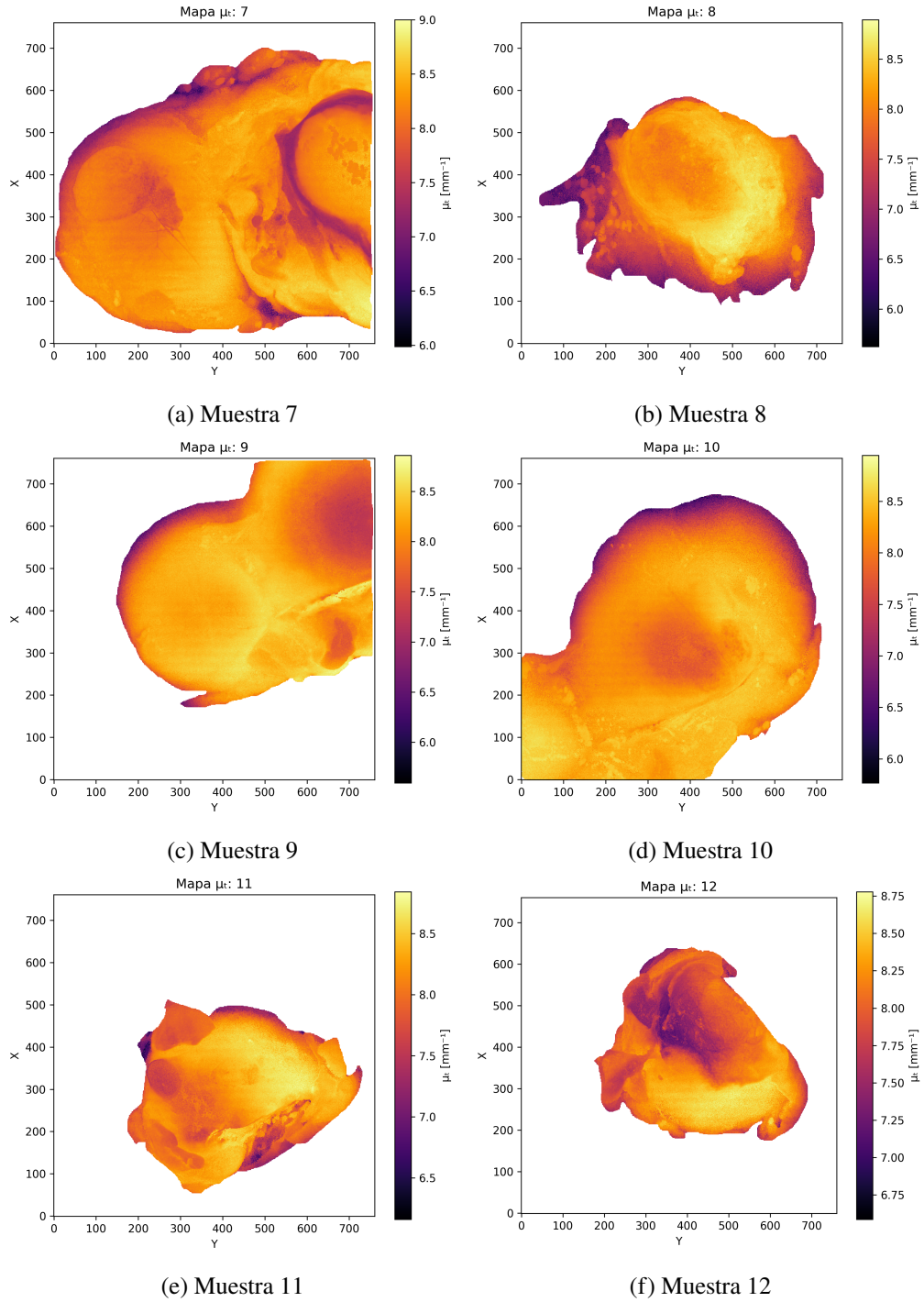
GIONF sin hipertermia magnética:

Figura 4.6: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF sin hipertermia.

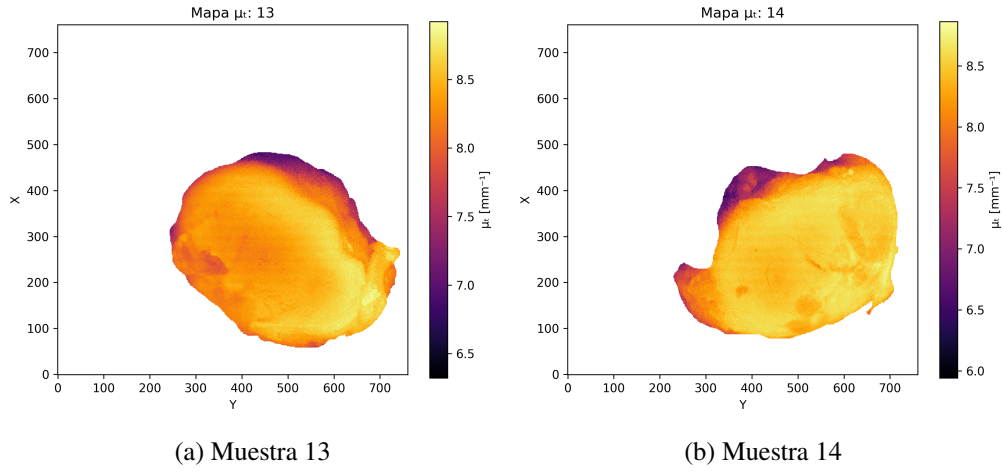
GIONF sin hipotermia magnética:

Figura 4.7: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF sin hipotermia.

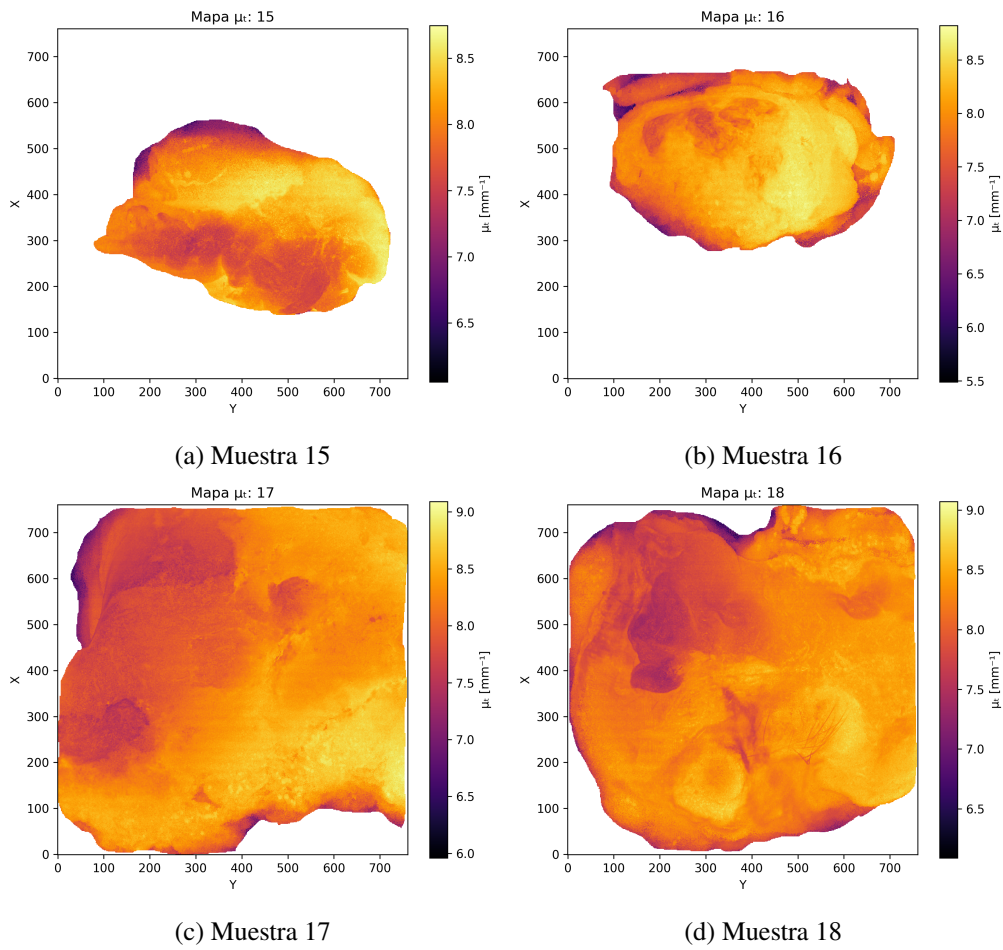
GIONF con hipotermia magnética:

Figura 4.8: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF con hipotermia (MH).

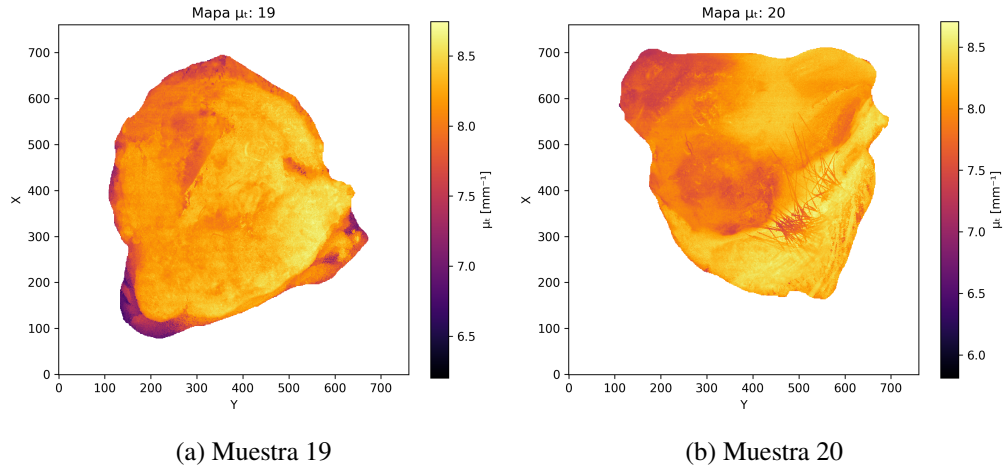
GIONF con hipertermia magnética:

Figura 4.9: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para las muestras GIONF con hipertermia (MH).

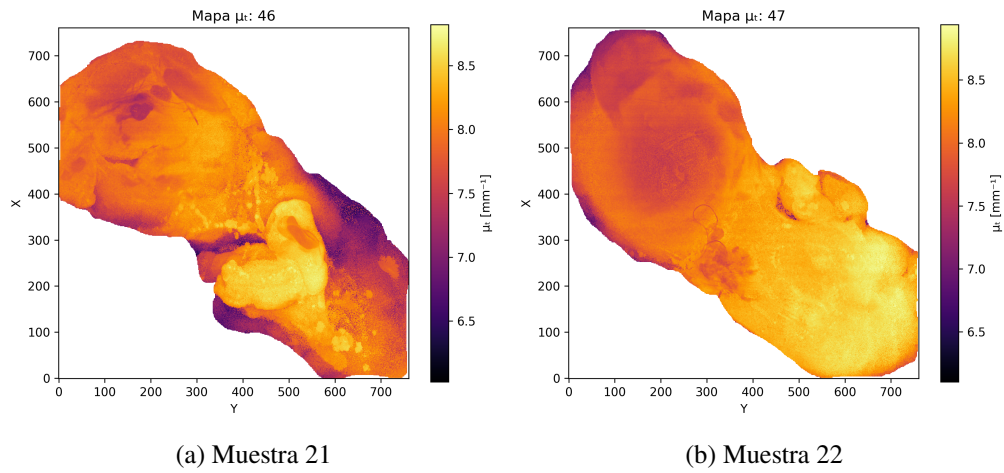
GIONF con hipertermia magnética, bobina interna:

Figura 4.10: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de GIONF con hipertermia, bobina interna.

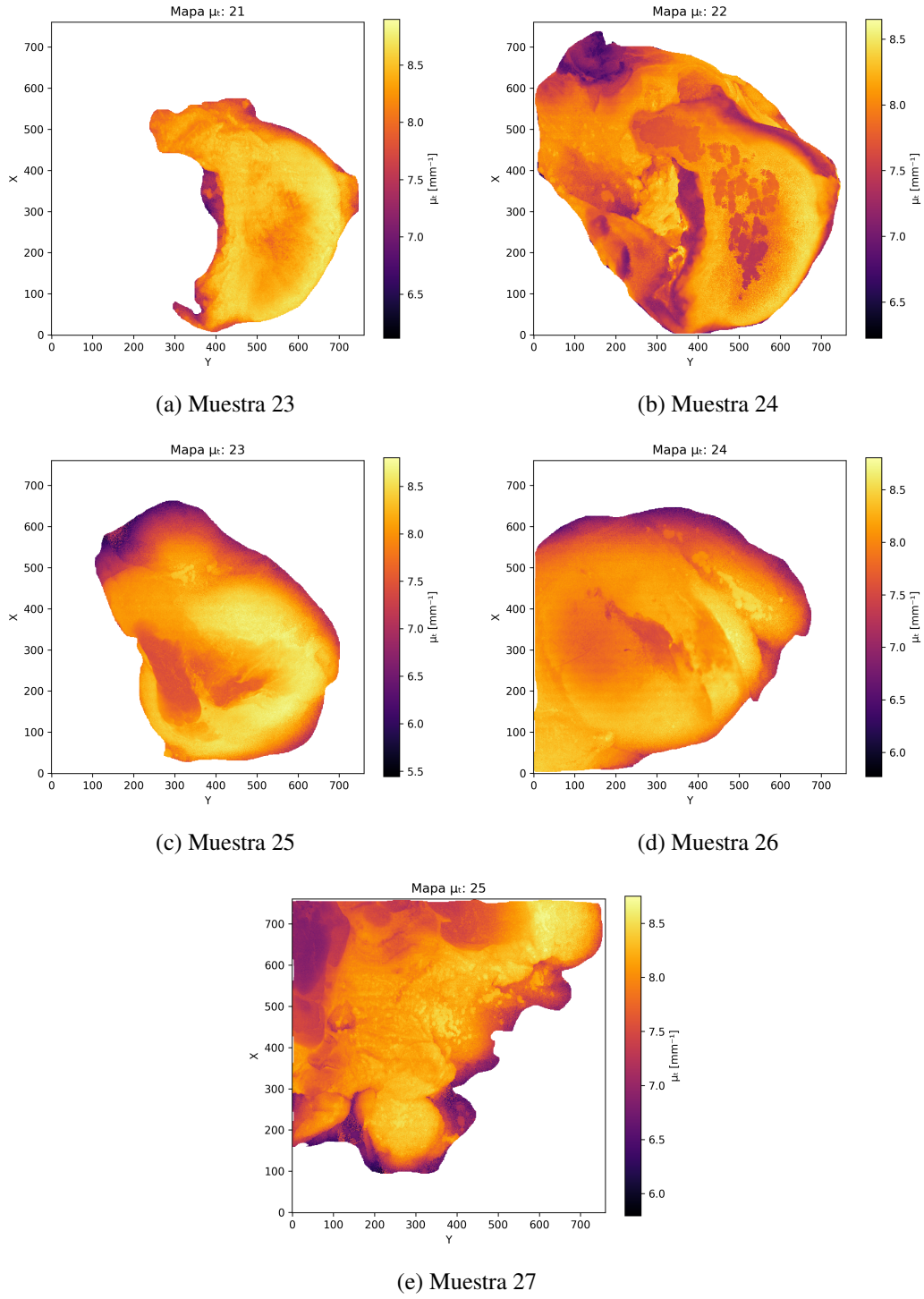
IC84 sin hipertermia magnética:

Figura 4.11: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC84 sin hipertermia.

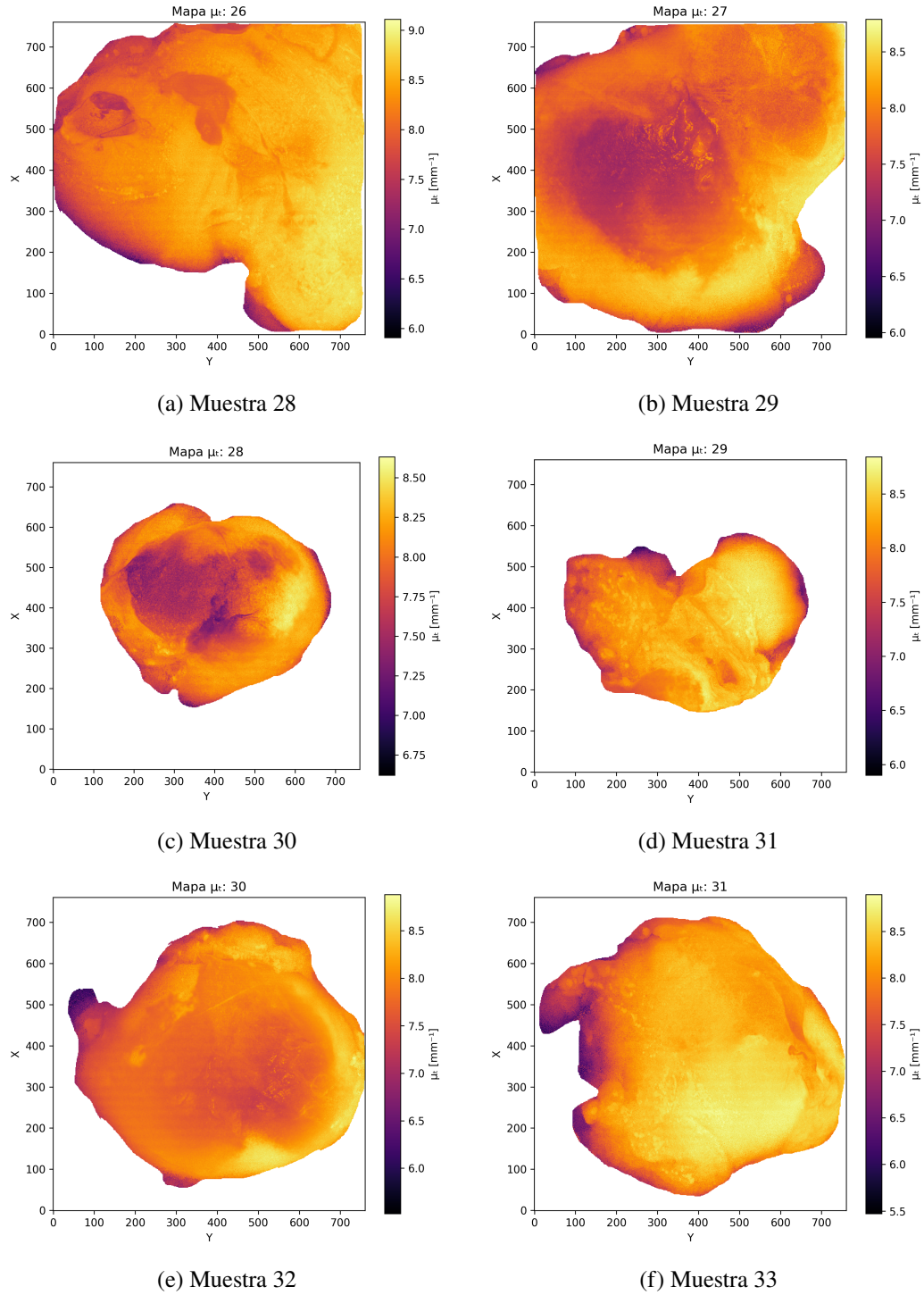
IC84 con hipertermia magnética:

Figura 4.12: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC84 con hipertermia (MH).

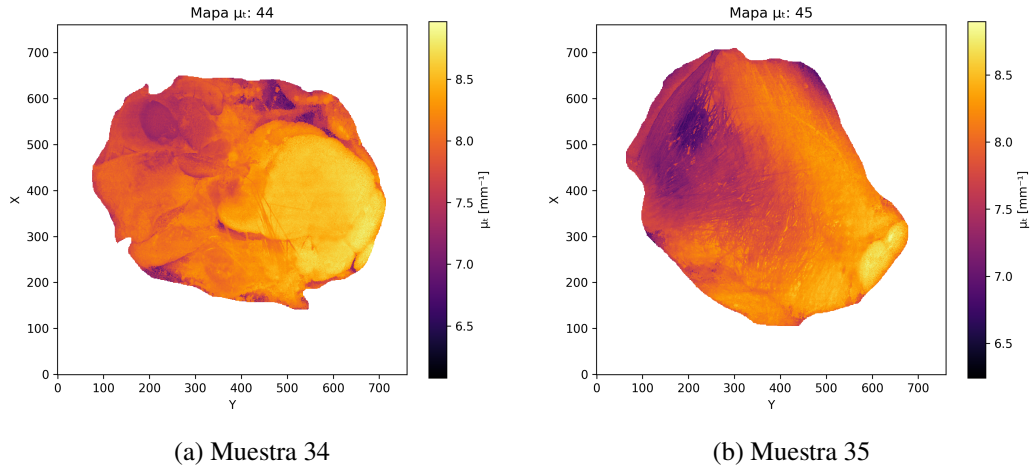
IC84 con hipertermia magnética, bobina interna:

Figura 4.13: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC84 con hipertermia, bobina interna.

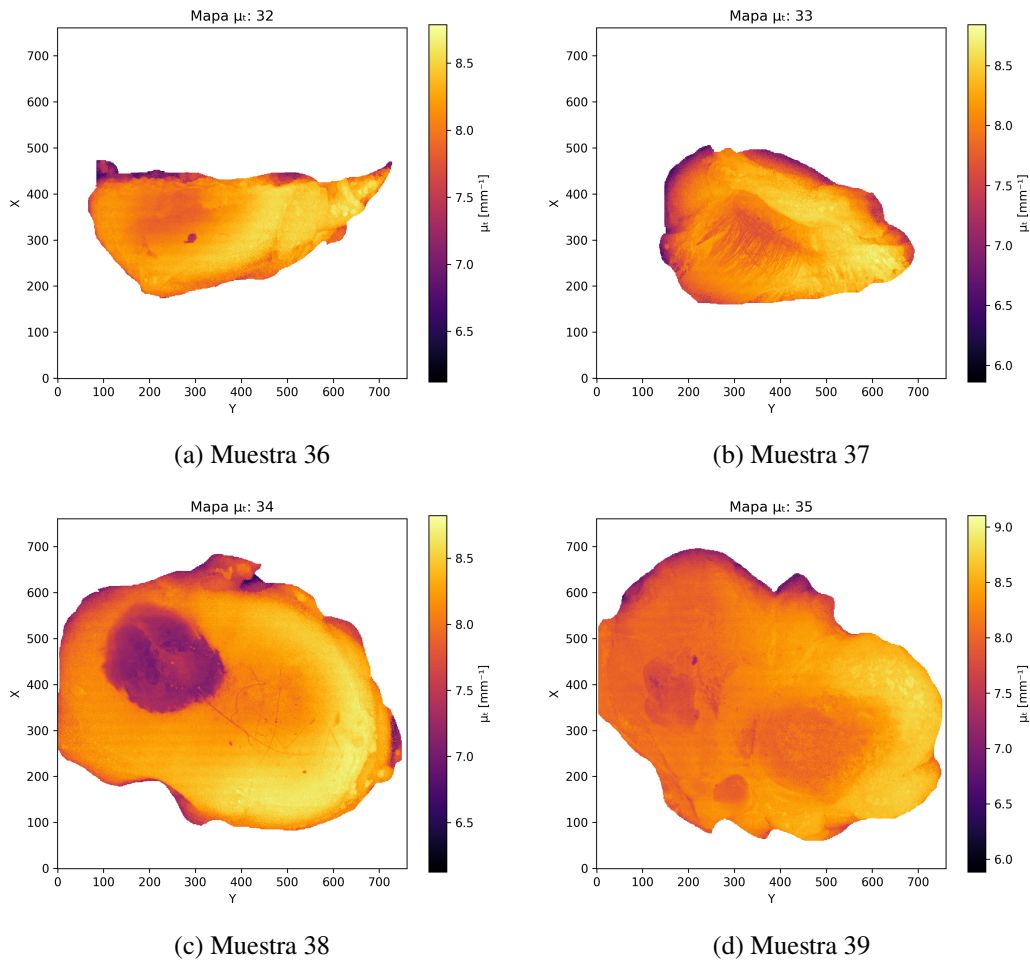
IC109 sin hipertermia magnética:

Figura 4.14: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC109 sin hipertermia.

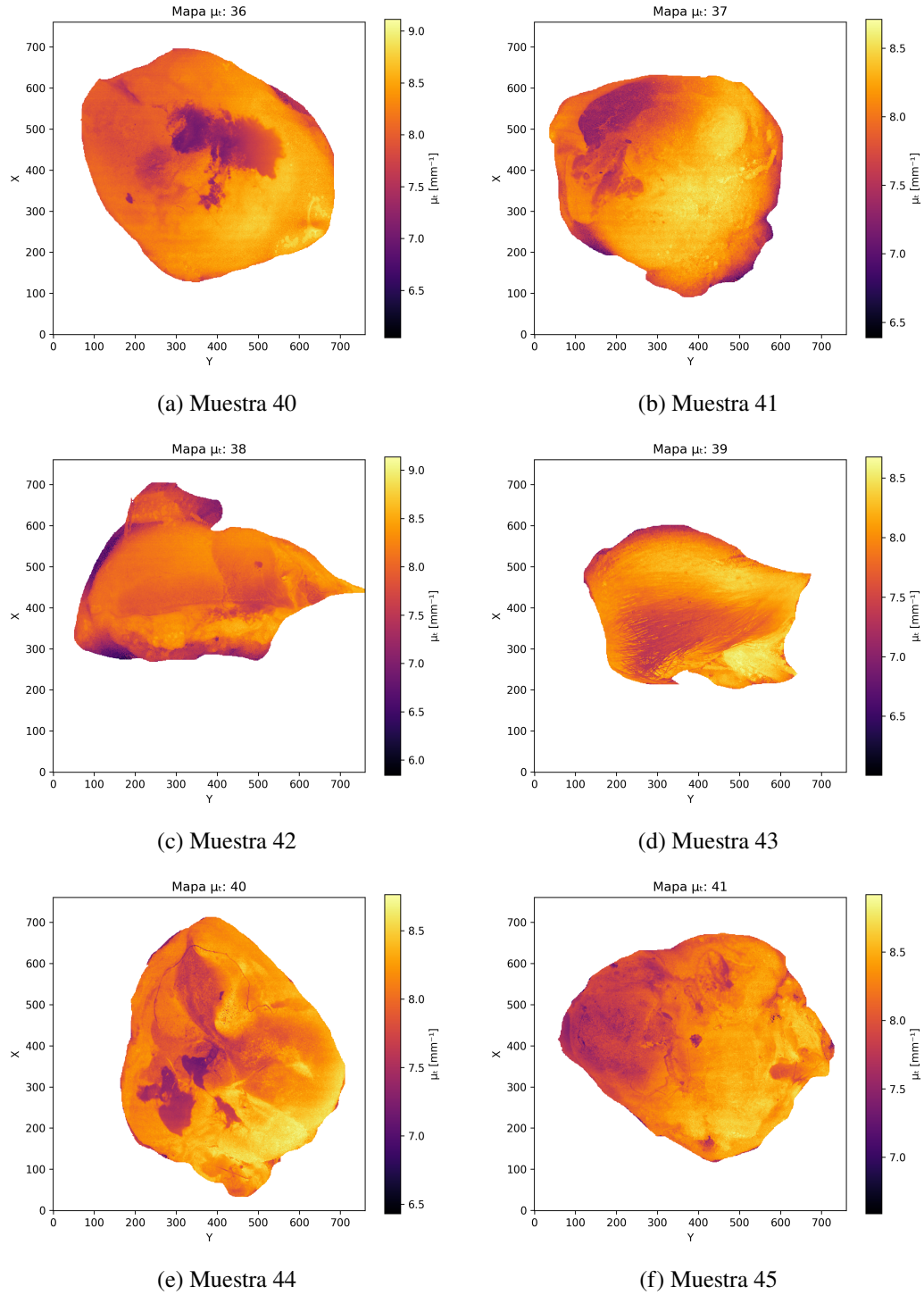
IC109 con hipertermia magnética:

Figura 4.15: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC109 con hipertermia (MH).

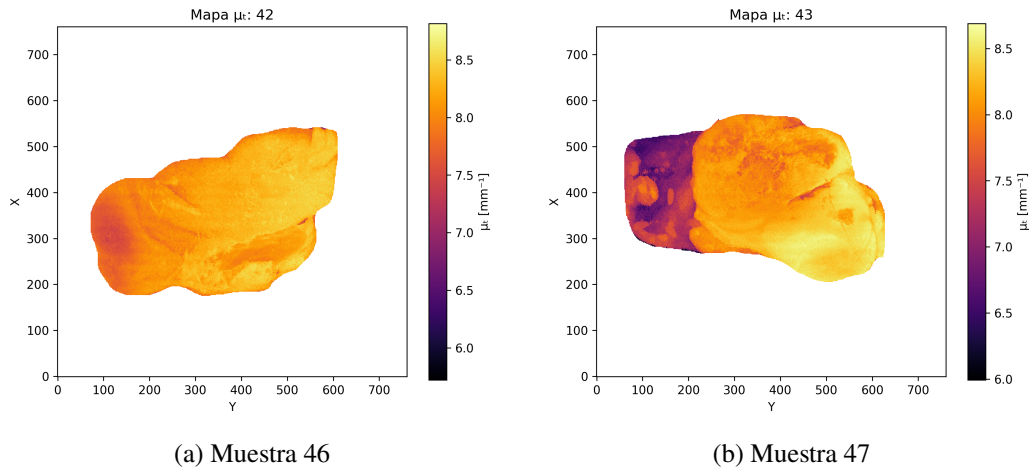
IC109 con hipertermia magnética, bobina interna:

Figura 4.16: Mapas bidimensionales del coeficiente de atenuación μ_t para muestras de IC109 con hipertermia, bobina interna.

Los valores promedio de μ_t , la mediana y el rango intercuantíl, en inglés IQR (IQR, *Inter-Quartile Range*), la dispersión de los valores centrales sin verse afectado por extremos, se resumen en las siguientes tablas y se representan gráficamente mediante boxplots. El gráfico boxplot es una caja que muestra la mediana de la magnitud representada (en este caso el coeficiente de atenuación μ_t) con una raya horizontal roja. Por otro lado, el grosor del boxplot representa gráficamente el IQR, es decir, la variación que tiene la magnitud representada entre el percentil 25 % y el 75 % de su función de distribución de probabilidad.

Muestras tumorales de control, sin inyección de nanopartículas:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
1	Control sin MH	8.06	8.03	0.51
2	Control sin MH	8.17	8.18	0.42
3	Control sin MH	8.13	8.23	0.40
4	Control sin MH	7.88	7.99	0.52
5	Control con MH	8.13	8.18	0.57
6	Control con MH	8.19	8.26	0.52

Tabla 4.1: Media, mediana e IQR de μ_t en muestras de **Control**.

Los valores promedio de μ_t en las muestras de control, tanto con como sin MH, se sitúan dentro del rango típico para tejidos blandos, entre 7 mm^{-1} y 9 mm^{-1} , concentrándose la mayoría de los datos alrededor de 8.2 mm^{-1} , lo cual concuerda con los valores de atenuación observados en estudios previos [31].

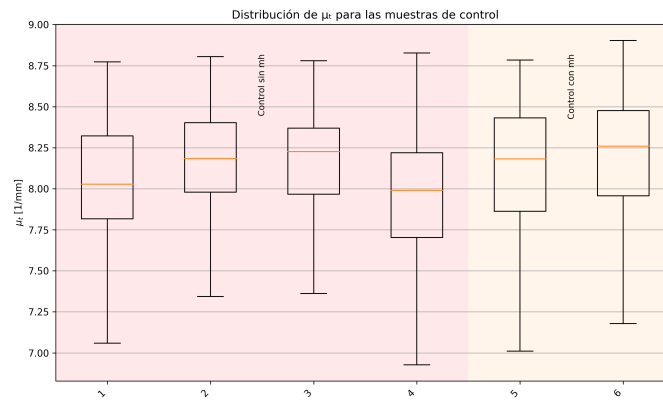


Figura 4.17: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control: (fondo rosa) muestras de control sin MH; (fondo naranja) muestras de control con MH.

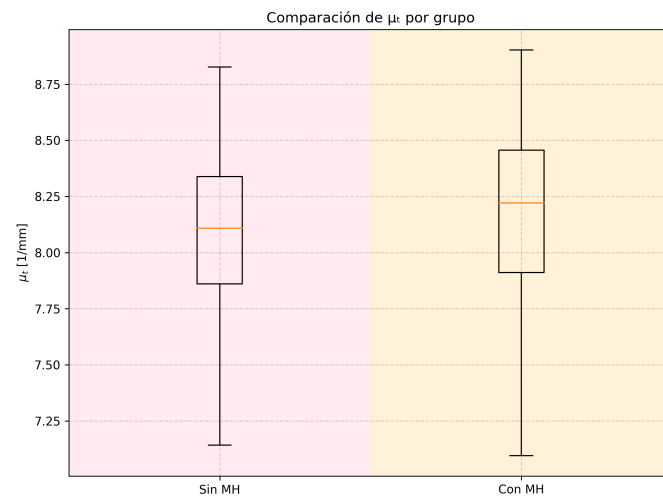
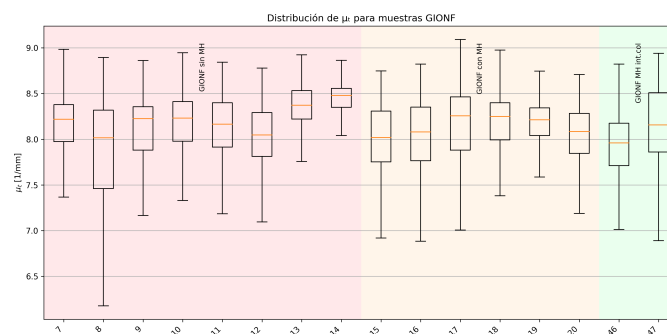


Figura 4.18: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control agrupadas: (fondo rosa) muestras de control sin MH; (fondo naranja) muestras de control con MH.

A la vista de la (Fig. 4.18), parece que cuando se observan las muestras de forma global, el tratamiento de MH aumenta el valor del coeficiente de atenuación.

Muestras tumorales con nanopartículas GIONF:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
7	Gionf sin MH	8.13	8.22	0.40
8	Gionf sin MH	7.87	8.02	0.86
9	Gionf sin MH	8.09	8.22	0.48
10	Gionf sin MH	8.13	8.23	0.43
11	Gionf sin MH	8.13	8.16	0.49
12	Gionf sin MH	8.03	8.05	0.48
13	Gionf sin MH	8.33	8.37	0.31
14	Gionf sin MH	8.35	8.48	0.21
15	Gionf con MH	8.01	8.02	0.56
16	Gionf con MH	8.01	8.08	0.59
17	Gionf con MH	8.18	8.26	0.58
18	Gionf con MH	8.18	8.25	0.41
19	Gionf con MH	8.16	8.21	0.30
20	Gionf con MH	8.05	8.08	0.44
46	Gionf MH int.col	7.90	7.96	0.46
47	Gionf MH int.col	8.17	8.16	0.65

Tabla 4.2: Media, mediana e IQR de μ_t en muestras de **GIONF**.Figura 4.19: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas GIONF: (fondo rosa) GIONF sin MH; (fondo naranja) GIONF con MH externa; (fondo verde) GIONF con MH interna.

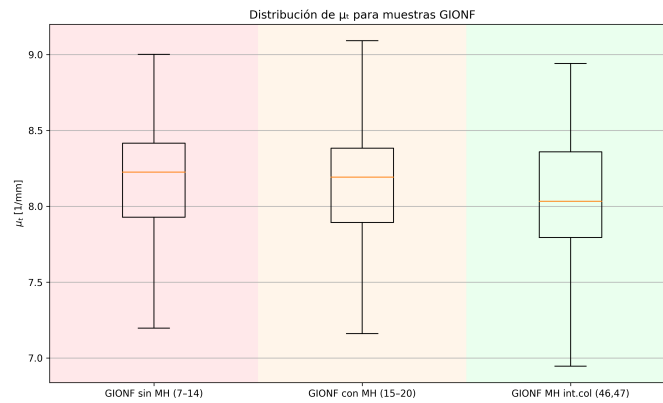


Figura 4.20: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas GIONF agrupadas: (fondo rosa) GIONF sin MH; (fondo naranja) GIONF con MH externa; (fondo verde) GIONF con MH interna.

Según la (Fig. 4.20), se observa que los tratamientos de MH también reducen ligeramente el coeficiente de atenuación en muestras con nanopartículas GIONF, siendo algo mayor la reducción cuando se aplica MH con bobina interna.

Muestras tumorales con nanopartículas IC84:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
21	IC84 sin MH	8.33	8.42	0.34
22	IC84 sin MH	7.87	7.92	0.45
23	IC84 sin MH	7.95	8.06	0.72
24	IC84 sin MH	8.00	8.07	0.43
25	IC84 sin MH	7.83	7.95	0.63
26	IC84 con MH	8.34	8.42	0.51
27	IC84 con MH	7.87	7.87	0.52
28	IC84 con MH	7.93	7.97	0.44
29	IC84 con MH	8.14	8.22	0.46
30	IC84 con MH	7.84	7.81	0.39
31	IC84 con MH	8.15	8.28	0.48

Tabla 4.3: Media, mediana e IQR de μ_t en muestras de **IC84**.

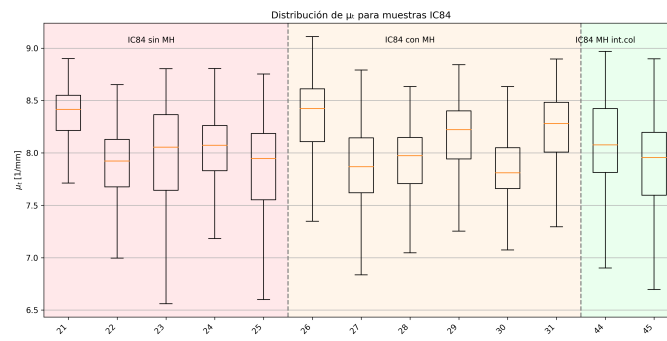


Figura 4.21: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC84: (fondo rosa) IC84 sin MH; (fondo naranja) IC84 con MH externa; (fondo verde) IC84 con MH interna.

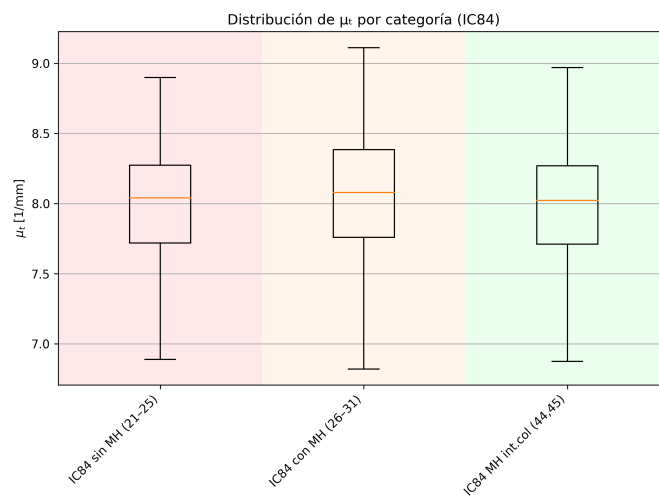
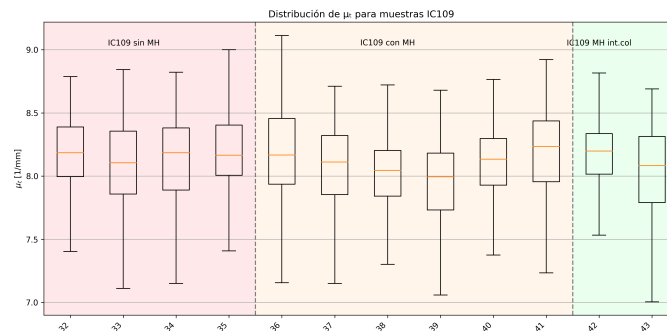


Figura 4.22: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC84 agrupadas: (fondo rosa) IC84 sin MH; (fondo naranja) IC84 con MH externa; (fondo verde) IC84 con MH interna.

La (Fig. 4.22) muestra que los tratamientos de MH también producen una ligera disminución del coeficiente de atenuación en muestras con nanopartículas IC84, siendo esta reducción algo más pronunciada cuando se aplica MH con bobina interna.

Muestras tumorales con nanopartículas IC109:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
32	IC109 sin MH	8.15	8.19	0.39
33	IC109 sin MH	8.06	8.11	0.50
34	IC109 sin MH	8.08	8.18	0.49
35	IC109 sin MH	8.19	8.17	0.40
36	IC109 con MH	8.15	8.17	0.52
37	IC109 con MH	8.06	8.11	0.47
38	IC109 con MH	7.97	8.05	0.36
39	IC109 con MH	7.95	7.99	0.45
40	IC109 con MH	8.10	8.13	0.37
41	IC109 con MH	8.19	8.23	0.48
42	IC109 MH int.col	8.16	8.20	0.32
43	IC109 MH int.col	7.95	8.08	0.52

Tabla 4.4: Media, mediana e IQR de μ_t en muestras de **IC109**.Figura 4.23: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC109: (fondo rosa) IC109 sin MH; (fondo naranja) IC109 con MH externa; (fondo verde) IC109 con MH interna.

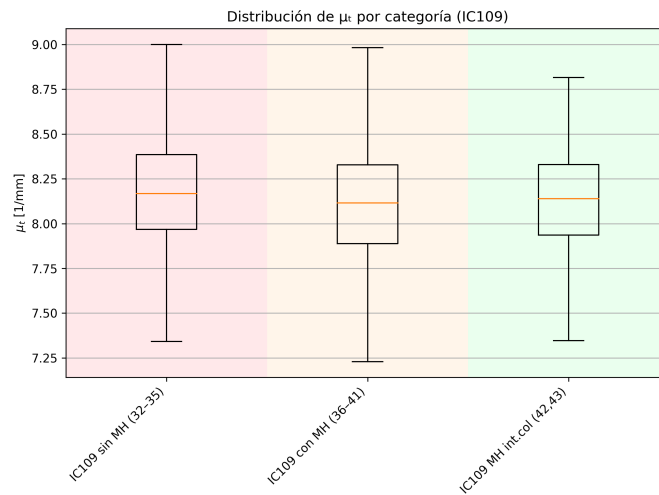


Figura 4.24: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras con nanopartículas IC109 agrupadas: (fondo rosa) IC109 sin MH; (fondo naranja) IC109 con MH externa; (fondo verde) IC109 con MH interna.

La (Fig. 4.24) muestra que los tratamientos de MH también producen una ligera disminución del coeficiente de atenuación en muestras con nanopartículas IC109, siendo esta reducción algo más pronunciada cuando se aplica MH con bobina externa.

Como resumen de todas las muestras, se construyó un boxplot que compara el coeficiente de atenuación μ_t en los diferentes grupos de estudio (Control, GIONF, IC84, IC109) con y sin aplicación de MH. Este gráfico permite visualizar de manera rápida las medianas, rangos intercuartílicos y posibles valores atípicos de cada grupo.

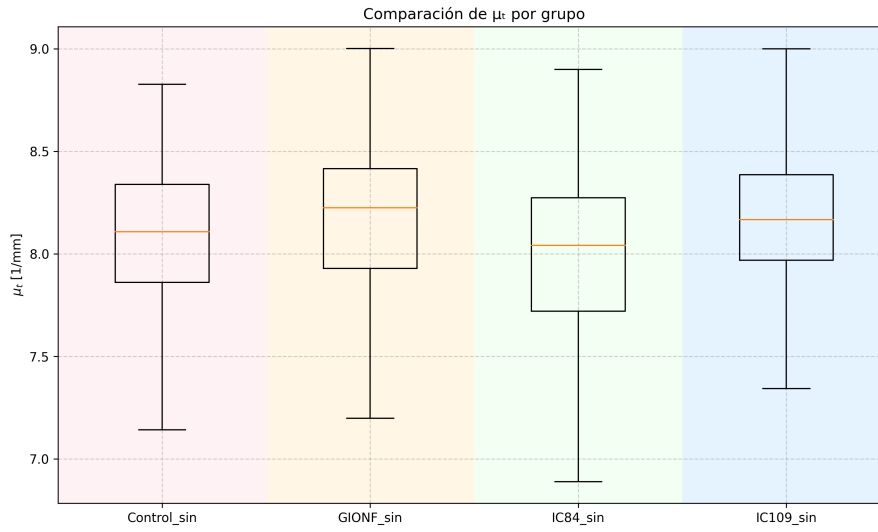
Muestras tumorales de control y con nanopartículas GIONF, IC84 e IC109 sin MH:

Figura 4.25: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control y con nanopartículas GIONF, IC84 e IC109 agrupadas sin MH: (fondo rosa) Control sin MH; (fondo naranja) GIONF sin MH; (fondo verde) IC84 sin MH; (fondo azul) IC109 sin MH

Grupo	Mediana μ_t [1/mm]
Control_sin	8.108125
GIONF_sin	8.224659
IC84_sin	8.040994
IC109_sin	8.167329

Tabla 4.5: Medianas del coeficiente de atenuación (μ_t) para los diferentes grupos de muestras tumorales sin aplicación de MH.

Muestras tumorales de control y con nanopartículas GIONF, IC84 e IC109 con MH:

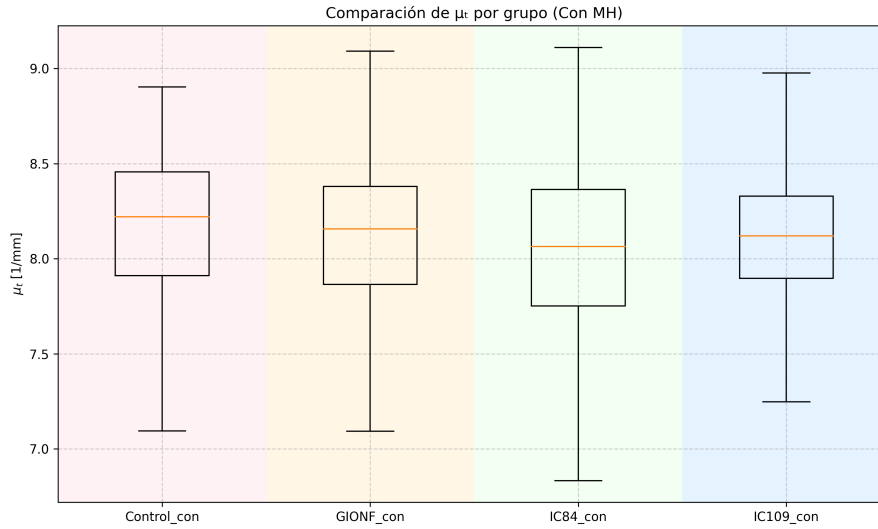


Figura 4.26: Coeficiente de atenuación μ_t en muestras de control y con nanopartículas GIONF, IC84 e IC109 agrupadas con MH: (fondo rosa) Control con MH; (fondo naranja) GIONF con MH; (fondo verde) IC84 con MH; (fondo azul) IC109 con MH.

Grupo	Mediana μ_t [1/mm]
Control_con	8.220309
GIONF_con	8.156276
IC84_con	8.064140
IC109_con	8.119848

Tabla 4.6: Medianas del coeficiente de atenuación (μ_t) para los diferentes grupos de muestras tumorales con aplicación de MH.

Se analizaron los valores de μ_t obtenidos en las distintas categorías de muestras: Control, GIONF, IC84 e IC109, considerando la presencia o ausencia de tratamiento con MH. Además de las conclusiones previas, a partir de los datos de media, mediana e IQR se pueden extraer las siguientes observaciones adicionales:

- **Efecto de MH sobre la dispersión:** Se observa que la aplicación de MH también reduce la dispersión (IQR), homogenizando los valores de μ_t dentro de cada muestra. Este efecto es más notable en las categorías GIONF e IC84.
- **Discusión general:** A la vista de todos los resultados, la aplicación de MH provoca una ligera disminución en los valores de μ_t en las muestras con nanopartículas magnéticas y depende del tipo de nanopartícula magnética: en GIONF cae un 0.85 %; en IC109 cae un 1.3 % y en IC84 cae 1.9 %. Aunque estos valores son pequeños, la tendencia se ve en todas las pruebas realizadas. Además, hay que tener en cuenta que esto sucede en condiciones experimentales

inciertas debido a que cada ratón es diferente, a que el proceso de crecimiento tumoral puede tener variaciones, a que la distribución de las nanopartículas magnéticas en el tejido puede que no sea uniforme, a que la radiación magnética puede que no sea omnidireccional y a que estamos incluyendo todas las zonas del tumor en el análisis estadístico del coeficiente de atenuación del tejido. Sin embargo, y aún estando bajo las condiciones indicadas, todo parece indicar que el estimar el valor de atenuación óptica a partir de imágenes OCT permite evaluar si el tratamiento de MH con nanopartículas magnéticas está modificando la estructura del tejido, que es su función principal. Por otro lado, se comprueba que la aplicación de MH mejora la homogeneidad de los valores (IQR), especialmente en las muestras con mayor dispersión inicial. La alta variabilidad observada en el coeficiente de atenuación se explica por el hecho de que cada muestra procede de un individuo diferente y porque la ROI contempla toda la muestra tumoral, cuya estructura biológica puede variar.

Como se indicó en la introducción, los tumores tienen una mayor presencia de CAFs, cuya composición principal es el colágeno. Los tumores suelen presentar redes densas y desorganizadas de colágeno, lo que aumenta tanto la absorción óptica como el *scattering*, y con ello el aumento del coeficiente de atenuación [32]. Si la MH con nanopartículas magnéticas hace efecto rompiendo estas redes, cabría esperar una disminución del *scattering*, y con ello del coeficiente de atenuación. Y esto, aunque sutilmente, se manifiesta en los resultados de los experimentos realizados en este TFG.

Parámetro A

En paralelo, se calcularon la media, la mediana y el IQR del parámetro A, que funciona como un factor de proporcionalidad relacionado con la reflectividad inicial relativa de la muestra en la superficie. Estos estadísticos, mostrados en las tablas siguientes y representados también mediante boxplots, permiten evaluar la variabilidad espacial de A y complementan la información obtenida a partir de los mapas de μ_t .

Muestras tumorales de control, sin inyección de nanopartículas:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
1	Control sin MH	-3.23	-2.96	1.46
2	Control sin MH	-3.70	-3.23	2.28
3	Control sin MH	-4.05	-3.16	2.69
4	Control sin MH	-5.73	-4.72	4.27
5	Control con MH	-3.83	-3.44	2.47
6	Control con MH	-4.14	-3.89	3.43

Tabla 4.7: Media, mediana e IQR de A en muestras de **Control**.

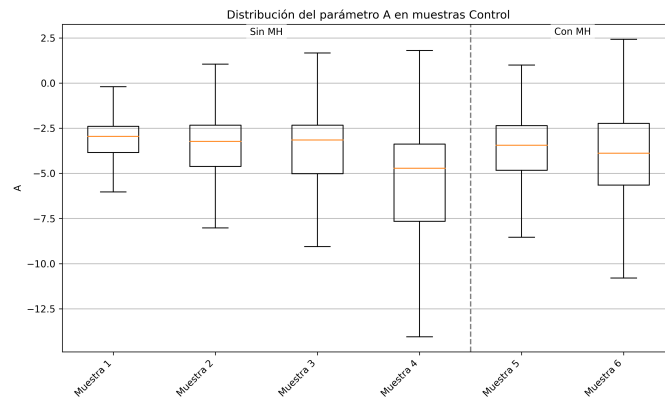


Figura 4.27: Factor de proporcionalidad A en muestras de control: (izquierda) muestras de control sin MH; (derecha) muestras de control con MH.

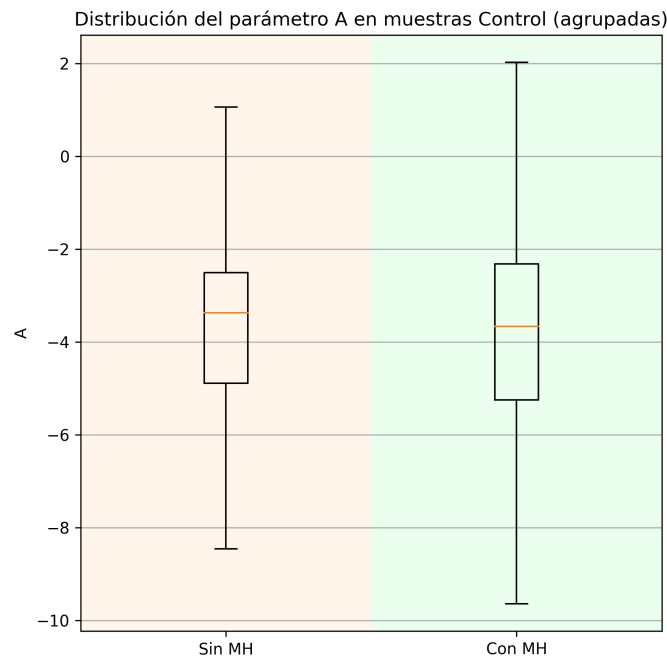


Figura 4.28: Factor de proporcionalidad A en muestras de control agrupadas: (fondo verde) muestras de control con MH; (fondo rosa) muestras de control sin MH.

En la (Fig. 4.28) se observa que los tratamientos de MH aumentan el factor de proporcionalidad.

Muestras tumorales con nanopartículas GIONF:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
7	Gionf sin MH	-4.44	-4.00	2.22
8	Gionf sin MH	-6.42	-5.85	6.15
9	Gionf sin MH	-3.79	-3.01	2.34
10	Gionf sin MH	-5.26	-4.74	2.78
11	Gionf sin MH	-4.51	-4.14	2.90
12	Gionf sin MH	-4.40	-4.20	2.10
13	Gionf sin MH	-3.64	-3.15	3.14
14	Gionf sin MH	-3.58	-2.66	2.85
15	Gionf con MH	-4.38	-3.77	2.64
16	Gionf con MH	-5.74	-5.31	3.93
17	Gionf con MH	-3.45	-3.24	2.31
18	Gionf con MH	-4.24	-4.08	2.80
19	Gionf con MH	-4.64	-4.18	2.39
20	Gionf con MH	-3.69	-3.58	2.23
46	Gionf MH int.col	-6.56	-6.27	2.34
47	Gionf MH int.col	-4.58	-4.22	2.41

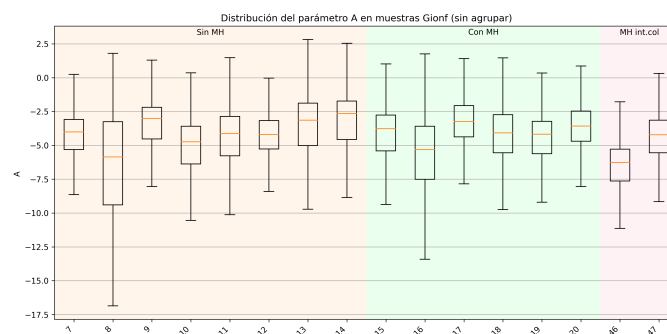
Tabla 4.8: Media, mediana e IQR de A en muestras de **GIONF**.

Figura 4.29: Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas GIONF: (fondo naranja) GIONF sin MH; (fondo verde) GIONF con MH externa; (fondo rosa) GIONF con MH interna.

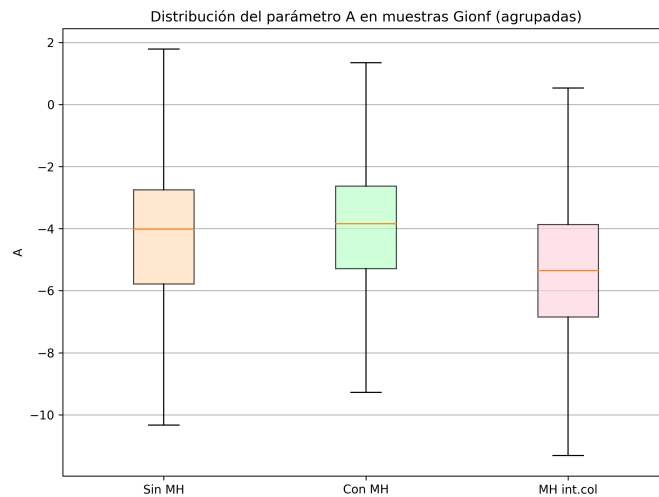


Figura 4.30: Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas GIONF agrupadas: (fondo naranja) GIONF sin MH; (fondo verde) GIONF con MH externa; (fondo rosa) GIONF con MH interna.

Como se puede observar en la (Fig. 4.30) el factor de proporcionalidad disminuye cuando se aplica MH con bobina interna.

Muestras tumorales con nanopartículas IC84:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
21	IC84 sin MH	-3.69	-2.91	2.97
22	IC84 sin MH	-5.66	-5.47	2.27
23	IC84 sin MH	-5.76	-5.08	3.83
24	IC84 sin MH	-5.89	-5.15	2.47
25	IC84 sin MH	-6.16	-5.76	2.19
26	IC84 con MH	-3.89	-3.09	3.34
27	IC84 con MH	-4.90	-5.13	3.24
28	IC84 con MH	-4.95	-4.82	1.88
29	IC84 con MH	-5.67	-5.42	3.67
30	IC84 con MH	-5.77	-5.29	2.95
31	IC84 con MH	-4.98	-4.07	4.48
44	IC84 MH int.col	-4.93	-5.10	2.77
45	IC84 MH int.col	-5.23	-5.09	2.38

Tabla 4.9: Media, mediana e IQR de A en muestras de IC84.

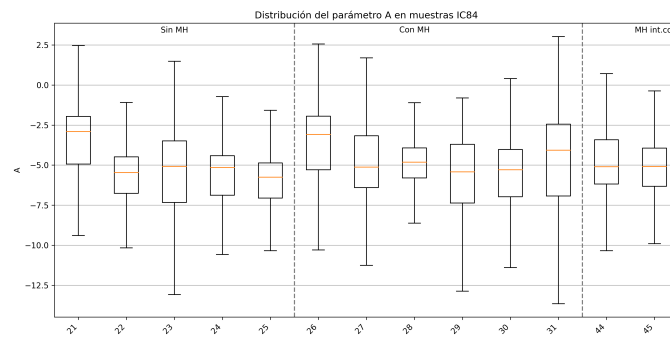


Figura 4.31: Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC84: (izquierda) IC84 sin MH; (centro) IC84 con MH externa; (derecha) IC84 con MH interna.

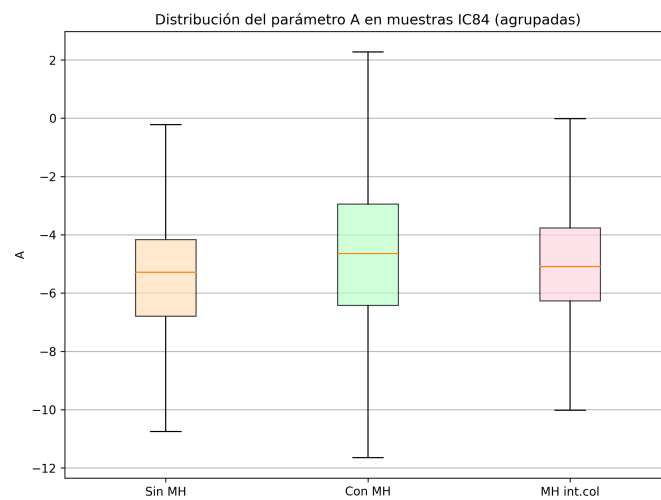


Figura 4.32: Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC84 agrupadas: (fondo naranja) IC84 sin MH; (fondo verde) IC84 con MH externa; (fondo rosa) IC84 con MH interna.

Como se puede observar en la (Fig. 4.32) el factor de proporcionalidad aumenta cuando se aplica MH con bobina externa.

Muestras tumorales con nanopartículas IC109:

Muestra	Categoría	Media	Mediana	IQR
32	IC109 sin MH	-5.05	-4.63	2.35
33	IC109 sin MH	-5.51	-4.86	3.48
34	IC109 sin MH	-4.67	-4.71	4.17
35	IC109 sin MH	-4.15	-3.96	3.23
36	IC109 con MH	-4.04	-4.07	1.71
37	IC109 con MH	-5.33	-5.08	1.93
38	IC109 con MH	-5.30	-4.57	3.91
39	IC109 con MH	-4.93	-4.72	2.20
40	IC109 con MH	-3.62	-3.35	2.20
41	IC109 con MH	-3.68	-3.59	2.02
42	IC109 MH int.col	-5.11	-5.18	2.04
43	IC109 MH int.col	-5.51	-4.42	4.92

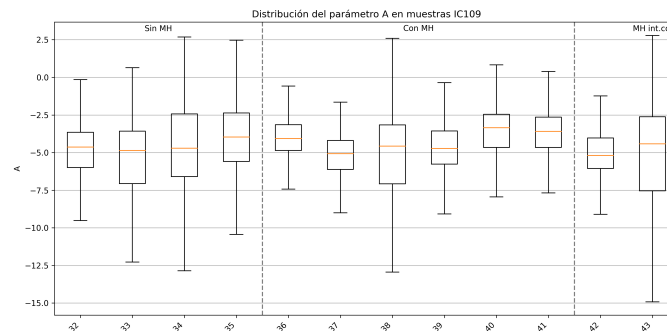
Tabla 4.10: Media, mediana e IQR de A en muestras de **IC109**.

Figura 4.33: Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC109: (izquierda) IC109 sin MH; (centro) IC109 con MH externa; (derecha) IC109 con MH interna.

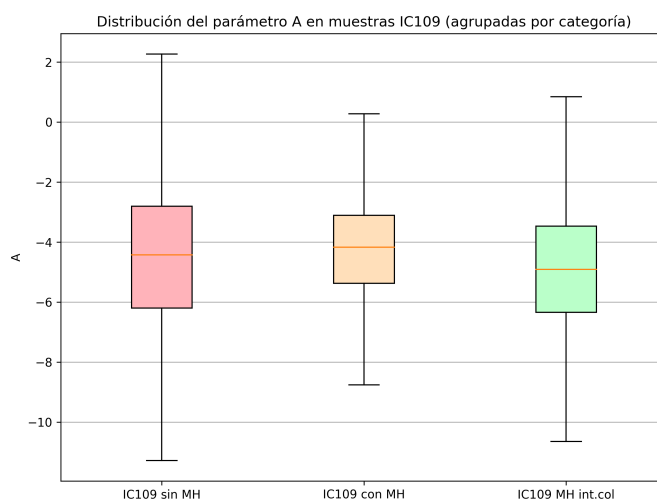


Figura 4.34: Factor de proporcionalidad A en muestras con nanopartículas IC84 agrupadas: (fondo rosa) IC84 sin MH; (fondo naranja) IC84 con MH externa; (fondo verde) IC84 con MH interna.

Como se puede observar en la (Fig. 4.34) el factor de proporcionalidad aumenta cuando se aplica MH con bobina externa.

Se analizaron los valores del parámetro A obtenidos en las distintas categorías de muestras: Control, GIONF, IC84 e IC109, considerando la presencia o ausencia de tratamiento con MH. Además de las conclusiones previas, a partir de los datos de media, mediana e IQR se pueden extraer las siguientes observaciones:

- **Efecto de MH sobre la dispersión:** La influencia más evidente de MH se refleja en la reducción de la dispersión (IQR) en algunas categorías, indicando que el tratamiento tiende a homogenizar los valores de A dentro de cada muestra. Este efecto es más marcado en las categorías GIONF y IC84, donde la dispersión inicial es mayor.
- **Comparación entre categorías:**
 - Las muestras de *Control* y *IC109* presentan de por sí una dispersión relativamente baja, por lo que el efecto de MH sobre la homogeneidad es menos pronunciado.
 - Las muestras de *GIONF* y *IC84* muestran mayor variabilidad sin MH, siendo estas categorías las que más se benefician de la homogenización producida por el tratamiento.

Cabe destacar que estos análisis se realizaron a 1310 nm, y que los tumores presentan una heterogeneidad significativa, a pesar de haberse inyectado las mismas células de manera intradérmica. Esta heterogeneidad explica las diferencias observadas en los valores del coeficiente de atenuación y del parámetro A dentro del mismo modelo de melanoma cutáneo.

Capítulo 5

Conclusiones y Líneas futuras

En este trabajo se ha verificado la validez de la técnica OCT para la caracterización y diferenciación de las propiedades ópticas en muestras sometidas a diferentes terapias basadas en nanopartículas y en hipertermia magnética. Con esta técnica se consigue evaluar de forma no invasiva las variaciones en el coeficiente de atenuación, asociadas a los cambios estructurales y morfológicos inducidos por la presencia de nanopartículas y por el tratamiento térmico controlado, permitiendo así analizar la eficacia y el impacto de cada terapia sobre el tejido estudiado.

Las medidas de intensidad obtenidas mediante OCT han sido sometidas a un procesamiento de imagen que incluye el aplanado de los cubos de datos, la calibración con respecto al *phantom* de referencia, la aplicación de un filtro de mediana y el ajuste del coeficiente de atenuación. El cálculo del coeficiente de atenuación se ha realizado a partir de los resultados del OCT utilizando el modelo de propagación correspondiente, considerando las correcciones derivadas de la calibración y el filtrado. Posteriormente, se ha generado el mapa 2D del coeficiente de atenuación para evaluar de forma comparativa las diferencias entre las distintas condiciones experimentales.

Se observa que la luz se atenúa menos en las muestras con nanopartículas *GIONF*, *IC84* e *IC109* tras la aplicación de MH, mostrando un coeficiente de atenuación (μ_t) inferior al de las muestras sin MH. Esto permite verificar que el tratamiento combinado de nanopartículas magnéticas e hipertermia magnética puede romper la estructura de colágeno densa que rodea el tumor.

Sin embargo, este resultado es muy preliminar y necesita de más investigación para seguir demostrando esta hipótesis inicial. Así, posibles líneas futuras de ampliación de este estudio incluyen disminuir la zona analizada del tumor. Se necesitaría incluir información procedente de análisis histopatológico que indique donde hay más concentración de nanopartículas magnéticas y verificar si en esas zonas perfectamente etiquetadas se corresponden con un descenso más relevante del coeficiente de atenuación. Esto es necesario porque en este TFG se ha asumido que la distribución de nanopartículas magnéticas es uniforme dentro del tumor, hecho poco factible en un entorno biológico complejo como es el asociado al TME.

Igualmente, sería interesante incluir medidas de la polarización de la luz, ya que la información

polarimétrica podría aportar datos adicionales sobre la organización estructural de los tumores y su interacción con las nanopartículas, complementando los valores de atenuación y amplitud.

Finalmente, se podrían contrastar los valores de μ_t , A y parámetros de polarización con análisis histopatológicos para establecer criterios objetivos que diferencien entre tumores con distintos tipos de nanopartículas y entre aquellos que recibieron tratamiento con MH y los que no. Esto permitiría, a futuro, desarrollar métodos automáticos de clasificación de tumores basados en estos parámetros.

Bibliografía

1. Research on Cancer IA for. Melanoma of skin (fact sheet). [PDF]. Global Cancer Observatory, Cancer Today. 2025. Available from: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/cancers/16-melanoma-of-skin-fact-sheet.pdf>
2. Hope C of. What is metastatic melanoma? 2022 Jun. Available from: <https://www.cancercenter.com/cancer-types/melanoma/types/metastatic-melanoma#what-is-metastatic-melanoma>
3. Institute NC. Tratamiento del melanoma (PDQ®) – Versión para pacientes. 2025. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/piel/paciente/tratamiento-melanoma-pdq>
4. Society AC. Pruebas para el cáncer de piel tipo melanoma. 2023. Available from: <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-piel-tipo-melanoma/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/como-se-diagnostica.html>
5. Falcone I, Conciatori F, Bazzichetto C, Ferretti G, Cognetti F, Ciuffreda L y Milella M. Tumor microenvironment: Implications in melanoma resistance to targeted therapy and immunotherapy. *Cancers* 2020; 12:2870. doi: [10.3390/cancers12102870](https://doi.org/10.3390/cancers12102870)
6. Ghosh S. Lung metastasis inhibition by iron carbide NPs targeting the tumor microenvironment. Presentación, IDIVAL. 2025
7. Society AC. Terapia de células T con CAR. 2023. Available from: <https://www.cancer.org/es/cancer/como-sobrellevar-el-cancer/tipos-de-tratamiento/inmunoterapia/terapia-de-celulas-t.html>
8. Yang D, Liu J, Qian H y Zhuang Q. Cancer-associated fibroblasts: from basic science to anticancer therapy. *Experimental & Molecular Medicine* 2023 Jul; 55:1322-32. doi: [10.1038/s12276-023-01013-0](https://doi.org/10.1038/s12276-023-01013-0)
9. Institute NC. Inmunoterapia para tratar el cáncer. 2023. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia>
10. Feng J. Fibroblastos asociados al cáncer y resistencia a terapias anticancerígenas. *Experimental & Molecular Medicine* 2022; 54:1695-707. doi: [10.1038/s12276-022-00747-2](https://doi.org/10.1038/s12276-022-00747-2)

11. Bustamante Mamani J, Borges JP, Rossi AM y Gamarra LF. Nanopartículas magnéticas para terapia y diagnóstico en nanomedicina. *Pharmaceutics* 2023; 15:1663. doi: [10.3390/pharmaceutics15061663](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061663)
12. Kaur K y Gurnani B. Refraction of light. StatPearls. 2023 Jul. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK594230/>
13. Equipo de Enciclopedia Significados. Refracción de la luz. Significados.com. 2021 Mar. Available from: <https://www.significados.com/refraccion-de-la-luz/>
14. Evident Scientific. Introducción a la reflexión de la luz. n.d. Available from: <https://evidentscientific.com/es/microscope-resource/knowledge-hub/lightandcolor/reflectionintro>
15. Fisicalab. Reflexión y refracción de la luz. n.d. Available from: <https://www.fisicalab.com/apartado/reflexion-refraccion-luz>
16. A-Level Chemistry. Absorción de la luz. 2025. Available from: <https://alevelchemistry.co.uk/definition/absorption-of-light/>
17. Real Peña E. Fotónica y técnicas de interpretación aplicadas al diagnóstico de patologías cardiovasculares y dermatológicas. Tesis doctoral. Santander, España: Universidad de Cantabria, 2017
18. Gutiérrez Gutiérrez JA. Contribuciones a la traslación de instrumentación fotónica al ámbito clínico. Tesis doctoral. Santander, España: Universidad de Cantabria, 2024 Jan
19. Chamorro Gutiérrez E. Fundamentos ópticos de la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT). *Ver y Oír* 2008; 231:593-8. Available from: https://www.researchgate.net/publication/288825272_Fundamentos_opticos_de_la_Tomografia_de_Coherencia_Optica_OCT
20. Encyclopaedia Britannica TE of. Coherence. 2025. Available from: <https://www.britannica.com/science/coherence>
21. Beaty W. Láseres: ¿Qué es la luz coherente? 2004. Available from: <http://amasci.com/miscon/coherenc.html>
22. Arieli R. Coherencia de la luz. En A. Requena, C. Cruz, A. Bastida & J. Zúñiga (Trad.), *The Laser Adventure* (Cap. 10, Secc. 1, p. 1). Universidad de Murcia. 2000. Available from: <https://www.um.es/LEQ/laser/Ch-10/F10s1p1.htm>
23. Beyondtech Europe S.L. Interferometría (101). El Blog de Beyondtech: Fibra 101. 2022 Mar. Available from: <https://www.beyondtech.es/blog/el-blog-de-beyondtech-fibra-101-1/interferometria-101-2>
24. Evodrop. Interferencia: fenómeno fundamental en física y óptica. n.d. Available from: <https://evodrop.com/es/glosario/interferenz/>
25. Nuñez T. Ondas sonoras constructivas y destructivas. ElectronTools. n.d. Available from: <https://www.electrontools.com/Home/WP/ondas-sonoras-constructivas-y-destructivas/>

26. OpenStax. El interferómetro de Michelson. En *Física Universitaria Volumen 3*. 2025. Available from: <https://openstax.org/books/f%C3%ADsica-universitaria-volumen-3/pages/3-5-el-interferometro-de-michelson>
27. Aumann S, Donner S, Fischer J y Müller F. Optical coherence tomography (OCT): Principle and technical realization. *High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology: New Frontiers in Biomedical Optics*. Ed. por Bille JF. Springer, 2019. Cap. 3. DOI: [10.1007/978-3-030-16638-0_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16638-0_3)
28. Oshina I y Spigulis J. Ley de Beer–Lambert para diagnóstico óptico de tejidos: estado actual y principales limitaciones. *Journal of Biomedical Optics* 2021; 26:100901. DOI: [10.1117/1.JBO.26.10.100901](https://doi.org/10.1117/1.JBO.26.10.100901)
29. Thorlabs. Sistema de Tomografía de Coherencia Óptica Sensible a la Polarización de la Serie Telesto®. 2025. Available from: https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=12543
30. García-Hevia L, Fernández F, Casafont I, Villegas JC y Fanarraga ML. A fast, reliable and cost-effective method to generate tumor organs for therapy screening in vivo. *Biomedical Physics & Engineering Express* 2016; 2:035009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1088/2057-1976/2/3/035009>
31. Alonso VM, Ghosh S, Gutiérrez-Gutiérrez JA, Fanarraga ML y Conde OM. Melanoma Fixation for OCT Imaging: How Long is Too Long? *European Conferences on Biomedical Optics (Munich, Germany)*. 22–26 June 2025. 2025 Jun :M3A.34
32. Sekar SKV, Bargigia I, Mora AD, Taroni P, Ruggeri A, Tosi A, Pifferi A y Farina A. Diffuse optical characterization of collagen absorption from 500 to 1700 nm. *Journal of Biomedical Optics* 2017; 22:015006. DOI: [10.1117/1.JBO.22.1.015006](https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.1.015006)