



REEMBER CANO RODRIGUEZ

Utilização da fase para estimativa das propriedades ópticas absolutas do tecido biológico com espectroscopia óptica de difusão

Campinas
2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE FÍSICA "GLEB WATAGHIN"

REEMBER CANO RODRIGUEZ

Utilização da fase para estimativa das propriedades ópticas absolutas do tecido biológico com espectroscopia óptica de difusão

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO INSTITUTO DE FÍSICA "GLEB WATAGHIN" DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS COMO PARTE DOS REQUISITOS EXIGIDOS PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM FÍSICA.

Prof. Dr. RICKSON COELHO MESQUITA

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação de mestrado defendida pelo aluno Reember Cano Rodriguez e orientada pelo prof. Rickson Coelho Mesquita.



Rickson Coelho Mesquita

Campinas
2015

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Física Gleb Wataghin
Lucimeire de Oliveira Silva da Rocha - CRB 8/9174

C165u Cano Rodriguez, Reember, 1987-
Utilização da fase para estimativa das propriedades ópticas absolutas do tecido biológico com espectroscopia óptica de difusão / Reember Cano Rodriguez. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Rickson Coelho Mesquita.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física Gleb Wataghin.

1. Espectroscopia óptica de difusão. 2. Espectroscopia no infravermelho próximo. I. Mesquita, Rickson Coelho, 1982-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Física Gleb Wataghin. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Using the phase to estimate the absolute optical properties of biological tissue with diffuse optical spectroscopy

Palavras-chave em inglês:

Diffuse optical spectroscopy

Near infrared spectroscopy

Área de concentração: Física

Titulação: Mestre em Física

Banca examinadora:

Rickson Coelho Mesquita [Orientador]

Iouri Borissevitch

Roberto José Maria Covolan

Data de defesa: 10-11-2014

Programa de Pós-Graduação: Física



MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado DE
REEMBER CANO RODRIGUEZ – R.A. 142421 APRESENTADA E APROVADA AO
INSTITUTO DE FÍSICA “GLEB WATAGHIN”, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
CAMPINAS, EM 10/11/2014.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Rickson Coelho Mesquita
Orientador do Candidato - DRCC/IFGW/UNICAMP

Prof. Dr. Iouri Borissevitch – FFCLRP/USP

Prof. Dr. Roberto José Maria Covolan – DRCCQ/IFGW/UNICAMP

Resumo

A capacidade de observar a fisiologia funcional do tecido humano tem crescido rapidamente nos últimos anos. Entre outras técnicas, destaca-se a espectroscopia óptica de difusão (DOS), uma técnica emergente que utiliza os princípios da difusão de fótons e permite o monitoramento do tecido biológico de forma contínua e portátil. A partir da luz ($\sim 700 - 900$ nm) espalhada pelo tecido é possível determinar variações relativas do seu coeficiente de absorção, que estão relacionadas com as concentrações de oxi-hemoglobina (HbO_2) e deoxi-hemoglobina (HbR) presentes no sangue. Neste trabalho, utilizamos a técnica de DOS no domínio da frequência, e a informação da defasagem da onda espalhada (em relação à onda incidida) para determinação das propriedades ópticas absolutas do tecido biológico e, conseqüentemente, da sua fisiologia. Em particular, comparamos diferentes modelos de propagação da luz no tecido (semi-infinito e duas camadas) e as propriedades ópticas derivadas destes modelos. Além disso, investigamos métodos de calibração do sinal óptico no tecido, do ponto de vista teórico e experimental, mostrando sua aplicabilidade em experimentos com humanos, no estado de repouso e em intervenções cirúrgicas.

Abstract

The ability to observe the functional physiology of human tissue has grown rapidly in recent years. Among other techniques, we highlight diffuse optical spectroscopy (DOS), an emerging technique that utilizes the principles of diffusion of photons and allows monitoring of biological tissue continuously and portable way. From the light ($\sim 700\text{-}900$ nm) scattered by tissue it is possible to determine the relative changes in the absorption coefficient, which are related to the concentrations of oxyhemoglobin (HbO_2), and deoxyhemoglobin (HbR) in the blood. In this study, we used the technique DOS in the frequency domain, and the phase information of the scattered wave (related to incident wave) for determining the absolute optical properties of biological tissue and, consequently, the physiology. In particular, we compared different models of propagation of light (semi-infinite and two-layer) and the optical properties of tissue derived from these models. Furthermore, we investigated methods of calibration of the optical signal on the tissue from both the experimental and theoretical perspectives, demonstrating its applicability in experiments with humans in the resting state and in surgical interventions.

Conteúdo

Resumo	vii
Abstract	vii
Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxii
1 Introdução	1
2 Absorção e espalhamento da luz nos tecidos biológicos	5
2.1 Absorção da luz	5
2.1.1 Água	7
2.1.2 Hemoglobina	7
2.1.3 Lipídios	8
2.2 Espalhamento da luz	8
2.2.1 Espalhamento Rayleigh	11
2.2.2 Espalhamento Mie	11
2.3 Espalhamento simples da luz nos tecidos	12
3 Propagação da luz em meios turvos	17
3.1 Equação de transferência radiativa	17
3.2 Equação de difusão	19
3.3 Soluções da equação de difusão para um meio semi-infinito	21
3.3.1 Condição de contorno de fluxo parcial	21

3.3.2	Condição de contorno extrapolada	25
3.3.3	Condição de contorno zero	27
3.3.4	Comparação das três condições de contorno	27
3.3.5	Amplitude e fase na condição de contorno extrapolada	29
3.3.6	Determinação das propriedades ópticas no modelo SI	30
3.4	Meio de duas camadas (DC)	32
3.4.1	Solução da equação de difusão no modelo de DC	32
3.4.2	Amplitude e fase no modelo de DC	34
3.4.3	Determinação das propriedades ópticas no modelo de DC	35
3.5	Determinação das concentrações dos cromóforos	39
4	Aspectos técnicos de DOS	41
4.1	Instrumentação em medidas no domínio da frequência	41
4.1.1	Equipamento no domínio da frequência	41
4.1.2	Detecção por quadratura	42
4.2	Calibração	44
4.2.1	Calibração padrão	45
4.2.2	Auto-calibração	47
4.2.3	Resultados em phantoms ópticos	51
5	Aplicações clínicas	53
5.1	Metodologia e protocolos	53
5.2	Comportamento linear predito pelo modelo SI	55
5.3	Propriedades ópticas absolutas dos tecidos no estado basal	55
5.3.1	Cérebro	56
5.3.2	Músculo	59
5.4	Variações das propriedades ópticas em relação ao estado basal	60
5.4.1	Endarterectomia de carótida	60

5.4.2	Monitoramento durante intervenção cirúrgica e análise com o modelo SI	61
5.4.3	Comparação modelo SI e DC durante o clampeamento	63
6	Conclusões e perspectivas	67
	Bibliografia	71
A	Equação de transferência radiativa e dedução da equação de difusão	79
A.1	Aproximação de difusão	79
B	Função de Green para a equação de difusão	85
B.1	Meio infinito	89
B.2	Meio semi-infinito e condição de contorno extrapolada	89
B.3	Meio de duas camadas	91
C	Termo de consentimento (Aprovado pelo CEP/UNICAMP em 27/01/2014. Parecer CAAE: 256565130.0000.5404.	
)		95

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus e a minha família, em especial a minha avó, porque tem sido um exemplo para mim ao longo da minha vida toda, e além de tudo, não teria conseguido isto sem sua ajuda. Também quero agradecer ao meu orientador, o professor Rickson Coelho Mesquita, pela orientação, paciência e, principalmente, pelo empenho e dedicação durante todo o meu mestrado. Aos colegas e amigos do laboratório (LOB), por todos os momentos e brincadeiras compartilhados e por toda a ajuda acadêmica a Edwin (elli), Arbey (arbelli), Sergio (o lindo), André (gavião), Luis (Tapia), Marcelli (Marcela), Rodrigo, Alexandre, Renato, André Malavazi um, muito obrigado!. Aos amigos Bruninha, à “flyerzinha”(que gostaria que ainda fosse a flyerzinha), Mónica, Karen Polaz e, especialmente, ao meu colega e amigo da rep Akira, que não só tem sido de grande ajuda para mim se não também para todos nós, obrigado por fazer a minha estância no Brasil muito mais simples, agradável e por todas as receitas culinárias, agora não vou morrer de fome kkk. A Luciana e Armando, pela cordialidade e ajuda fornecida na CPG. À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Lista de Figuras

1.1	Três tipos de fontes comumente utilizadas em espectroscopia óptica. Lado esquerdo: simulação da interação dos fótons que estão conseguindo chegar ao detector que está a uma distância ρ da fonte . As figuras 1,2 e 3 representam, respectivamente, os métodos de fonte com intensidade contínua (CW), intensidade modulada (FD) e pulsos curtos de luz (TRS). Imagem tirada de [16].	3
2.1	Espectro de absorção da oxi-hemoglobina (HbO_2), deoxi-hemoglobina (HbR), e da água (H_2O) no tecido. No infravermelho próximo a absorção da água é relativamente baixa, permitindo a luz penetrar no tecido.	7
2.2	A) μ_s versus comprimento de onda, na região NIR, e diâmetro da partícula $d = 20 \text{ nm} \ll \lambda$; B) μ_s versus diâmetro das partículas espalhadoras, num comprimento de onda $\lambda = 700 \text{ nm}$. Com estes gráficos é possível notar os limites de validade das AR e da teoria de Mie.	12
3.1	Gráfico representativo do cone com base menor dA localizado na posição \mathbf{r} e abertura $d\hat{\Omega}$, centrado na direção $\hat{\Omega}$. Potência que passa através deste cone define a radiância.	18
3.2	Geometria do problema ar-tecido a solucionar. Aqui a fonte é colocada na interface ($z=0$) e nesse mesmo plano são feitas as medidas de refletância (ou intensidade) a uma distância ρ da fonte. O tecido é considerado semi-infinito ($z > 0$).	22
3.3	Geometria do meio semi-infinito. Aqui \hat{n} é a normal à interface saindo do meio turvo que representa o tecido.	23
3.4	Geometria semi-infinito e configuração das imagens para a condição de contorno de fluxo de parcial.	25

3.5	geometria para o meio semi-infinito ($z > 0$) com a condição de contorno extrapolada (plano $z = -z_b$). Neste caso, $\mathbf{r}_i = (0, 0, -(2z_b + z_0))$ e $\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0)$ são as posições das fontes em relação ao detector, respectivamente	26
3.6	A) Amplitude e B) fase de fluência para um meio semi-infinito com três condições de contorno: Fluxo parcial, extrapolada e contorno zero. O espalhamento reduzido é de 10 (1/cm), o coeficiente de absorção é de 0.05 (1/cm), o índice de refração do meio turvo é de 1.4, e a separação fonte-detector é de 2 cm.	28
3.7	Diferença relativa percentual à condição de fluxo parcial para a A) amplitude simulada e B) fase de dados para um meio semi-infinito com três condições de contorno: fluxo parcial, extrapolada e contorno zero. O espalhamento reduzido é de 10 (1/cm), o coeficiente de absorção é de 0.05 (1/cm), o índice de refração do meio turvo é de 1.4, e a separação fonte-detector é de 2 cm.	28
3.8	A) Amplitude e B) fase simuladas, como função da distância fonte-detector, para diferentes valores do coeficiente de absorção ($0.05 (1/\text{cm}) \leq \mu_a \leq 0.95 (1/\text{cm})$), mantendo o espalhamento reduzido em 10 (1/cm). As setas indicam a direção de incremento de μ_a , tomada em passos de 0.1 (1/cm).	29
3.9	A) Amplitude e B) fase simuladas, como função da distância fonte-detector, para diferentes valores do coeficiente de espalhamento reduzido ($5 (1/\text{cm}) \leq \mu'_s \leq 14 (1/\text{cm})$), mantendo a absorção em 0.1 (1/cm). As setas indicam a direção de incremento de μ'_s , tomada em passos de 1 (1/cm).	30
3.10	Esquema do cilindro usado nos cálculos. O ponto isotropico que representa a fonte, localizada em $\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0)$	33
3.11	A) Amplitude e B) fase simulada s, como função da distância fonte-detector, para diferentes valores do coeficiente de absorção da segunda camada ($0.05 (1/\text{cm}) \leq \mu_{a_2} \leq 0.35 (1/\text{cm})$). Todos os outros parâmetros foram mantidos fixos: para espalhamento da primeira e segunda camada em 8 (1/cm) e 4 (1/cm), respectivamente, e a absorção da primeira camada em 0.08 (1/cm). As setas indicam a direção de incremento de μ_{a_2} , tomada em passos de 0.025 (1/cm).	35
3.12	Diagrama geral do fluxo no procedimento de otimização.	36

3.13	Valores recobertos dos coeficientes ópticos no modelo DC, onde a linha tracejada vermelha representa a condição ideal, onde o valor recoberto é igual ao valor real sendo A) μ_{a1} B) μ_{s1} C) μ_{a2} D) μ_{s2}	38
4.1	Imagem do equipamento usado no método FD (Imagent, Iss Inc, Illinois, EUA).	42
4.2	Esquema geral do sistema no domínio da frequência. O oscilador local RF fornece o sinal de referência ao demodulador I&Q, enquanto modula o laser de diodo, as fontes, posições dos detectores e comprimentos de onda estão sendo multiplexados usando uma combinação de <i>switches</i> ópticos. Então o sinal espalhado através do meio é registrado pelo detector (PMT) e é amplificado e filtrado. O demodulador com o filtro passa baixas (LPF) obtém informação da amplitude e fase, que são salvos no computador através de uma conversão analógica-digital (AD).	43
4.3	Esquema do demodulador em fase e em quadratura I&Q.	43
4.4	(Cone de aceitação, e possíveis fótons que chegam dentro da cone e se propagam pela fibra ou, caso contrario não se propagando pela fibra.)	45
4.5	Esquerda: fotografia da sonda utilizada neste trabalho para o método de Calibração Padrão. Direita: esquema representativo das distâncias fonte-detector da mesma sonda, onde o quadrado e os círculos representam o detector e as fontes, respectivamente.	47
4.6	A) Foto de geometria construída para o método de Auto-Calibração.	48
4.7	A) Esquema da sonda e a configuração entre fontes e detectores no método de auto-calibração. A simetria que existe entre pares de fontes e detectores, permite a comparação da fluência em diferentes canais com a mesma distância.	48
4.8	Coefficientes de absorção e espalhamento, obtido pelo método de auto-calibração (asteriscos) e de calibração padrão (círculos). A linha tracejada é a condição ideal onde os valores obtidos são iguais aos valores reais.	51
5.1	Diagrama esquemático dos lugares onde foi posicionada a sonda: A) no braço (2 posições) B) no cérebro (7 posições). O x indica o lugar aproximado onde foi colocada a sonda.	54

5.2	A) Comportamento linear para a amplitude do sinal detectado. B) Comportamento linear da defasagem do sinal detectado, em dados experimentais da cabeça.	55
5.3	Médias para todos os voluntários de A) coeficiente de absorção(μ_a); B) espalhamento (μ'_s), em diferentes regiões da cabeça, no modelo de SI (barras pretas) e de DC (barra cinza representando o córtex e barra branca representando regiões superficiais), no comprimento de onda de $\lambda = 690$ nm.	56
5.4	Média e erro padrão de medidas das propriedades ópticas absolutas, μ_a , μ'_s em sujeitos idosos e jovens, com os modelos de SI (esquerda) e de DC (direita).	59
5.5	Representação de duas camadas para o músculo; primeira camada (pele), segunda camada (músculo). Imagem tirada de MedlinePlus.	60
5.6	Há duas artérias carótidas, uma a cada lado do pescoço, que se dividem em uma externa e uma interna. A) mostra a localização da artéria carótida direita na cabeça e o pescoço. B) seção transversal de uma artéria carótida normal que tem um fluxo normal de sangue. Figura C) seção transversal de uma artéria carótida que tem uma placa acumulada reduzindo o fluxo. Imagem tirada de [74].	62
5.7	Parâmetros calculados com o modelo SI durante a cirurgia para um voluntário representativo (9/10). A) Oxi-hemoglobina (HbO_2) ; B) Deoxi-hemoglobina (HbR); C) Hemoglobina total (HbT) e ; D) Saturação de oxigênio pelo tecido (StO_2). Região cinza é o intervalo durante o clampeamento.	63
5.8	Parâmetros calculados com o modelo SI durante a cirurgia para um voluntário com resposta diferente do grupo (1/10). A) Oxi-hemoglobina (HbO_2) ; B) Deoxi-hemoglobina (HbR); C) Hemoglobina total (HbT) e ; D) Saturação de oxigênio pelo tecido (StO_2). Região cinza é o intervalo durante o clampeamento.	64
5.9	Absorção durante o clampeamento nos dois modelos (linha mais clara (verde) modelo SI, e mais escura (azul) no DC na região cortical), e nos dois comprimentos de onda: A) 690 nm, B) 850 nm.	64

5.10 Coeficiente de absorção cortical (μ_{a_2}) normalizado pela média durante o clampeamento versus coeficiente absorção (μ_a) calculado no modelo SI normalizado pela média, no comprimento de onda de 690 nm (pontos vermelhos), e 850 nm (pontos azuis). Linha tracejada representa a proporção 1:1. 65

Lista de Tabelas

5.1	Valores médios de μ_a e μ'_s para todos os voluntários e todas as regiões, usando os modelos SI e DC, e a diferença percentual ($\Delta\%$ SI-DC) entre os parâmetros calculados pelo modelo SI e DC (na região cortical). Os números entre parênteses representam o desvio padrão entre as médias para todas as medidas	57
5.2	Valores médios das concentrações de [HbO ₂], [HbR], [HbT] e saturação de oxigênio (StO ₂) em todas as regiões e todos os voluntários, usando o modelo de SI e DC, e diferença percentual ($\Delta\%$) no SI relativo ao cortical calculado pelo modelo de DC. Os números entre parênteses representam o desvio padrão entre as médias para todas as medidas.	58
5.3	Valores médios das propriedades ópticas tanto no braço quanto no ante-braço, usando o modelo de SI e DC, e a diferença percentual ($\Delta\%$) no SI relativo ao calculado pelo modelo de DC (no músculo). Os números entre parênteses representam o desvio padrão entre as médias para todas as medidas.	61
5.4	Variações dos parâmetros ópticos e fisiológicos com respeito ao baseline (8 minutos antes do clampeamento) nos modelos SI, DC e com a lei de BLM.	66
5.5	Variações relativas dos parâmetros ópticos e fisiológicos com respeito ao baseline (8 minutos antes do clampeamento) nos modelos SI, DC.	66

Nomenclatura

NIR	Near Infrared, ou Infravermelho Próximo
NIRS	Near Infrared Spectroscopy, ou Espectroscopia no Infravermelho Próximo
DOS	Diffuse Optical Spectroscopy, ou Espectroscopia Óptica de Difusão
CW	Continuous Wave, ou Onda Continua
FD	Frequency Domain, ou Domínio da Frequência
TRS	Time Resolve Spectroscopy, ou Espectroscopia no Domínio do Tempo
SI	Semi-Infinito
DC	Duas Camadas
HbO ₂	Oxi-hemoglobina
HbR	Deoxi-hemoglobina
HbT	Hemoglobina Total ($HbT=HbO_2+HbR$)
StO ₂	Saturação de oxigênio no tecido ($StO_2=HbO_2/HbT$)
AR	Aproximação de Rayleigh
BLM	Lei de Beer-Lambert-Modificada

Capítulo 1

Introdução

O potencial para adquirir informações, de forma não invasiva, sobre as propriedades ópticas relacionadas com a fisiologia e metabolismo do tecido biológico tem crescido consideravelmente no decorrer dos últimos anos, oferecendo possibilidades estimulantes tanto para diagnóstico médico quanto para medidas de ativação funcional em tecido cerebral ou muscular.

Nos anos 70, Jöbsis [1] notou a existência de uma “janela óptica” no infravermelho próximo do espectro eletromagnético (NIR, 700-900 nm), intervalo cujos fótons são capazes de penetrar profundamente no tecido biológico, devido à baixa capacidade de absorção das moléculas de água nesta janela. É sabido, também, que neste regime a radiação interage com o tecido predominantemente de forma elástica. Fótons experimentam múltiplos eventos de espalhamento enquanto se propagam aleatoriamente pelo meio, de forma que o comportamento de muitos fótons pode ser modelado como um processo de difusão. Hoje, sabe-se que grande parte dos múltiplos espalhamentos vem dos glóbulos vermelhos presentes no sangue. Estes estudos motivaram o início de uma área de pesquisa conhecida como óptica de difusão, que visa estudar a propagação da luz em meios turvos.

Atualmente existem metodologias ópticas bem estabelecidas que vem sendo comumente empregadas na caracterização do tecido biológico, geralmente conhecidas como espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) ou espectroscopia óptica de difusão (DOS). A partir do uso desta “janela óptica” é possível investigar a fisiologia do tecido na ordem de milímetros até centímetros abaixo da superfície. DOS é geralmente o

termo utilizado na literatura quando se utiliza a teoria de difusão de fótons para extrair informações sobre os valores absolutos de absorção e espalhamento do meio, enquanto que NIRS tem sido tipicamente utilizado para determinar variações no coeficiente de absorção, supondo que o coeficiente de espalhamento é constante.

Estas técnicas de espectroscopia óptica tem como ponto de partida a análise de medidas de refletância. A luz é injetada no tecido via uma fibra óptica fixada na região de interesse e acoplada a uma fonte de luz. Após múltiplos eventos de espalhamento e absorção, parte do sinal é detectado a uma distância determinada da fonte. O sinal obtido depende de como os fótons se propagam pelo meio, que por sua vez é função das propriedades ópticas do mesmo. Assim, o intuito é relacionar o sinal medido com a teoria de difusão, a fim de reconstruir as propriedades ópticas que geram as variações na intensidade da luz registrada.

De um ponto de vista experimental, a técnica DOS é pré-determinada pelo tipo de fonte utilizado (Figura 1.1). Neste trabalho foram empregadas fontes moduladas na amplitude, conhecido como método no domínio da frequência (FD) [2–5]. Neste procedimento a amplitude da fonte de luz é modulada de forma sinusoidal em uma frequência angular $\omega = 2\pi f$ (neste caso $f=110$ MHz) e detectada a uma distância fixa (distância fonte-detector), podendo-se medir tanto a fase quanto amplitude da luz espalhada. Assim, com estas informações é possível calcular os valores absolutos das propriedades ópticas do meio. Também há a opção de usar uma fonte pulsada de curta duração (TRS), que é o método no domínio do tempo. Neste caso a informação é obtida através do alargamento do sinal registrado após o envio de pulsos curtos de luz no meio. É possível também com este método (TRS) calcular os valores absolutos das propriedades ópticas; no entanto, este método é o mais complexo e caro no que se refere à instrumentação [6–11].

Na técnica NIRS as fontes utilizadas são fontes com intensidade contínua (CW). Este tipo de fonte é mais simples dos três tipos apresentados aqui, pois a amplitude se mantém constante no tempo [12–15]. Desta forma, este método possibilita rápida aquisição de dados, o uso de detectores simples e eletrônica básica. Entretanto, os valores absolutos de absorção e espalhamento não podem ser determinados a partir de uma medida entre pares fonte-detector em CW.

Como mencionado anteriormente, esta dissertação tem como objetivo utilizar a técnica DOS e o método FD para obter valores absolutos das propriedades ópticas do tecido (cérebro e músculo) no estado basal e em uma situação fora do repouso. Para este último caso, foi monitorada uma cirurgia cardiovascular conhecida

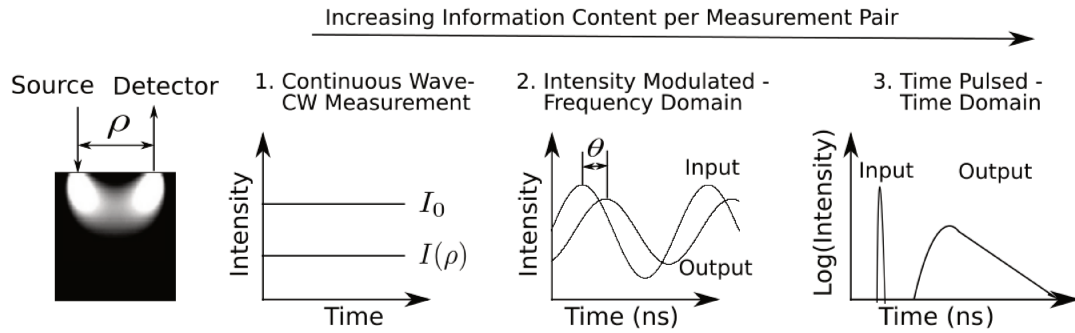


Figura 1.1: Três tipos de fontes comumente utilizadas em espectroscopia óptica. Lado esquerdo: simulação da interação dos fótons que estão conseguindo chegar ao detector que está a uma distância ρ da fonte. As figuras 1,2 e 3 representam, respectivamente, os métodos de fonte com intensidade contínua (CW), intensidade modulada (FD) e pulsos curtos de luz (TRS). Imagem tirada de [16].

como endarterectomia de carótida.

Do ponto de vista teórico faz-se necessário ter uma expressão analítica para relacionar fase e amplitude com as propriedades ópticas do tecido. Visto que a propagação dos fótons é de forma difusiva, é possível utilizar a equação de difusão para modelar tal comportamento. Para isso, é necessário definir uma geometria ao tecido. No método FD, a aproximação mais utilizada na literatura tem sido a de um meio semi-infinito (SI) homogêneo, já que neste caso é possível encontrar expressões analíticas simples para a fluência. Contudo, é possível que o modelo SI subestime ou superestime as propriedades ópticas do tecido sob estudo, pois esta suposta homogeneidade impossibilita a distinção entre as informações superficiais e internas. Além disso, os tecidos biológicos não possuem características homogêneas, o que motiva o estudo de modelos mais complexos que possuam geometrias mais realísticas. Numa segunda aproximação [17], os tecidos podem ser divididos em duas camadas. Na cabeça, por exemplo, a camada superficial representaria o escalpo, crânio, fluido cúbico-espinal e etc, e a camada interna representaria o cérebro. No braço, a camada superficial seria constituída pela pele e a camada interna pelos músculos.

Nesta dissertação foi utilizado o modelo de duas camadas (DC) com a finalidade de separar informações superficiais de informações internas nos tecidos (especialmente o cérebro). Desta forma, foi possível compará-lo com o desempenho do modelo SI, a fim de caracterizar a validade e eficiência deste último.

Assim, no capítulo 2, este trabalho começa com uma descrição do processo físico envolvido na absorção e espalhamento da luz no infravermelho por diferentes componentes de todos os tecidos biológicos. No capítulo

3 introduzimos o formalismo da propagação da luz em tecidos biológicos e revisaremos a parte de modelagem desde a equação de difusão, passando pelas condições de contorno, e solucionando o problema para meio semi-infinito e o meio de duas camadas. Além disso, se mostrará como a partir dos modelos SI e de DC são calculadas as propriedades ópticas. O capítulo 4 está relacionado com a instrumentação óptica, no qual é feita uma breve descrição do equipamento no domínio da frequência, e uma parte relacionada à calibração devido às perdas por acoplamento e/ou sensibilidades dos detectores de luz. No capítulo 5 está a parte final com resultados experimentais em tecidos biológicos, onde testaremos os modelos SI e de DC em duas situações diferentes: a primeira para calcular os valores absolutos das propriedades ópticas no estado basal, e a segunda no caso de variações hemodinâmicas. Por fim, o capítulo 6 resume os principais resultados encontrados e aporta perspectivas futuras nesta área de pesquisa.

Capítulo 2

Absorção e espalhamento da luz nos tecidos biológicos

2.1 Absorção da luz

Do ponto de vista clássico, quando a radiação eletromagnética está incidindo na matéria composta de cargas discretas, as cargas são forçadas a oscilar na frequência do campo elétrico incidente. Assim, se as frequências naturais de oscilação dos átomos ou moléculas que compõem o sistema são comparáveis com as frequências de oscilação da radiação incidente ocorrerá ressonância e, portanto, energia do campo incidente é transferida ao sistema incrementando-lhe a amplitude de vibração. Embora o tempo de vida desse estado excitado seja de ao redor de 10^{-7} a 10^{-10} segundos, os átomos ou moléculas usualmente perdem sua energia por colisões com outras partículas dentro de 10^{-12} segundos [18]. Por isso, na sua maioria a energia do campo é dissipada como calor dentro do meio. Este processo é conhecido como absorção.

Desta forma cada partícula, seja átomo ou molécula, terá um aumento na sua energia cinética. O efeito total destas pequenas perdas resulta na atenuação da intensidade da luz quando ela interage com algum sistema¹. Este fenômeno já foi estudado, no caso de um meio puramente absorvedor (ideal), por Bouguer em 1729 [19], e em 1760 por Lambert [20]. Eles consideram que a variação da intensidade ΔI é proporcional ao

¹Por conservação da energia.

caminho percorrido pelo feixe dx e à intensidade inicial I :

$$\Delta I \propto I dx, \tag{2.1}$$

onde a constante de proporcionalidade é conhecida como coeficiente de absorção μ_a . Em 1852, Beer determinou empiricamente que o coeficiente de absorção de um composto é linearmente relacionado com a sua concentração C diluída num meio não absorvedor [21]

$$\mu_a = \sum_i \epsilon_i C_i. \tag{2.2}$$

Por outra parte, integrando a equação 2.1, e combinando com a equação 2.2, obtemos a conhecida lei de Beer-Lambert

$$\sum_i \epsilon_i C_i = -\frac{\ln(I(x)/I_0)}{x}. \tag{2.3}$$

A lei de Beer-Lambert é válida só sob certas condições limites: 1) a luz que entra no meio deve ser monocromática e colimada, e; 2) o meio deve ser puramente e uniformemente absorvedor. Portanto, certos erros surgem quando se aplica a lei às medidas espectroscópicas. Além disto, para meios que espalham fortemente se fazem necessárias modificações da lei de Beer-Lambert, ou uso de outros modelos tais como a aproximação de difusão.

Nos tecidos biológicos há vários compostos que absorvem radiação, conhecidos amplamente como os cromóforos do tecido, e cada um deles tem seu próprio espectro. Como foi expressado na equação 2.2, a absorção total depende da mistura dos diferentes compostos e é igual à soma de seus coeficientes de absorção individuais, modulados por suas concentrações. Portanto, podemos aproximar o tecido como se fosse uma mistura homogênea de compostos. A absorção global de luz no tecido em certo comprimento de onda depende do tipo e da concentração do cromóforo presente. Na seção seguinte se discutirá os cromóforos presentes nos tecidos biológicos e seu espectro de absorção no infravermelho próximo.

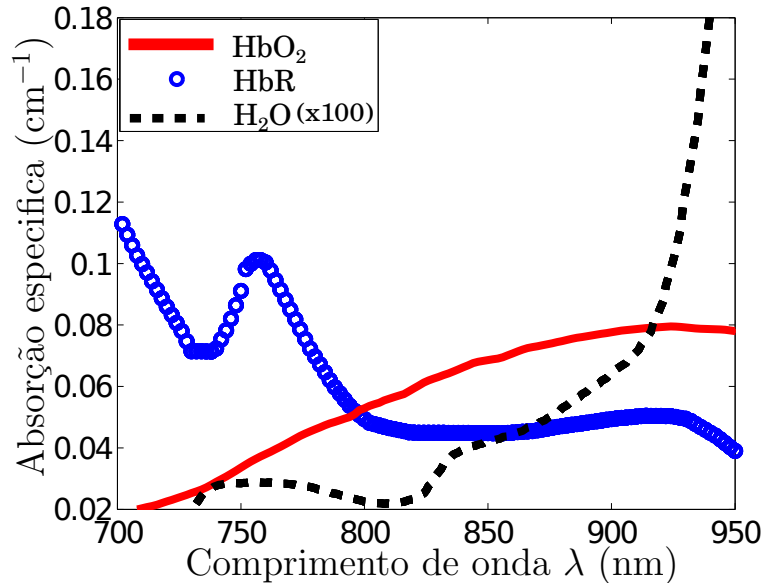


Figura 2.1: Espectro de absorção da oxi-hemoglobina (HbO₂), deoxi-hemoglobina (HbR), e da água (H₂O) no tecido. No infravermelho próximo a absorção da água é relativamente baixa, permitindo a luz penetrar no tecido.

2.1.1 Água

A água é a mais abundante substância química no corpo humano, sendo cerca de 60 a 80 % da massa total do corpo [22]. O volume da água varia com o tipo de tecido, com a idade e com o gênero. Por exemplo, o cérebro de um recém nascido compreende ~ 90 % de água por massa, enquanto o volume de água no músculo esquelético de um adulto é ao redor de 74 % [23]. Porque possui alta concentração na maioria de tecidos, a água é considerada um dos mais importantes cromóforos em medidas espectroscópicas do tecido.

O espectro de absorção da água é mostrado na figura 2.1. Entre ~ 700 nm e 900 nm existe uma região relativa de baixa absorção. Acima de 900 nm o coeficiente de absorção aumenta rapidamente. Esta região de baixa absorção atua como uma “janela óptica” de transparência, compreendida no espectro eletromagnético como a região do infravermelho próximo, permitindo medidas de espectroscopia através de vários centímetros.

2.1.2 Hemoglobina

Dentro da janela de transparência da água, o principal absorvedor de luz no infravermelho próximo no tecido é a hemoglobina em suas diferentes formas. A hemoglobina é levada por células vermelhas, ou

eritrócitos, e constituem aproximadamente por 40-45 % de todo o sangue. São responsáveis pela liberação de oxigênio dos pulmões ao tecido do corpo e retornar o lixo gasoso, tal como dióxido de carbono, aos pulmões para ser exalado. A hemoglobina é composta pela proteína globina ligada a quatro grupos hemo; cada grupo hemo contém um átomo de ferro no centro do anel da estrutura. Um átomo de ferro (Fe^{2+}) se unirá fisicamente a uma molécula de oxigênio para se tornar oxigenada. Assim, uma molécula de hemoglobina com seus quatro centros de ferro pode levar um total de quatro moléculas de oxigênio; nesse caso se diz que é 100 % saturada. No estado oxigenado, a hemoglobina é conhecida como oxi-hemoglobina (HbO_2). A forma desoxigenada, sem moléculas de oxigênio unidas, é conhecida como deoxi-hemoglobina (HbR).

Os espectros da absorção específica da oxi e da deoxi-hemoglobina, mostrado na figura 2.1, diferem significativamente, particularmente na região do visível e do infravermelho próximo. Esta diferença na absorção explica a diferença da cor visível entre as veias e o sangue arterial. O sangue arterial em adultos saudáveis é usualmente cerca de 98 % saturado de oxigênio, é de cor vermelha brilhante, enquanto o sangue nas veias é aproximadamente 75 % saturado, aparece vermelho escuro na cor.

2.1.3 Lipídios

A maioria dos lipídios que existem no corpo estão presentes em forma de triglicerídios (gorduras neutras) e se encontra em tecidos subcutâneos e ao redor de órgãos internos. Fosfolipídios, outro grupo de lipídios, são os mais importantes componentes da membrana celular e assim encontrados em todos órgãos no corpo.

A importância dos lipídios como um cromóforo no infravermelho próximo depende do tecido sob estudo. Se a quantidade de água é muito maior que a quantidade de lipídios como no cérebro, a absorção devida aos lipídios pode ser insignificante [23]. No entanto, no braço o volume é altamente variável, dependendo do raio do tecido gordura-músculo [24]; neste caso a absorção dos lipídios pode ser significativa em medidas espectroscópicas na região do infravermelho próximo.

2.2 Espalhamento da luz

Independentemente do tipo de espalhadores, a física subjacente ao espalhamento é a mesma para todos os sistemas. A matéria é composta de cargas discretas, que quando são iluminadas por uma onda eletromagnética

são forçadas a entrar num movimento oscilatório dado pelo campo elétrico incidente. Classicamente as cargas elétricas aceleradas irradiarão em todas as direções. Estas mudanças de direção ocorrem fora das frequências naturais do sistema que foi perturbado. Por isso, as amplitudes forçadas de vibração das partículas são muito menores do que quando estão em ressonância, e fazendo com que a probabilidade de colisão e transferência de energia em forma de calor seja menos provável.

Várias teorias tem sido desenvolvidas para descrever o espalhamento de luz por partículas com diferentes formas e tamanhos. Em geral, estas caem dentro de duas categorias: teorias de espalhamento simples e de espalhamentos múltiplos. Neste ponto, se faz necessário uma distinção entre um espalhamento independente de um espalhamento simples, para evitar interpretações errôneas. Para isso, pensemos no seguinte: um feixe de luz pode ser espalhado por inúmeras partículas de diferentes formas :

- Espalhamento simples: a onda é espalhada uma única vez por uma única partícula.

- Espalhamento acoplado simples: envolve inúmeras partículas; neste caso, se a distância entre partículas é menor do que o comprimento de onda (meio denso), um fóton será espalhado ao mesmo tempo por várias partículas.

- Espalhamentos independentes: é o espalhamento devido a uma única partícula, e não é afetado pelas partículas nas vizinhanças. Mas a onda pode ser espalhada muitas vezes envolvendo muitos espalhamentos simples (i.e, por uma única partícula).

- Múltiplos espalhamentos: pode ser nas duas vias seguintes:
 - I. Múltiplos espalhamentos acoplados simples.
 - II. Múltiplos espalhamentos independentes.

Na teoria de espalhamento simples, é assumida que a separação das partículas é suficientemente grande, ou o número de partículas no meio é suficientemente pequeno (meio tênue), de tal forma que a amplitude da onda espalhada devido a todas as partículas é pequena comparada à amplitude da onda incidente ([25], [18]).

Macroscopicamente, o espalhamento pode ser caracterizado pelo coeficiente de espalhamento (μ_s). Uma definição estatística conveniente para μ_s é a probabilidade do fóton ter um evento de espalhamento após

percorrer uma distância unitária. Para um meio que contém muitas partículas espalhadoras com número de densidade N_s^x , o coeficiente pode ser considerado como a seção de choque total para espalhamento por unidade de volume:

$$\mu_s = \sum_{i=0}^M N_s^i \sigma_s^i, \quad (2.4)$$

onde a soma é feita sobre o número de partículas diferentes (M), e σ_s^i é a seção de choque individual da partícula i com densidade de número N_s^i . Deve-se ter em mente que estamos considerando o espalhamento simples e que a relação expressa na equação 2.4 é válida só para um meio que contém múltiplas partículas, e as interações onda-partículas só envolvem espalhamentos simples.

Meios biológicos iluminados por luz no NIR são somente um exemplo no qual múltiplos espalhamentos não podem ser ignorados. Portanto, algumas outras definições muito usadas devem ser introduzidas. No encontro de uma partícula num meio homogêneo, os fótons viajam numa direção $\hat{\Omega}$ e são espalhados na direção $\hat{\Omega}'$. A nova direção geralmente não ocorrerá com igual probabilidade e pode ser descrita pelo coeficiente de espalhamento diferencial, $\frac{d\mu_s(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}')}{d\Omega}$. Integrando sobre todos os ângulos

$$\mu_s = \int_{4\pi} d\mu_s(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}') d\hat{\Omega}'. \quad (2.5)$$

Aqui é assumido que a onda incidente não é polarizada, e que o coeficiente de espalhamento é independente da direção original ($\hat{\Omega}$) do vetor de onda, dependendo só do ângulo de espalhamento, θ . Isto é verdade se o meio é isotrópico ou a orientação das partículas é aleatória (num meio que não é tênue). A função de espalhamento de fase P é a versão normalizada do coeficiente de espalhamento:

$$\int_{4\pi} P(\Omega, \Omega') d\Omega' = \int_{4\pi} \frac{1}{\mu_s} \frac{d\mu_s(\Omega, \Omega')}{d\Omega'} d\Omega' = 1. \quad (2.6)$$

A média do cosseno do ângulo de espalhamento θ é o fator de anisotropia

$$g = \langle \cos \theta \rangle = \int_{4\pi} P(\theta) \cos \theta d\Omega. \quad (2.7)$$

Para uma partícula que espalha luz isotropicamente (i.e, com igual probabilidade em todas as direções), o fator de anisotropia (g) é zero. Se o espalhamento é simétrico com relação ao ângulo de espalhamento de 90° (um exemplo é o espalhamento Rayleigh). Se as partículas espalham mais na direção frontal, $\theta = 0^\circ$ (como no caso dos tecidos biológicos), g é positiva. E g é negativa se o espalhamento é mais provável na direção oposta, $\theta = 180^\circ$. Combinando o coeficiente de espalhamento e o fator de anisotropia obtemos o coeficiente de espalhamento reduzido:

$$\mu'_s = (1 - g)\mu_s \quad (2.8)$$

2.2.1 Espalhamento Rayleigh

Absorção e espalhamento simples por partículas esféricas de diferentes tamanhos e índices de refração tem sido descritos exatamente pela teoria de Mie [26]. A teoria de Mie é baseada em soluções formais das equações de Maxwell para esferas homogêneas com as condições de contorno apropriadas [27], nos quais o limite de pequenas partículas se reduz à solução relativamente simples do espalhamento Rayleigh (Figura 2.2). As condições de validade da aproximação de Rayleigh (AR) são: $x \ll 1$ e $n_r x \ll 1$, onde $x = \frac{2\pi d}{\lambda}$, e d é a dimensão do eixo semi-maior da partícula, λ é o comprimento de onda da luz incidente, e n_r é o índice de refração relativo.

Stevenson [29] mostrou que se pode encontrar a AR expandindo o campo elétrico interno e espalhado em potências do parâmetro de tamanho x considerando o primeiro termo da expansão. Também se pode chegar a esta aproximação partindo da solução exata de Mie para pequenas partículas, que no final de contas explica o fato de ser uma aproximação estática para o campo [18]. O aspecto mais importante desta aproximação é a dependência com o comprimento de onda da intensidade da luz espalhada, a qual varia com o inverso da quarta potência do comprimento de onda [28].

2.2.2 Espalhamento Mie

Como já foi mencionado, a teoria de Mie é uma solução exata para as equações de Maxwell, considerando uma onda eletromagnética plana e monocromática espalhada por uma esfera homogênea de raio a e índice

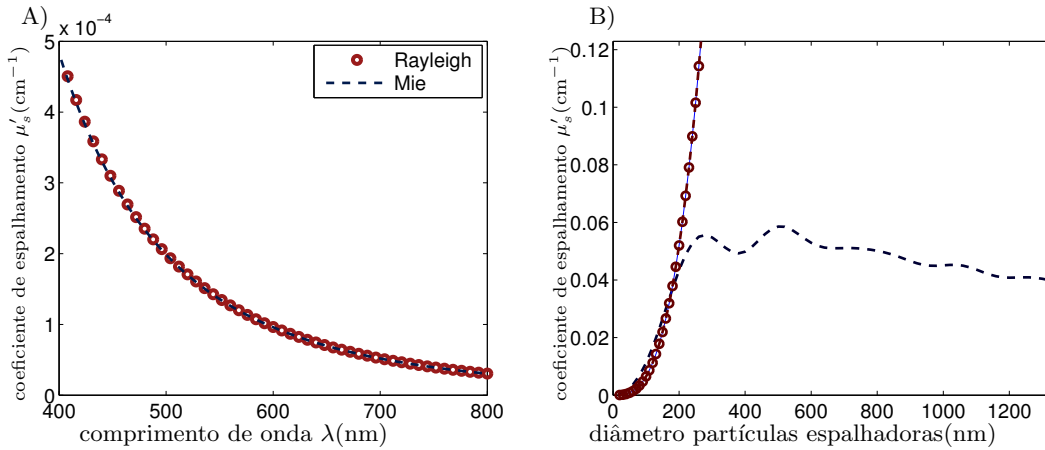


Figura 2.2: A) μ_s versus comprimento de onda, na região NIR, e diâmetro da partícula $d = 20 \text{ nm} \ll \lambda$; B) μ_s versus diâmetro das partículas espalhadoras, num comprimento de onda $\lambda = 700 \text{ nm}$. Com estes gráficos é possível notar os limites de validade das AR e da teoria de Mie.

de refração n . Aqui é importante lembrar que a teoria de Mie é válida para o espalhamento simples, ou seja, para partículas isoladas e esféricas, o que está longe de ser o caso no tecido, onde as partículas nem são esféricas nem são homogêneas. No entanto, não existem muitas opções com a relativa simplicidade como a que oferece a teoria de Mie.

A teoria de Mie prediz um comportamento como uma lei de potência para o espalhamento, informação que é usada para fitar dados experimentais e relacionar com o tamanho das partículas espalhadoras [34]

$$\mu'_s(\lambda, \mathbf{r}) = A(\mathbf{r})\lambda^{-b(\mathbf{r})}. \quad (2.9)$$

Aqui, $A(\mathbf{r})$ é chamado de pré-fator de espalhamento, e $b(\mathbf{r})$ é chamado de potência de espalhamento e está relacionado ao tamanho e densidade das partículas espalhadoras, índice de refração dos centros espalhadores e do meio (que, na média, normalmente é conhecido ou pressuposto com anterioridade).

2.3 Espalhamento simples da luz nos tecidos

No tecido biológico, o espalhamento é devido à heterogeneidade espacial do índice de refração, que depende da concentração e tipo de constituintes. Há várias estruturas tais como organelas e matrizes celulares que dão as distribuições espaciais de heterogeneidade do índice de refração e podem afetar a propagação da luz

no tecido, incluindo polarização ou características angulares da luz espalhada emergindo do meio. De fato, estruturas teciduais e o índice de refração estão interligados. Uma relação simples que expressa um índice de refração n em termos da densidade molecular local [30]:

$$n = n_0 + \alpha\rho, \quad (2.10)$$

onde n_0 é o índice de refração do meio líquido (no caso da água, ~ 1.3), ρ é a fração de tecido sólido por volume, e α é um coeficiente de proporcionalidade. Quase todas essas quantidades dependem do comprimento de onda da luz. ρ quantifica a fração de volume local ocupado por tecido sólido tais como proteínas, DNA, RNA, lipídios, etc., e pode variar de 0 a 1; $\rho = 1$ se o meio não contém água, e $\rho = 0$ se o meio é somente água ou fluido. Muitos estudos concordam que α oscila entre 0.17 e 0.2 [30]. Embora a equação 2.10 tem sido amplamente aceita e freqüentemente usada, tem sido rigorosamente verificada só para baixas concentrações. Apesar deste fato, tem sido usada para grandes valores de ρ . Em princípio, qualquer estrutura ou obstáculo de algum tamanho ou forma pode resultar em espalhamento de luz. No entanto, estruturas comparáveis ao comprimento de onda da luz são as principais causas do espalhamento. Nesse sentido, para entender como a luz é espalhada no tecido biológico é de grande ajuda estudar as estruturas responsáveis pelo espalhamento na ordem microscópica, ou seja, a um nível celular ou sub-celular.

- **Glóbulos vermelhos:** A forma normal dos glóbulos vermelhos (eritrócitos) é um disco bi-côncavo; não há estruturas internas, organelas ou estruturas de apoio em eritrócitos maduros. Assim a forma bi-côncava é devido à variedade de outros fatores como constituição química e molecular, e as propriedades da membrana e da pressão osmótica. O diâmetro do eritrócito é aproximadamente $7 \mu\text{m}$ e sua largura varia de $1 \mu\text{m}$ a $2 \mu\text{m}$ próximo dos eixos. A célula consiste de moléculas de hemoglobina empacotadas numa delgada membrana. A principal função dos eritrócitos é de absorver e liberar oxigênio e dióxido de carbono na superfície da célula. Sob condições normais, há aproximadamente 5×10^6 eritrócitos por mm^3 . Aproximadamente 40 % do volume de todo o sangue é composto por eritrócitos; os 60 % restantes é composto por uma solução quase transparente de água e sal com uma variedade de eletrólitos e moléculas protéicas. Ross (1967) e Guy (1972) determinaram o índice de refração dos eritrócitos como 1.4, e do plasma sanguíneo como 1.34 [32, 33].

- **Células:** Células variam bastante em forma e tamanho e são comumente ao redor de $10\ \mu\text{m}$ em diâmetro ou mais. Células musculares podem ser de uns poucos centímetros, e células nervosas podem chegar a 1 m de comprimento. As características mais importantes de uma célula incluem uma bi-camada fosfolipídica da ordem de 7 nm de largura com proteínas periféricas incrustadas nela. No citoplasma há vários tipos de pequenas estruturas chamadas de organelas, as quais carregam funções metabólicas específicas. Dentro das principais organelas estão:
 - **Núcleo:** Núcleo é a maior organela na célula. Frequentemente tem uma forma esférica, o tamanho típico é de $5\text{-}10\ \mu\text{m}$, embora isso possa variar ao longo de diferentes tipos de células. A maior parte do núcleo é cromatina; existem dois tipos de cromatina dependendo se o DNA é ativo ou inativo. No primeiro caso é conhecida como eucromatina e pode-se expressar como proteína e enzima; no segundo caso é heterocromatina e que parece ter funções estruturais durante o ciclo celular. Heterocromatina aparece mais escura em imagens de microscopia eletrônica e é fácil assumir que é mais densa do que a eucromatina.
 - **Nucléolo:** O nucléolo está incluso no núcleo e é o responsável pela transcrição ribossomal (RNA) e o ensemble ribossomal. Tem um tamanho de 0.5 a $1\ \mu\text{m}$, e de acordo com alguns estudos de microscopia, o nucléolo é mais denso que o resto do núcleo. De fato, é a estrutura mais densa na célula, provavelmente 50 % do seu volume é ocupado por macro-moléculas ($\rho \sim 50\ \%$ e $n \sim 1.42$).
 - **Mitocôndria:** É aproximadamente de $1\text{-}4\ \mu\text{m}$ por $0.3\text{-}0.5\ \mu\text{m}$ em tamanho [31]. Estão rodeadas por uma bi-camada de membrana semelhante com as outras membranas externas da célula. A elasticidade mecânica da mitocôndria garante que no tecido vivo elas estejam em constante movimento e possam facilmente mudar a sua forma. A mitocôndria tem uma alta concentração de membranas ($\rho \sim 30\ \%$), portanto tem um índice de refração relativamente alto ($n \sim 1.39$) e comporta-se como um poderoso espalhador da luz.
 - **Aparato de Golgi:** É uma outra organela importante. A espessura geral é ao redor de 0.1 a $0.4\ \mu\text{m}$. A densidade dentro destas organelas tem sido pouco estudada, mas se especula que estas organelas sejam menos densas do que a mitocôndria.

Mourant *et al.* (1998) [34] estudaram uma suspensão de células mamárias com o intuito de determinar os centros espalhadores dominantes no tecido. Comparando suas medidas de μ'_s e g a partir da teoria de transporte com as predições da teoria de Mie, observaram que o espalhamento foi devido a partículas com diâmetros no intervalo de 0.2 a 1 μm . Também mediram a função de fase de núcleos e mitocôndrias isoladas e compararam com a função de fase da célula, concluindo que o espalhamento em pequenos ângulos é devido majoritariamente aos núcleos e aos ângulos maiores é devido a pequenas organelas tais como as mitocôndrias. Nilson *et al.* (1998) [35] mediram μ'_s e g para tecido hepático, usando a técnica conhecida como *integrating sphere* e estimando o tamanho do centro espalhador baseado na dependência de μ'_s com o comprimento de onda da luz e no valor de g . Eles ([35]) não consideraram os efeitos da distribuição de tamanhos e calcularam o raio médio para as partículas espalhadoras como 0.31 μm (proveniente das medidas de g) e 0.29 μm (da dependência de μ'_s com o comprimento de onda). Esse tamanho é consistente com que seja a mitocôndria o principal centro espalhador.

Além disso, Beauvoit e Chance (1998) [36] estimaram que a mitocôndria é responsável por aproximadamente 73 % do espalhamento total observado de uma suspensão de hepatócitos. Baseado no conteúdo mitocondrial do tecido hepático, eles ([36]) determinaram que μ'_s devido à mitocôndria foi muito próximo ao μ'_s calculado no tecido todo. Eles sugerem portanto que a mitocôndria é o compartimento dominante que espalha no tecido hepático.

Por uma segunda abordagem, Beuthan *et al.* (1996) [37] tem estudado variações do índice de refração na célula usando uma técnica que chama-se de microscopia de fase, que relaciona o deslocamento da fase $\Delta\varphi$ de uma onda incidente (relativo a seu comprimento de onda) passando através de uma amostra com a diferença no índice de refração Δn entre a amostra e o meio externo. A mais importante conclusão de Beuthan *et al.* (1996) é que só o núcleo e a membrana mostram uma visível diferença de fase [37], que pode estar associada com uma distribuição de centros espalhadores na célula com tamanhos entre 0.2 a 2 μm [38].

Por outro lado, os centros espalhadores primários no sangue são os eritrócitos [39]. Devido à descontinuidade no índice de refração entre os eritrócitos e seu contorno, o plasma (cerca de 1.4 a 1.35 [32]), as moléculas de hemoglobina são aproximadamente 97 % do sólido contido nos eritrócitos. Espalhamento por um simples eritrócito não é simples de modelar. Contudo, a teoria de Mie tem sido empregada independente

das dificuldades relacionadas à sua forma irregular. Apesar disto, os eritrócitos tem sido modelados dentro de suspensões salinas e se tem encontrado valores para o parâmetro de anisotropia g maiores do que 0.95 [39], indicando que o espalhamento é mais provável na direção frontal.

Além disto, existem muitos sistemas para os quais a aproximação de espalhamento simples não é válida e múltiplos espalhamentos passam a ter o papel principal. Este problema tem sido estudado em múltiplas ramificações. É usualmente chamado de problema da teoria de transporte radiativo, o qual será abordado no capítulo seguinte.

Capítulo 3

Propagação da luz em meios turvos

Até o momento tem sido discutido conceitos tais como absorção e espalhamento, e os componentes no tecido responsáveis por estas interações. Nesta seção se discutirá os modelos que são frequentemente usados para descrever a propagação da luz em meios turvos tais como o tecido.

3.1 Equação de transferência radiativa

As características de uma onda após ter experimentado múltiplos espalhamentos tem sido abordadas, principalmente, por duas teorias distintas. Uma pode ser chamada de teoria analítica e a outra, por teoria de transporte.

Segundo Ishimaru [25], a teoria analítica tem como ponto de partida as equações de Maxwell ou a equação de onda, introduzindo-se características das partículas em certo meio, tais como absorção e espalhamento, e obtendo-se equações integrais ou diferenciais para grandezas estatísticas tais como variância e funções de correlação.

Esta teoria, em principio, é suficientemente rigorosa, capaz de considerar propriedades ondulatórias, tais como difração, interferência e múltiplos espalhamentos. No entanto, na prática é muito complicado obter uma formulação que inclua completamente todos estes efeitos. Mesmo assim, esta abordagem tem sido feita com intervalos específicos dos parâmetros levando a soluções somente aproximadas [25].

A teoria de transporte, por outro lado, não começa com a equação de onda. Ela trata primeiro do

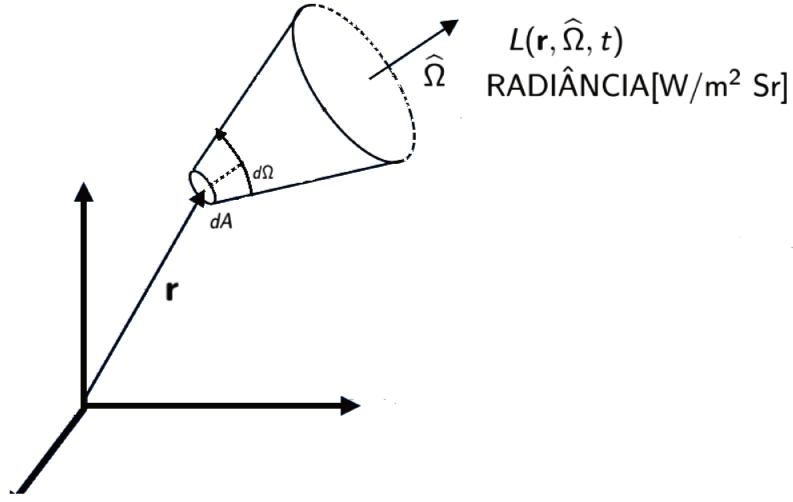


Figura 3.1: Gráfico representativo do cone com base menor dA localizado na posição \mathbf{r} e abertura $d\hat{\Omega}$, centrado na direção $\hat{\Omega}$. Potência que passa através deste cone define a radiância.

transporte de energia através de um meio que contém as partículas. Nesta formulação, os efeitos de difração e de interferência entre as ondas espalhadas não são levados em conta. Também se assume que não há correlação entre os campos.

O ponto de partida para a teoria de transporte é a equação de transporte 3.1, que tem como grandeza fundamental a radiância, $L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t)$, que pode ser definida como a potência passando através de uma área dA (na posição \mathbf{r}) e um ângulo sólido $d\hat{\Omega}$ centrado na direção $\hat{\Omega}$ (Figura 3.1), com unidades de $\text{W}/\text{m}^2\text{sr}$.

A equação de transporte não é nada mais do que a conservação de radiância num certo volume unitário

$$\begin{aligned} \frac{1}{v} \frac{\partial L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t)}{\partial t} &= \nabla \cdot (L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) \hat{\Omega}) \\ &- \mu_s(\mathbf{r}) \int_{\hat{\Omega}'} L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}', t) P(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}') d\Omega' + (\mu_s(\mathbf{r}) + \mu_a(\mathbf{r})) L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) + Q(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t). \end{aligned} \quad (3.1)$$

No plano da teoria de transporte, os coeficientes de absorção e espalhamento, μ_a e μ_s , representam o inverso do caminho livre de absorção e do espalhamento, respectivamente; $P(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}')$ é a função espalhamento de fase que foi discutida na seção 2.2; o termo $Q(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t)$ representa a potência injetada dentro de um ângulo sólido centrado na direção $\hat{\Omega}$, num volume unitário em \mathbf{r} .

Mesmo sendo uma expressão aproximada para interação luz-tecido, a equação de transporte ainda é

complicada o suficiente e, na maioria dos casos, precisa ser solucionada numericamente.

Para abordar problemas práticos e de nosso interesse, no entanto, pode-se simplificar a equação acima já que os fótons da região NIR, ao interagir com os tecidos biológicos, são espalhados fortemente e a absorção é relativamente baixa. Estas condições fazem com que este processo de transporte de fótons seja de forma difusa, sendo possível usar uma equação de difusão, que é mais simples do que a equação de transporte e tem soluções analíticas mais gerais, como veremos na seguinte seção.

3.2 Equação de difusão

Quando o espalhamento é muito maior do que a absorção é considerada a **aproximação de difusão**, onde é assumido que a radiância encontra muitas partículas e é espalhada quase uniformemente em todas as direções, com uma pequena contribuição na direção $\hat{\Omega}$. De forma matemática

$$L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) = \frac{1}{4\pi} \phi(\mathbf{r}, t) + \frac{3}{4\pi} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \hat{\Omega}, \quad (3.2)$$

onde

$$\begin{aligned} \phi(\mathbf{r}, t) &= \int L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) d\Omega \quad \text{e} \\ \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) &= \int L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) \hat{\Omega} d\Omega. \end{aligned} \quad (3.3)$$

Aqui, $\phi(\mathbf{r}, t)$ é a componente isotrópica da radiância e é conhecida como a taxa de fluência ou simplesmente fluência; $\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)$ é o fluxo de fótons por unidade de área na direção $\hat{\Omega}$.

Com a aproximação de difusão expressa na equação 3.2, é possível simplificar a equação de transporte radiativo, e encontrar uma expressão mais simples em termos da fluência $\phi(\mathbf{r}, t)$ (ver apêndice A), conhecida como a equação de difusão,

$$\nabla \cdot (D(\mathbf{r}) \nabla \phi(\mathbf{r}, t)) - v\mu_a(\mathbf{r})\phi(\mathbf{r}, t) + vS(\mathbf{r}, t) = \frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t}, \quad (3.4)$$

onde $S(\mathbf{r}, t)$ é a fonte de fótons na posição \mathbf{r} num tempo t e $D \equiv v/3(\mu'_s + \mu_a) \simeq v/3\mu'_s$ é o coeficiente de difusão

fotônica, que depende do inverso do coeficiente de espalhamento reduzido μ'_s , definido como $\mu'_s \equiv (1 - g)\mu_s$, onde μ'_s está relacionado com o comprimento médio do caminho aleatório dos fótons, μ_s com o comprimento de espalhamento do fóton¹ e $g = \langle \cos\theta \rangle$ leva em conta que as colisões frontais (que diferem das colisões laterais na dispersão dos fótons); finalmente, v é a velocidade da luz no meio. A equação de difusão também é uma equação de conservação para a fluência $\phi(\mathbf{r}, t)$, onde os termos $\nabla \cdot (D(\mathbf{r})\nabla\phi(\mathbf{r}, t))$, $v\mu_a(\mathbf{r})\phi(\mathbf{r}, t)$, $S(\mathbf{r}, t)$ e $\frac{\partial\phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t}$ são respectivamente, os fótons que são espalhados e estão chegando num volume unitário, fótons sendo absorvidos, fótons criados na fonte e a variação da fluência nesse volume.

Quando introduzimos uma fonte harmônica na equação de difusão, representado por uma fonte que oscila numa frequência angular w , esperamos que a resposta para a fluência no estado estacionário seja também harmônica, isto é

$$S(\mathbf{r}, t) = M_{ac}e^{-iwt}\delta(\mathbf{r}) \qquad \phi(\mathbf{r}, t) = \phi(\mathbf{r}, w)e^{-iwt}, \qquad (3.5)$$

onde M_{ac} e $\delta(\mathbf{r})$ representam a amplitude e posição da fonte, respectivamente. $\phi(\mathbf{r}, w)$ é a transformada de Fourier de $\phi(\mathbf{r}, t)$. Nestas condições, obtemos a equação de Helmholtz,

$$\nabla^2\phi(\mathbf{r}, w) - k^2\phi(\mathbf{r}, w) = -v\frac{M_{ac}}{D}\delta(\mathbf{r}), \qquad (3.6)$$

onde

$$k^2 = \frac{v\mu_a}{D} - \frac{iw}{D}. \qquad (3.7)$$

A equação de Helmholtz prediz ondas esféricas, o que foi verificado experimentalmente encontrando que a fluência tem comportamentos semelhantes aos de uma onda [42–45]. Aqui k é o vetor de onda, que para este problema é imaginário ($k = k_r + ik_i$); com parte real k_r e parte imaginária k_i que dependem da frequência de modulação w , da velocidade v dos fótons no meio e também das propriedades ópticas, de tal forma que

¹Distância média entre espalhamentos.

$$\begin{aligned}
k_r &= \sqrt{\frac{v\mu_a}{2D}} \left[\sqrt{1 + \left(\frac{w}{v\mu_a}\right)^2} - 1 \right]^{1/2}, \\
k_i &= -\sqrt{\frac{v\mu_a}{2D}} \left[\sqrt{1 + \left(\frac{w}{v\mu_a}\right)^2} + 1 \right]^{1/2}.
\end{aligned} \tag{3.8}$$

3.3 Soluções da equação de difusão para um meio semi-infinito

As soluções da equação de Helmholtz são ondas esféricas com vetor de onda $k = k_r + ik_i$ que para o caso de um meio infinito a solução é a mais simples (apêndice B.1). A única condição de fronteira que temos neste caso é que a fluência no infinito é zero ($k_r > 0$) de forma que

$$\phi(\mathbf{r}, w) = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \frac{e^{-k_r r}}{r} e^{-ik_i r}, \tag{3.9}$$

onde $A(r) = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \frac{e^{-k_r r}}{r}$ é a amplitude e $\theta(r) = -k_i r$ é a fase da onda.

Apesar do meio infinito ter uma solução relativamente simples, não é uma boa aproximação para aplicações clínicas, onde a fonte e o detector devem ser colocados na superfície do tecido a ser examinado.

No entanto, podemos modelar a geometria ar-tecido como um meio semi-infinito com um contorno plano (interface) (Figura 3.2). De fato esta suposição para o meio é uma boa aproximação, pois as dimensões do tecido são muito maiores que as distâncias médias de propagação dos fótons antes de serem espalhados ou absorvidos pelo meio [16].

Nas subseções seguintes, se discutirá as condições de contorno mais usuais para a equação de Helmholtz na óptica biomédica quando a geometria é considerada como de meio semi-infinito.

3.3.1 Condição de contorno de fluxo parcial

Para encontrar as condições de contorno para o problema da difusão dos fótons é necessário considerar a radiância. Tendo em conta que, se na interface ($z=0$) há uma transmissão ideal (sem reflexões de Fresnel, ver figura 3.2), então a radiância $L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t)$ medida no contorno deve-se aproximar a zero quando a direção $\hat{\Omega}$ está dirigida de dentro do meio para fora. Assumir isto seria assumir que a radiância é descontínua. Esta descontinuidade claramente é uma violação da aproximação de difusão expressa na equação 3.2, na qual a

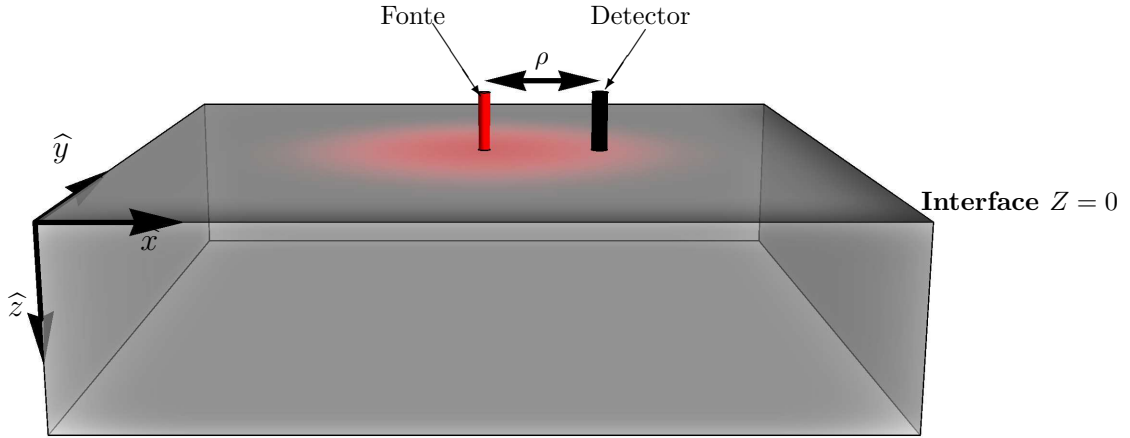


Figura 3.2: Geometria do problema ar-tecido a solucionar. Aqui a fonte é colocada na interface ($z=0$) e nesse mesmo plano são feitas as medidas de refletância (ou intensidade) a uma distância ρ da fonte. O tecido é considerado semi-infinito ($z > 0$).

radiância é assumida uniforme com uma pequena contribuição na direção do fluxo $\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)$.

A equação de difusão 3.4 envolve a fluência $\phi(\mathbf{r}, t)$, a qual é a integral da radiância sobre todos os ângulos sólidos. Então deveríamos adotar uma condição em termos da fluência no lugar da radiância. Seguindo o tratamento feito por Haskell *et al.* [47], para a condição de fluxo parcial, se considera que a energia saindo na interface é igual a integral da radiância refletida.

$$E_{irrad} = \int \int_{\hat{\Omega} \cdot \hat{n}} R_{Fresnel}(\hat{\Omega}) L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) \hat{\Omega} \cdot \hat{n} d\Omega, \quad (3.10)$$

onde $\hat{n} = -\hat{z}$ é a normal à superfície de contorno (Figura 3.3) e $R_{Fresnel}(\hat{\Omega})$ é o coeficiente de reflexão de Fresnel para a luz incidente no meio numa direção $\hat{\Omega}$. Tendo em conta os coeficientes de Fresnel para luz não polarizada [47], e com ajuda da aproximação de difusão para a radiância (ver equação 3.2):

$$E_{irrad} = \frac{\phi(\mathbf{r}, t)}{4} + \frac{j_z(\mathbf{r}, t)}{2}. \quad (3.11)$$

Integrando a radiância refletida no lado direito da equação 3.10 e com ajuda da aproximação de difusão,

$$\int \int_{\hat{\Omega} \cdot \hat{n}} R_{Fresnel}(\hat{\Omega}) L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) \hat{\Omega} \cdot \hat{n} d\Omega = R_\phi \frac{\phi}{4} - n_j \frac{j_z}{2}, \quad (3.12)$$

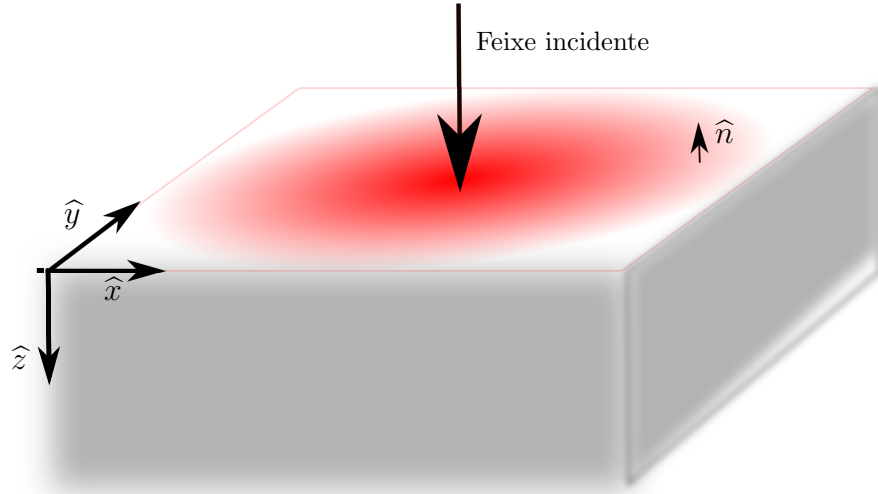


Figura 3.3: Geometria do meio semi-infinito. Aqui \hat{n} é a normal à interface saindo do meio turbidito que representa o tecido.

aqui, n_j é a componente j do vetor \hat{n} e

$$\begin{aligned}
 R_\phi &= \int_0^{\frac{\pi}{2}} 2\text{sen}(\theta)\cos(\theta)R_{Fresnel}(\theta)d\theta, \\
 R_j &= \int_0^{\frac{\pi}{2}} 3\text{sen}(\theta)\cos^2(\theta)R_{Fresnel}(\theta)d\theta.
 \end{aligned}
 \tag{3.13}$$

Então, igualando as equações 3.11 e 3.12 temos:

$$\frac{\phi}{4} + \frac{j_z}{2} = R_\phi \frac{\phi}{4} - R_j \frac{j_z}{2} \quad \text{ou} \quad \phi = \frac{1 + R_j}{1 - R_\phi} (-2j_z).
 \tag{3.14}$$

Método das imagens para a condição de fluxo parcial

A condição de contorno de fluxo parcial pode ser escrita em termos da fluência e sua derivada normal com ajuda da lei de Fick (que relaciona o fluxo com o gradiente da fluência) [51]:

$$\phi = z_b \frac{\partial \phi}{\partial z}, \quad (\text{em } z = 0)
 \tag{3.15}$$

onde

$$z_b = \frac{1 + R_{eff}}{1 - R_{eff}} 2D = \frac{1 + R_{eff}}{1 - R_{eff}} \frac{2}{3} l_{tr} \quad e \quad R_{eff} = \frac{R_\phi + R_j}{2 - R_\phi + R_j}. \quad (3.16)$$

R_{eff} é a fração da emitância que é refletida, R_ϕ e R_j definidos na seção anterior. Estas condições de contorno misturadas de Dirichlet-Neuman tem sido aplicadas à equação de transporte por vários autores [48–50].

Adicionalmente, para especificar as condições de contorno em $z=0$ devemos fazer a escolha da forma da fonte $\mathbf{S}(\mathbf{r}, t)$ na equação de difusão. Na geometria do meio semi-infinito a fonte tipicamente é um feixe de um laser incidindo sobre o meio na direção do eixo z . Os pontos nos quais o primeiro espalhamento acontece são distribuídos exponencialmente dentro do meio. E assim a fonte pode ser modelada com uma linha semi-infinita atenuada exponencialmente por $e^{-(\mu_a + \mu'_s)z}$. A função de Green (solução da equação de difusão) com a condição de contorno de fluxo parcial foi dada por Bryan [51]. Para uma fonte emitindo de um ponto em $\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0)$:

$$G(\mathbf{r}, w) = \frac{1}{4\pi} \left[\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i|} + \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_f|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_f|} - \frac{2}{z_b} \int_0^\infty e^{-l/Z_b} \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i-l|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i-l|} dl \right], \quad (3.17)$$

onde

$$\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0) \quad e \quad \mathbf{r}_i = (0, 0, -z_0). \quad (3.18)$$

Bryan [51] usou o método das imagens para construir esta função de Green, e enfatizou na seguinte interpretação dos três termos na soma que compõe a solução: o primeiro termo é o responsável pela fonte original no ponto $\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0)$, o segundo é devido a uma fonte imagem do mesmo sinal e grandeza em $\mathbf{r}_i = (0, 0, -z_0)$, e o terceiro representa uma linha contínua de sumidouro esticado de $\mathbf{r}_i = (0, 0, -z_0)$ a $\mathbf{r}_i = (0, 0, z \rightarrow -\infty)$ (Figura 3.4). O sumidouro é atenuado em amplitude de acordo com e^{-l/Z_b} , onde l é medido desde a fonte imagem. A carga líquida do sumidouro é duas vezes a carga da fonte original, mas o sinal do sumidouro é negativo.

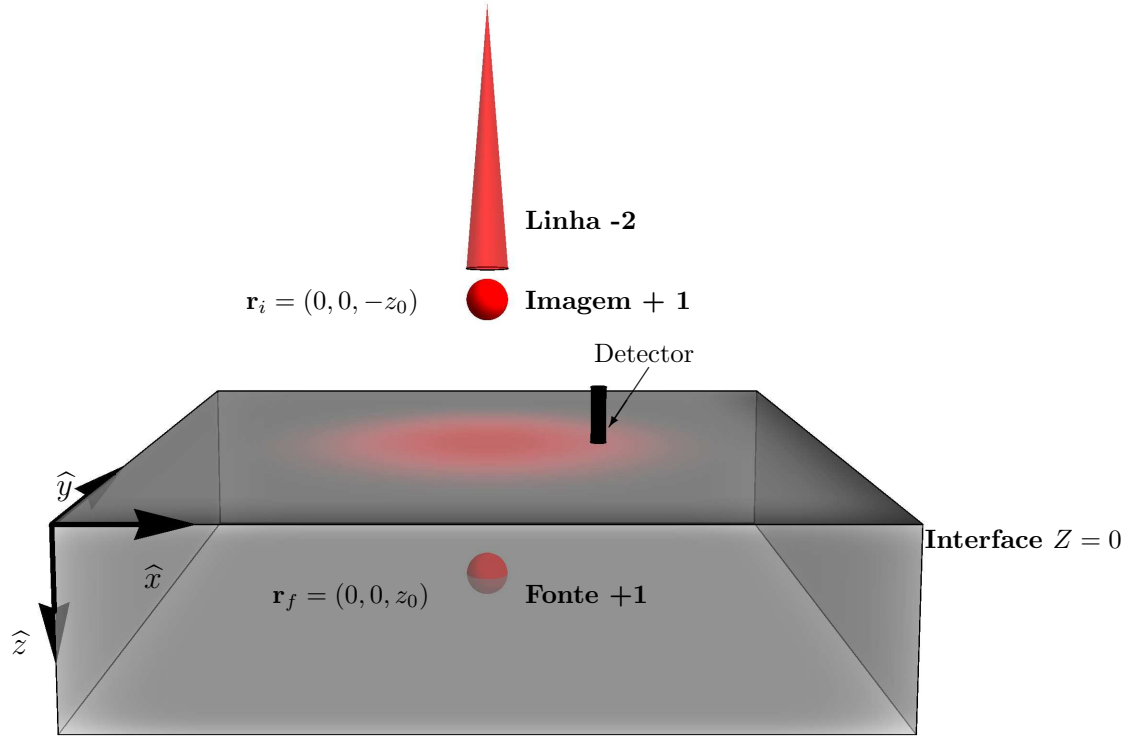


Figura 3.4: Geometria semi-infinito e configuração das imagens para a condição de contorno de fluxo de parcial.

3.3.2 Condição de contorno extrapolada

A condição de fluxo parcial, embora seja exata, computacionalmente é difícil de tratar, pois a sua função de Green envolve uma integral imprópria. Uma condição de contorno mais simples e que é uma boa aproximação da condição de fluxo parcial (como veremos mais para diante) é a condição de contorno extrapolada. Se fizermos uma expansão ao redor de $z = 0$ para a fluência e levarmos em conta os dois primeiros termos,

$$\phi(\mathbf{r}) \simeq \phi(z = 0) + \left. \frac{\partial \phi(\mathbf{r})}{\partial n} \right|_{z=0} z. \quad (3.19)$$

A expressão (3.19) permite encontrar um plano para o qual a fluência é zero com ajuda da equação 3.15 (lei de Fick), de tal forma que

$$\phi(\mathbf{r})|_{z=z_b} = 0 \quad (3.20)$$

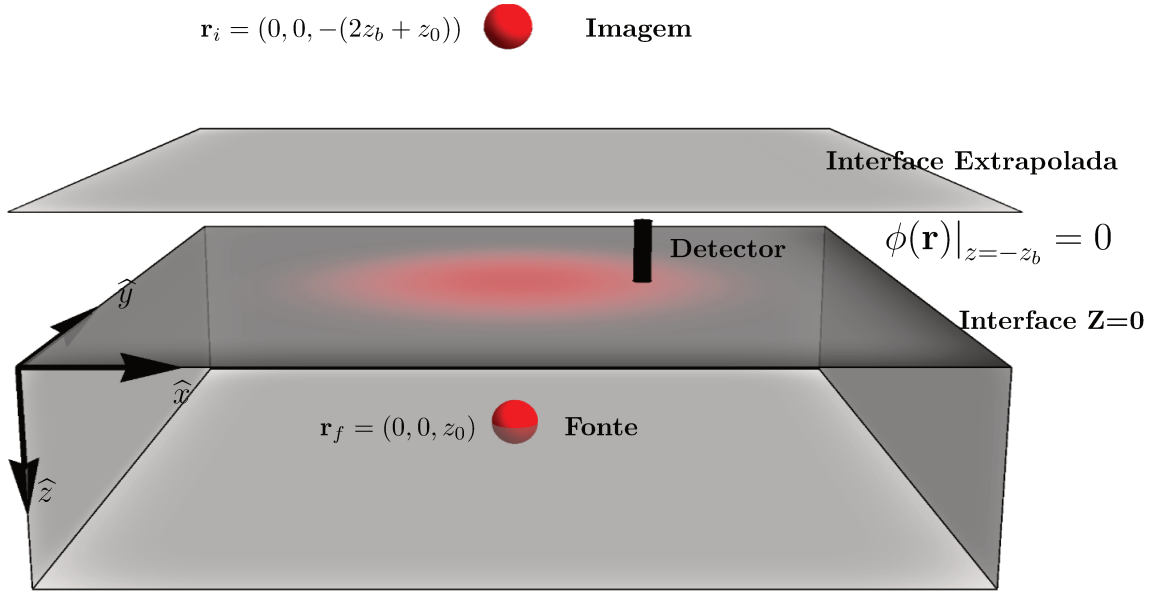


Figura 3.5: geometria para o meio semi-infinito ($z > 0$) com a condição de contorno extrapolada (plano $z = -z_b$). Neste caso, $\mathbf{r}_i = (0, 0, -(2z_b + z_0))$ e $\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0)$ são as posições das fontes em relação ao detector, respectivamente

é a condição de contorno extrapolada, onde $z = z_b \simeq 6D$ (z_b foi definido na equação 3.16) é a interface imaginária (interface extrapolada) [47] na qual a fluência é nula.

Método das imagens para a condição contorno extrapolada

Uma configuração simples que satisfaz a condição de contorno extrapolada expressa na equação 3.20 é dada por duas fontes com diferentes sinais, posicionadas simetricamente com respeito ao plano de extrapolação, como na figura 3.5. Desta forma a fonte representa todos os fótons que estão sendo espalhados dentro do meio, e foi colocada na posição $\mathbf{r}_f = (0, 0, -z_0)$ para que a quantidade de fótons que estão passando pelo plano $z = -z_b$ na direção $-z$ seja igual à quantidade de fótons que estão vindo em direção ao meio provenientes da fonte na direção z . A função de Green $G(\mathbf{r}, w)$ para a condição de contorno extrapolada representa duas fontes pontuais nas posições anteriormente mencionadas:

$$G(\mathbf{r}, w) = \frac{1}{4\pi} \left[\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i|} - \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_f|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_f|} \right], \quad (3.21)$$

com

$$\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0) \quad e \quad \mathbf{r}_i = (0, 0, -(2z_b + z_0)). \quad (3.22)$$

3.3.3 Condição de contorno zero

Além da condição de fluxo parcial e da condição de contorno extrapolada existe uma outra condição de contorno conhecida dentro da óptica de difusão que é a condição de contorno zero. Nela consideramos que a fluência na interface é zero, o que claramente viola a continuidade para a radiância na interface, mas alguns autores tem usado esta condição de contorno [52]. A função de Green de contorno zero tem a mesma estrutura funcional que a função de Green da condição de contorno extrapolada, sendo agora o ponto de simetria a interface real (ar-tecido). Desta forma,

$$G(\mathbf{r}, w) = \frac{1}{4\pi} \left[\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_i|} - \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}_f|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_f|} \right], \quad (3.23)$$

com

$$\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0) \quad e \quad \mathbf{r}_i = (0, 0, -z_0). \quad (3.24)$$

3.3.4 Comparação das três condições de contorno

É interessante comparar as funções de Green associadas com as três condições de contorno. As figuras (3.6.A) e (3.6.B) analisam a amplitude e a fase da fluência para as três funções de Green em função da frequência de modulação, e com propriedades ópticas típicas dos tecidos biológicos.

A amplitude e fase para as condições de contorno de fluxo parcial e extrapolada são quase indistinguíveis, mostrando uma diferença máxima na amplitude próximo de 0.2 % e na fase de 1.8 % (Figuras (3.7.A) e (3.7.B)), quando os coeficientes de absorção e de espalhamento são de $\mu_a = 0.05$ (1/cm) e $\mu'_s = 10$ (1/cm), respectivamente, a uma separação fonte-detector de $\rho = 2$ cm.

De forma semelhante, Haskell *et al.* [47] pesquisou diferenças entre as condições de contorno quando os

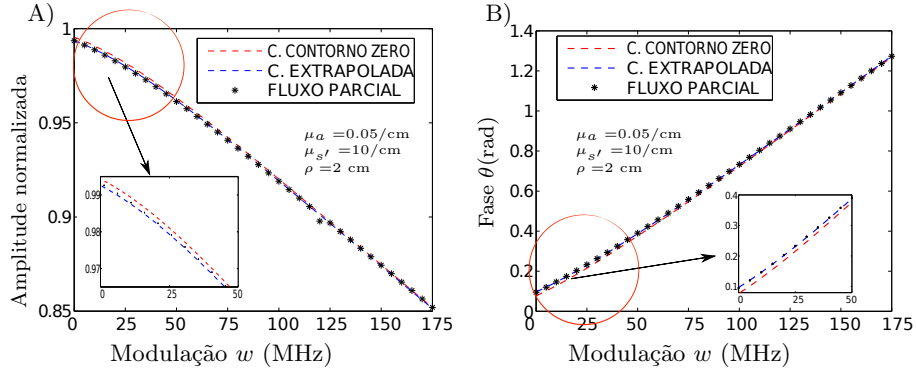


Figura 3.6: A) Amplitude e B) fase de fluência para um meio semi-infinito com três condições de contorno: Fluxo parcial, extrapolada e contorno zero. O espalhamento reduzido é de 10 (1/cm), o coeficiente de absorção é de 0.05 (1/cm), o índice de refração do meio turvo é de 1.4, e a separação fonte-detector é de 2 cm.

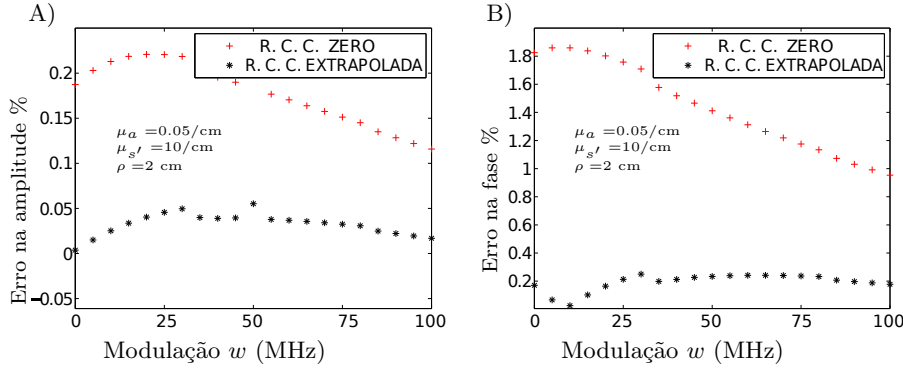


Figura 3.7: Diferença relativa percentual à condição de fluxo parcial para a A) amplitude simulada e B) fase de dados para um meio semi-infinito com três condições de contorno: fluxo parcial, extrapolada e contorno zero. O espalhamento reduzido é de 10 (1/cm), o coeficiente de absorção é de 0.05 (1/cm), o índice de refração do meio turvo é de 1.4, e a separação fonte-detector é de 2 cm.

parâmetros são variados nos seguintes intervalos: $10 \text{ (1/cm)} \leq \mu_{s'} \leq 50 \text{ (1/cm)}$, $0.03 \text{ (1/cm)} \leq \mu_a \leq 0.15 \text{ (1/cm)}$, $1.33 \leq n \leq 1.4$ (índice de refração do meio), e $1 \text{ cm} \leq \rho \leq 5 \text{ cm}$. Eles encontraram que os valores deduzidos dos parâmetros ópticos diferem por menos que 3 % quando os dados são gerados com a condição de fluxo parcial e a extrapolada, enquanto a condição de contorno zero conduz a discrepâncias maiores do que 14 %. Em todos os casos as maiores discrepâncias acontecem quando ρ é reduzido a 1 cm.

Quando variando a frequência de modulação, observamos que as maiores diferenças nas condições de contorno se dão para frequências de modulação menores que $\sim 100 \text{ MHz}$, com uma diferença máxima (por usar a condição de contorno extrapolada comparada com a exata (fluxo parcial) $\sim 25 \text{ MHz}$, como podemos observar nos gráficos 3.6 e 3.7.

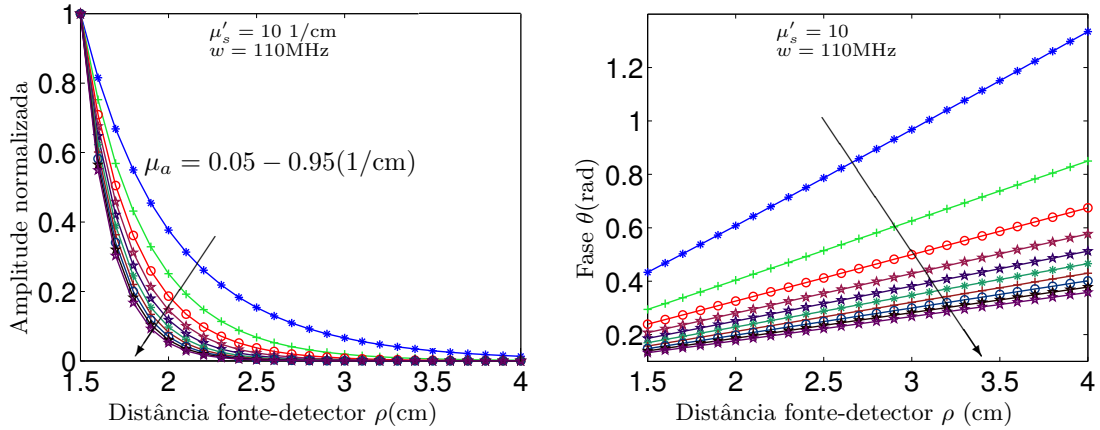


Figura 3.8: A) Amplitude e B) fase simuladas, como função da distância fonte-detector, para diferentes valores do coeficiente de absorção ($0.05 \text{ (1/cm)} \leq \mu_a \leq 0.95 \text{ (1/cm)}$), mantendo o espalhamento reduzido em 10 (1/cm) . As setas indicam a direção de incremento de μ_a , tomada em passos de 0.1 (1/cm) .

3.3.5 Amplitude e fase na condição de contorno extrapolada

Fica claro das seções precedentes que a condição de contorno zero é a menos atraente do que a de fluxo parcial e que a condição de contorno extrapolada. A condição de contorno zero viola a aproximação de difusão na interface. Além disso, seu uso no ajuste dos dados pode resultar em erros nos parâmetros ópticos de 10-15 %. Desta forma, a condição de contorno zero foi excluída de análises posteriores. Por outro lado a desvantagem da configuração de imagens na condição de fluxo parcial está no cálculo da integral imprópria, tendo um alto custo computacional. A condição de contorno extrapolada, difere em menos do que 3 % dos valores encontrados com a de fluxo parcial, e como se mostrará em seções seguintes fornece um ajuste linear (simples) para encontrar os parâmetros ópticos.

Nas figuras (3.8.A) e (3.8.B) temos a amplitude e fase do sinal como função da separação fonte-detector, com parâmetros típicos nos tecidos biológicos deixando fixo o coeficiente de espalhamento em $\mu'_s = 10 \text{ (1/cm)}$, a modulação de 110 MHz (que é a usada nas nossas medidas), e mudando a absorção entre $0.05 \text{ (1/cm)} \leq \mu_a \leq 0.95 \text{ (1/cm)}$. Tanto fase como amplitude diminuem com o incremento da absorção. A amplitude diminui devidos aos fótons terem mais probabilidade de “desaparecer” ao aumentar a absorção, e a fase devido ao fato do que os fótons percorreram uma distância média menor se eles “sobreviverem”.

As figuras (3.9.A) e (3.9.B) mostram variações da amplitude e fase do sinal como função da separação fonte-detector, deixando fixo o coeficiente de absorção em $\mu_a = 0.1 \text{ (1/cm)}$ e mudando o espalhamento reduzido

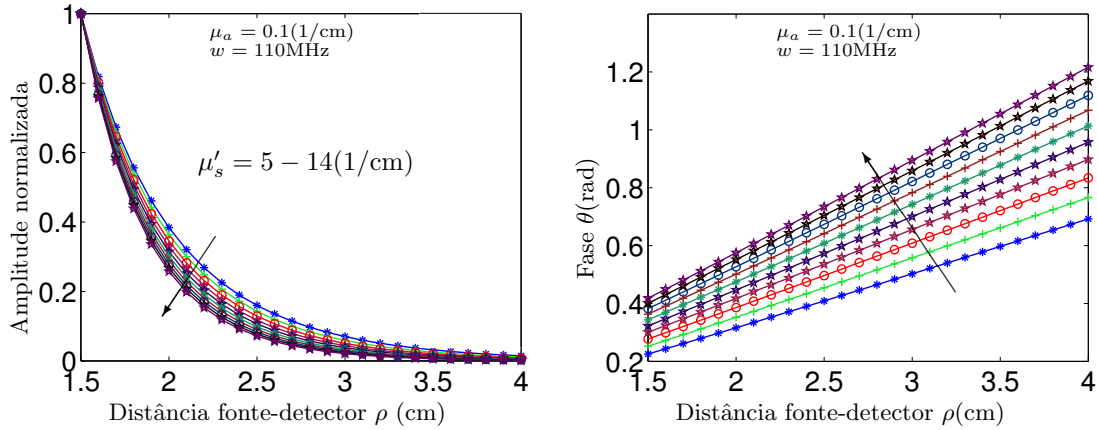


Figura 3.9: A) Amplitude e B) fase simuladas, como função da distância fonte-detector, para diferentes valores do coeficiente de espalhamento reduzido ($5 \text{ (1/cm)} \leq \mu'_s \leq 14 \text{ (1/cm)}$), mantendo a absorção em 0.1 (1/cm) . As setas indicam a direção de incremento de μ'_s , tomada em passos de 1 (1/cm) .

entre $5 \text{ (1/cm)} \leq \mu'_s \leq 14 \text{ (1/cm)}$. Como no caso de variar a absorção, a amplitude em certa distância diminui isto se explica porque ao aumentar o espalhamento os fótons serão mais dispersados; desta forma a fase aumentará, mostrando um comportamento contrário do que acontece com a variação da absorção. Outro ponto relevante é que os sinais tanto da amplitude quanto da fase são mais sensíveis às variações da absorção, como podemos inferir ao comparar os gráficos 3.8 e 3.9.

3.3.6 Determinação das propriedades ópticas no modelo SI

Assumindo o tecido bem modelado por um meio semi-infinito e homogêneo, e a fonte considerada pontual, a fluência será proporcional à função de Green:

$$\phi(\mathbf{r}, w) = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} G(\mathbf{r}, w), \quad (3.25)$$

que em coordenadas cilíndricas, com a condição de contorno extrapolada e na superfície do tecido :

$$\phi(\rho, z, w)|_{z=0} = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \left[\frac{e^{-k\sqrt{\rho^2+z_0^2}}}{\sqrt{\rho^2+z_0^2}} - \frac{e^{-k\sqrt{\rho^2+(2z_b+z_0)^2}}}{\sqrt{\rho^2+(2z_b+z_0)^2}} \right]. \quad (3.26)$$

Em princípio, esta função pode ser ajustada aos dados experimentais para encontrar os coeficientes do meio. No entanto, tem sido usada outra aproximação tendo em conta que a equação 3.26 pode ser simplificada

para $\rho \gg (2z_b + z_0)$ (apêndice B.2). Esta desigualdade é válida já que a distância fonte-detector ρ , é de ao redor de 2 cm, e $(2z_b + z_0)$ nos tecidos biológicos ~ 3 mm. Portanto,

$$\phi(\rho, z = 0, w) \simeq (z_b^2 + z_b z_0) \frac{v M_{ac}}{2\pi D} |k| \frac{e^{-k_r \rho}}{\rho^2} e^{i(-k_i \rho + \theta_0)}, \quad (3.27)$$

onde se observa um comportamento decrescente para a amplitude $A(\rho)$ e um comportamento crescente linear para a defasagem $\theta(\rho)$ dados por:

$$\begin{aligned} A(\rho) &= A_0 \frac{e^{-k_r \rho}}{\rho^2}, \\ \theta(\rho) &= -k_i \rho + \theta_0. \end{aligned} \quad (3.28)$$

As relações acima podem ser linearizadas:

$$\begin{aligned} \ln(A(\rho)\rho^2) &= -k_r \rho + \ln A_0, \\ \theta &= -k_i \rho + \theta_0. \end{aligned} \quad (3.29)$$

Portanto precisamos de pelo menos duas distâncias, entre fontes e detectores diferentes, para fazer o ajuste à linearização, embora quanto mais distâncias fonte-detector melhor será a estimativa das inclinações k_r e k_i . Para calcular os coeficientes μ_a e μ'_s em função das inclinações k_r e k_i , fazemos a inversão das equações 3.8, com o qual

$$\mu_a = \frac{w k_r^2 - k_i^2}{v 2k_r k_i}, \quad (3.30)$$

e

$$\mu'_s = \frac{-2v k_r k_i}{3w}. \quad (3.31)$$

Cabe ressaltar que, experimentalmente, se a intensidade for devidamente calibrada (ver seção 4.2) para refletir ϕ , então as equações 3.30 e 3.31 fornecem os valores absolutos das propriedades ópticas.

3.4 Meio de duas camadas (DC)

A maior desvantagem que tem o meio semi-infinito e homogêneo é que não distingue entre propriedades ópticas entre diferentes camadas/profundidades. Em algumas situações é de interesse separar as propriedades ópticas por camadas. No cérebro, por exemplo, poderíamos distinguir as propriedades ópticas do córtex cerebral e das camadas entre córtex e escalpo. E entre outras questões, a região do escalpo está sujeita a ruído fisiológico que pode causar interferência no processo de aquisição de atividade cerebral [53,54].

A metodologia proposta neste trabalho para superar o problema citado acima foi baseada no modelo de duas camadas (DC) para a solução da equação de difusão.

3.4.1 Solução da equação de difusão no modelo de DC

Para solucionar a equação de difusão no domínio da frequência assumiu-se (semelhante a Dayam [55]) que um feixe infinito e fino incide perpendicularmente dentro do meio turvo de duas camadas e que o feixe é espalhado isotropicamente por uma fonte pontual na camada mais alta (Figura 3.10), numa profundidade de $z = z_0 = 1/(\mu'_{s1} + \mu_{a1})$, onde μ'_{s_i} e μ_{a_i} são o espalhamento reduzido e o coeficiente de absorção da camada i , respectivamente. A origem de coordenadas do sistema é o ponto onde o feixe entra no meio turvo, e a coordenada z tem a mesma direção do feixe incidente. Os eixos x e y são dirigidos sobre a superfície do meio turvo, e $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$. Assim a equação de difusão para a fluência no domínio da frequência para as duas camadas:

$$D_1 \nabla^2 \phi_1(\mathbf{r}, w) - (v\mu_{a1} - iw)\phi_1(\mathbf{r}, w) = -vM_{ac}\delta(\mathbf{r}) \quad 0 \leq z \leq l, \quad (3.32)$$

$$D_2 \nabla^2 \phi_2(\mathbf{r}, w) - (v\mu_{a2} - iw)\phi_2(\mathbf{r}, w) = 0 \quad l < z, \quad (3.33)$$

onde $D_i = 1/3(\mu_{a_i} + \mu'_{s_i})$, l e $\phi_i(\mathbf{r}, w)$ são o coeficiente de difusão, a espessura da primeira camada e a fluência da camada i , respectivamente [56].

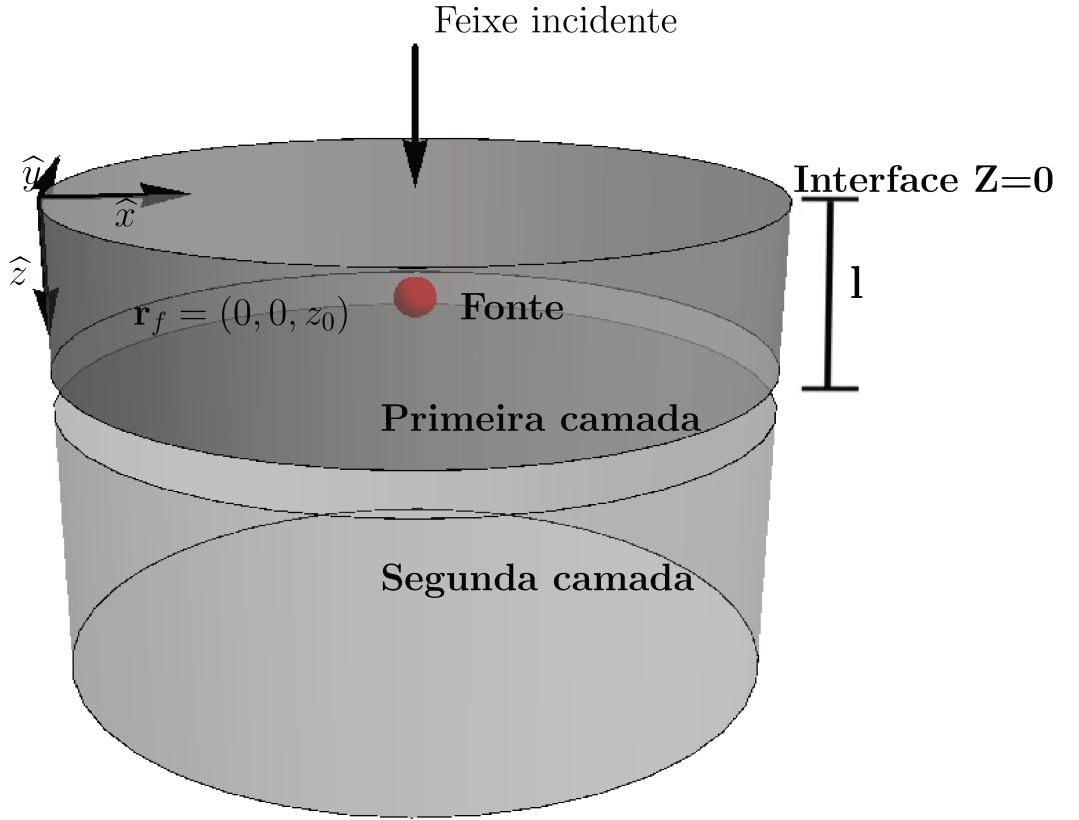


Figura 3.10: Esquema do cilindro usado nos cálculos. O ponto isotrópico que representa a fonte, localizada em $\mathbf{r}_f = (0, 0, z_0)$.

As funções de Green para as equações 3.32 e 3.33 são (ver apêndice B.3), respectivamente:

$$G_1(s, z, w) = A_1 e^{\alpha_1 z} + B_1 e^{-\alpha_1 z} + \frac{e^{-\alpha|z-z_0|}}{2D_1\alpha_1}, \quad (3.34)$$

e

$$G_2(s, z, w) = A_2 e^{\alpha_2 z} + B_2 e^{-\alpha_2 z}. \quad (3.35)$$

Aqui $s = \sqrt{s_1^2 + s_2^2}$, onde s_1 e s_2 definem um novo espaço de coordenadas dado por uma transformada de Fourier bi-dimensional (Para mais detalhes ver apêndice B.3). As constantes A_i e B_i são determinadas com as seguintes condições de contorno

$$\begin{aligned}
G_1(-z_b, s) &= 0 \\
G_1(\infty, s) &= 0 \\
\frac{G_1(l, s)}{G_2(l, s)} &= \frac{n_1^2}{n_2^2} = 1 \\
D_1 \frac{\partial G_1}{\partial z} \Big|_{z=l} &= D_2 \frac{\partial G_2}{\partial z} \Big|_{z=l}.
\end{aligned} \tag{3.36}$$

Com isto, as soluções da função de Green para primeira e segunda camada são

$$\begin{aligned}
G_1(z, s) &= \frac{\text{sen}[\alpha_1(z_b + z_0)]}{D_1 \alpha_1} \frac{D_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l - z)] + D_2 \alpha_2 \text{senh}[\alpha_1(l - z)]}{D_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l + z_b)] + D_2 \alpha_2 \text{senh}[\alpha_1(l + z_b)]} \\
&\quad - \frac{\text{senh}[\alpha_1(z_0 - z)]}{D_1 \alpha_1} \quad 0 \leq z \leq l, \tag{3.37}
\end{aligned}$$

e

$$G_2(z, s) = \frac{\text{sen}([\alpha_1(z_b + z_0)]e^{[\alpha_2(l-z)])}}{D_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l + z_b)] + D_2 \alpha_2 \text{senh}[\alpha_1(l + z_b)]} \quad 0 \leq z \leq l. \tag{3.38}$$

Para inverter as equações 3.37 e 3.38 e obter a fluência em coordenadas cilíndricas (ρ, θ, z) utilizamos a solução dada em [57]

$$\hat{\phi}_i(\mathbf{r}, w) = \frac{1}{\pi a'^2} \sum_{n=1}^{\infty} G_k(s, z, w) J_0(s\rho) J_1^{-2}(a's), \tag{3.39}$$

onde $i = 1, 2$ representam primeira e segunda camada, respectivamente. J_0 e J_1 são as funções de Bessel de ordem zero e de primeira ordem, respectivamente.

3.4.2 Amplitude e fase no modelo de DC

Nesta seção se compara as amplitudes e fases à medida que se muda a distância fonte-detector ρ e absorção da camada inferior (2 camada), desde $\mu_{a2} = 0.05$ (1/cm) até $\mu_{a2} = 0.325$ (1/cm) com incrementos de 0.025

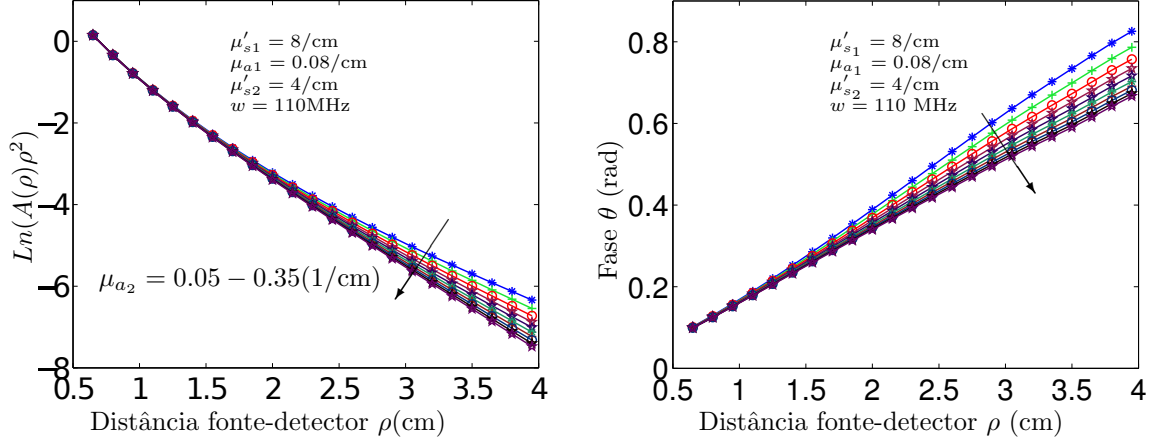


Figura 3.11: A) Amplitude e B) fase simulada s , como função da distância fonte-detector, para diferentes valores do coeficiente de absorção da segunda camada ($0.05 \text{ (1/cm)} \leq \mu_{a_2} \leq 0.35 \text{ (1/cm)}$). Todos os outros parâmetros foram mantidos fixos: para espalhamento da primeira e segunda camada em 8 (1/cm) e 4 (1/cm) , respectivamente, e a absorção da primeira camada em 0.08 (1/cm) . As setas indicam a direção de incremento de μ_{a_2} , tomada em passos de 0.025 (1/cm) .

($1/\text{cm}$), mantendo fixos o espalhamento da primeira camada $\mu'_{s1} = 8 \text{ (1/cm)}$ e da segunda camada $\mu'_{s1} = 4 \text{ (1/cm)}$, além da absorção da primeira camada em $\mu_{a1} = 0.08 \text{ (1/cm)}$. O raio do cilindro foi mantido em $a=7 \text{ cm}$ e a largura da primeira camada em $l = 1 \text{ cm}$. A largura da segunda camada em 7 cm .

Os comportamentos para amplitude e fase no modelo DC (Figura 3.11) é semelhante ao encontrado no modelo SI (ver figuras 3.8 e 3.9). Podemos notar que as variações na amplitude e fase estão acontecendo após de $\rho \gtrsim 1.5 \text{ cm}$ o que implica que fótons que estão chegando no detector só estão conseguindo interagir com a segunda camada para distância maiores do que 1.5 cm .

3.4.3 Determinação das propriedades ópticas no modelo de DC

Em vista de que não é possível ter expressões analíticas para amplitude e fase em função das propriedades ópticas do meio no modelo de DC, as mesmas foram definidas como:

$$A(\rho) = |\phi_1(\mathbf{r}, w)|, \quad (3.40)$$

e

$$\theta(\rho) = \text{Arg}|\phi_1(\mathbf{r}, w)|, \quad (3.41)$$

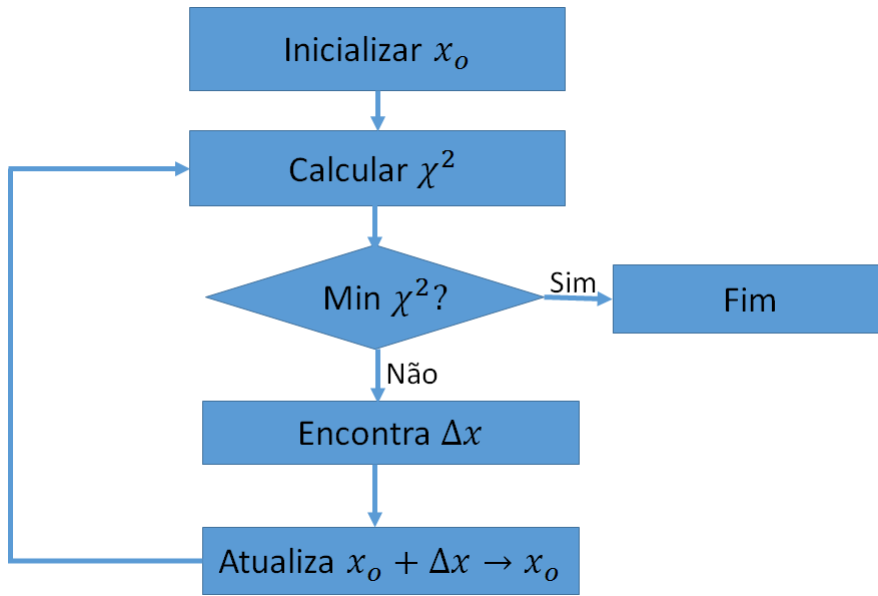


Figura 3.12: Diagrama geral do fluxo no procedimento de otimização.

onde $\|\cdot\|$ é a norma euclidiana e Arg é o argumento (fase) da fluência.

Por outro lado, no caso de duas camadas (em comparação ao caso do meio semi-infinito) o problema inverso é muito mais complicado devido ao aumento das variáveis desconhecidas, que são a absorção e espalhamento reduzido da primeira camada (μ_{a1}, μ'_{s1}) , da segunda camada (μ_{a2}, μ'_{s2}) e a largura da primeira camada (l) . A solução desse problema requer um ajuste não linear sobre as medidas da fase e amplitude como função da distância r . Portanto foi necessário um procedimento de ajuste dos dados experimentais aos dados teóricos.

Procedimento de ajuste e otimização

Para resolver o problema, foi implementado uma rotina em Matlab baseada no procedimento de otimização conhecido como Levenberg-Marquardt [58] da forma:

$$\mathbf{x}^* = \underset{x}{\text{argmin}} F(\mathbf{x}). \quad (3.42)$$

Aqui, \mathbf{x}^* é o resultado da otimização (vetor de estado ótimo), i.e. a melhor estimativa dos parâmetros desconhecidos $\mathbf{x} = [\mu_{a1}, \mu'_{s1}, \mu_{a2}, \mu'_{s2}]^T$, e $F(\mathbf{x}) = \chi^2$ onde, χ^2 é a função de custo composto das diferenças entre os valores teóricos e os valores experimentais (ou simulados)

$$\chi^2 = \sum_{i=1, j \neq i}^{N_\rho} \left[\left(\frac{A_i^{Exp}}{A_j^{Exp}} - \frac{A_i^{Teo}}{A_j^{Teo}} \right) + \left((\theta_i^{Exp} - \theta_j^{Exp}) - (\theta_i^{Teo} - \theta_j^{Teo}) \right) \right]^2. \quad (3.43)$$

Aqui, A_i^{Teo} e θ_i^{Teo} são os valores teóricos obtidos do modelo de duas camadas, e A_i^{Exp} e θ_i^{Exp} são os valores experimentais das amplitudes da fluência, os índices i e N_ρ representam as distâncias e o número de diferentes pares fonte-detector, respectivamente. Para evitar fatores de calibração nós utilizamos os quocientes das amplitudes e $A(r_1)/A(r_2)$ e as diferenças de fase $\theta(r_2) - \theta(r_1)$.

A fim de empregar o algoritmo de Levenberg-Marquardt, é requerido o cálculo da matriz jacobiana do vetor de erro com respeito ao vetor de parâmetros

$$\mathbf{J} = \frac{\partial \epsilon}{\partial [\mu_{a_1}, \mu'_{s_1}, \mu_{a_2}, \mu'_{s_2}]}(\mathbf{x}). \quad (3.44)$$

A solução é então obtida por alterar \mathbf{x} em cada iteração como: $\mathbf{x}^{n+1} = \mathbf{x}^n + \Delta \mathbf{x}$, onde $\Delta \mathbf{x}$ é obtido solucionando o seguinte sistema linear :

$$(\mathbf{J}^T \mathbf{J} + \lambda \text{diag}(\mathbf{J}^T \mathbf{J})) \Delta \mathbf{x} = -\mathbf{J} \chi, \quad (3.45)$$

onde λ é um fator de modulação e direcionalidade de $\Delta \mathbf{x}$ (neste trabalho, λ começa em 1, aumentando ou diminuindo por um fator de 10 em cada iteração).

Dependência do ajuste com as condições iniciais

O gráfico da figura 3.12 mostra um diagrama geral de fluxo do procedimento de ajuste, onde definindo o vetor das condições iniciais, \mathbf{x}_0 , é calculada a função de custo χ^2 e se esta é minimizada implica que se encontrou a melhor estimativa para o vetor de parâmetros das propriedades ópticas \mathbf{x}^* . Se este não for o caso se procura $\Delta \mathbf{x}$ até encontrar a melhor estimativa.

Para testar a sensibilidade do procedimento às condições iniciais, usamos o algoritmo de otimização para ver se ele recobre os parâmetros previamente conhecidos de um conjunto de dados simulados. Estes dados simulados são obtidos a partir da solução analítica da equação de difusão no meio de duas camadas. Variando em $\pm 30\%$ as condições iniciais, obteve-se as propriedades ópticas da primeira e segunda camada (valor obtido

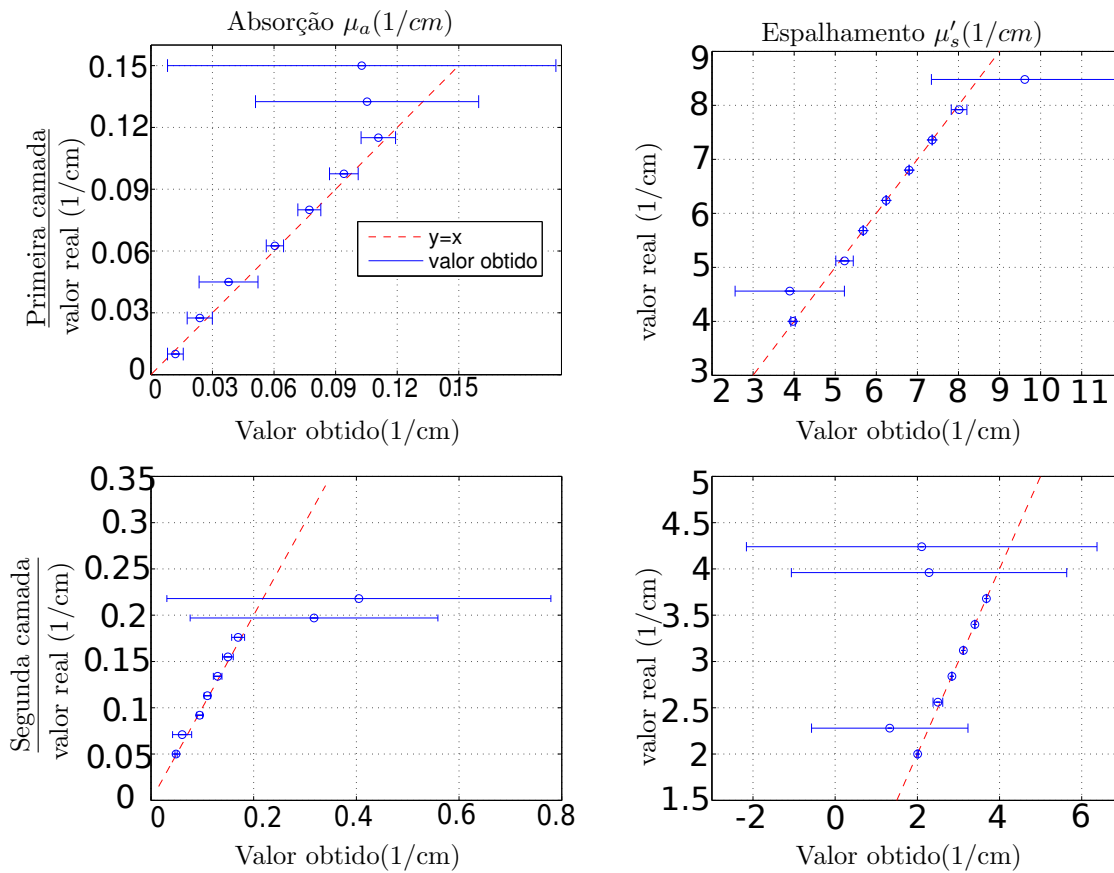


Figura 3.13: Valores recobertos dos coeficientes ópticos no modelo DC, onde a linha tracejada vermelha representa a condição ideal, onde o valor recoberto é igual ao valor real sendo A) μ_{a1} B) μ_{s1} C) μ_{a2} D) μ_{s2} .

na figura 3.13). Repetimos o processo 5 vezes para cada conjunto de dados simulados. O gráfico da figura 3.13 mostra o valor médio e o erro para as 5 iterações. No resultado observa-se que para valores grandes das condições iniciais, $\mathbf{x}_0 = [\mu_{a1}, \mu'_{s1}, \mu_{a2}, \mu'_{s2}]$, o algoritmo nem sempre converge para o valor real. Esta discrepância pode estar relacionada com fato da função de Green poder estar fora do regime difusivo. Ainda assim, o algoritmo se mostrou bastante estável na região de interesse, reproduzindo os valores pré-definidos.

3.5 Determinação das concentrações dos cromóforos

Da seção 2.1 vimos que o coeficiente de absorção é proporcional à quantidade de cromóforos presentes no meio. Também da seção 2.1.2, vimos que os principais absorvedores do tecido biológico no NIR são $[\text{HbO}_2]$ e $[\text{HbR}]$ e a água. Com isto podemos escrever a absorção no comprimento de onda λ como

$$\mu_a^\lambda = \overbrace{\epsilon_{a\text{HbO}_2}^\lambda [\text{HbO}_2]}^{\mu_{a\text{HbO}_2}^\lambda} + \overbrace{\epsilon_{a\text{HbR}}^\lambda [\text{HbR}]}^{\mu_{a\text{HbR}}^\lambda} + \mu_{a\text{H}_2\text{O}}^\lambda C_{\text{H}_2\text{O}-vf}, \quad (3.46)$$

onde $C_{\text{H}_2\text{O}-vf}$ é a fração de volume de água no tecido (que consideramos como 0.6), $\epsilon_{a\text{HbO}_2}^\lambda$ e $\epsilon_{a\text{HbR}}^\lambda$ são os coeficientes de extinção molares característicos de HbO_2 e HbR no comprimento de onda λ , respetivamente, e $(\mu_{a\text{H}_2\text{O}}^\lambda)$ é a absorção da água, todos eles conhecidos na literatura [59], $[\text{HbO}_2]$, $[\text{HbR}]$ representam as concentrações dos cromóforos HbO_2 , HbR). Percebe-se que precisamos de pelo menos duas equações para os diferentes λ , e isto é porque temos duas incógnitas $[\text{HbO}_2]$ e $[\text{HbR}]$. Portanto precisamos de pelo menos dois comprimentos de onda para resolver a equação 3.46. Como veremos na seção 4.1.1, o equipamento no domínio da frequência utilizado funciona com 4 comprimentos de onda, dos quais escolhemos utilizar dois (690 nm e 850 nm). Desta forma, as concentrações de HbO_2 e HbR são dadas por:

$$[\text{HbO}_2] = \frac{\mu_a^{690\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \mu_a^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}}{\epsilon_{\text{HbO}_2}^{690\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \epsilon_{\text{HbO}_2}^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}} - \frac{\mu_{a\text{H}_2\text{O}}^{690\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \mu_{a(\text{H}_2\text{O})}^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}}{\epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \mu_a^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}} C_{\text{H}_2\text{O}-vf}, \quad (3.47)$$

e

$$[\text{HbR}] = \frac{\mu_a^{690\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \mu_a^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}}{\epsilon_{\text{HbO}_2}^{690\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} + \epsilon_{\text{HbO}_2}^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}} - \frac{\mu_{a(\text{H}_2\text{O})}^{690\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \mu_{a(\text{H}_2\text{O})}^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}}{\epsilon_{\text{HbR}}^{850\text{nm}} - \mu_a^{850\text{nm}} \epsilon_{\text{HbR}}^{690\text{nm}}} C_{\text{H}_2\text{O}-vf}. \quad (3.48)$$

A partir de $[\text{HbO}_2]$ e $[\text{HbR}]$ podemos definir parâmetros importantes na clínica, tais como a hemoglobina

total

$$[\text{HbT}] = [\text{HbO}_2] + [\text{HbR}], \quad (3.49)$$

e a saturação de oxigênio no tecido:

$$\text{StO}_2 = \frac{[\text{HbO}_2]}{[\text{HbT}]}. \quad (3.50)$$

Até o momento, temos dois modelos para calcular as propriedades ópticas absolutas, e como as propriedades se relacionam com a fisiologia do tecido biológico. No capítulo seguinte, faremos a descrição da instrumentação e dos métodos de calibração, antes de analisar a aplicação dos dois modelos em dados experimentais.

Capítulo 4

Aspectos técnicos de DOS

Em espectroscopia óptica de difusão (DOS) no domínio da frequência, é correntemente usado um oscilador de radio-frequência (RF) para modular a amplitude de uma fonte laser de forma senoidal. Essa luz modulada é incidida na amostra via fibras ópticas. A detecção óptica e eletrônica quantifica a amplitude atenuada (A) e defasagem θ a fim de reconstruir as propriedades ópticas da amostra.

4.1 Instrumentação em medidas no domínio da frequência

4.1.1 Equipamento no domínio da frequência

Utilizamos um sistema DOS comercial no domínio da frequência para aquisição dos dados. (Imagent, Iss Inc, Illinois, EUA) Tal equipamento contém 4 tubos foto-multiplicadores (PMT) e 32 fontes laser de diodo arranjados em bancos (A,B,C e D) (ver figura 4.1) todas operando com uma potência de saída de ~ 5 mW, em 4 comprimentos de onda diferentes (690, 705, 730 e 850 nm. Especificamente 8 lasers por cada comprimento de onda). As fontes de luz compartilham ao mesmo tempo os detectores, e não sempre estes são ligadas; em vez disso, as fontes se ligam e desligam em uma sequência eletrônica. No máximo, uma fonte de luz está ligada em cada banco em algum dado momento. Em outras palavras, um esquema de multiplexação temporal é usado para diferenciar o sinal óptico de cada fonte. As fontes de luz estão moduladas na amplitude numa frequência de 110 MHz.

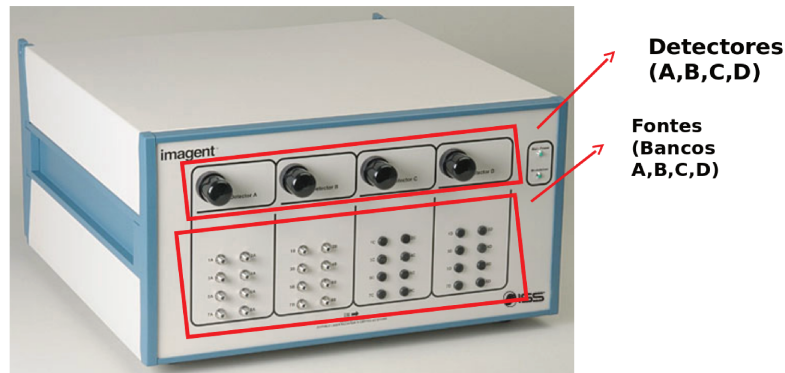


Figura 4.1: Imagem do equipamento usado no método FD (Imagent, Iss Inc, Illinois, EUA).

O esquema de funcionamento do sistema no domínio da frequência é ilustrado na figura 4.2. O oscilador local RF fornece uma onda modulada para o laser de diodo e para o sinal de referência para ser processado pelo demodulador I&Q¹ (ver seção 4.1.2). A luz modulada de um diodo é acoplada ao meio turvo através de fibras ópticas.

Dependendo do método de multiplexação, os *switches* ópticos ou misturadores ópticos são usados por comprimento de onda. O sinal atenuado após se propagar através do meio turvo é detectado por uma PMT.

4.1.2 Detecção por quadratura

O coração da detecção no domínio da frequência é o demodulador I&Q (ver figura 4.3). Suponha um sinal de referência $SR = A_r \text{sen}(wt)$ e um sinal detectado $SD = A_d \text{sen}(wt + \theta)$, onde θ é a defasagem em relação à referência. No demodulador I&Q, SR é dividido em dois, um dos quais é defasado em 90° . O SD também é dividido em dois, mas não é defasado.

¹do inglês In-phase and Quadrature

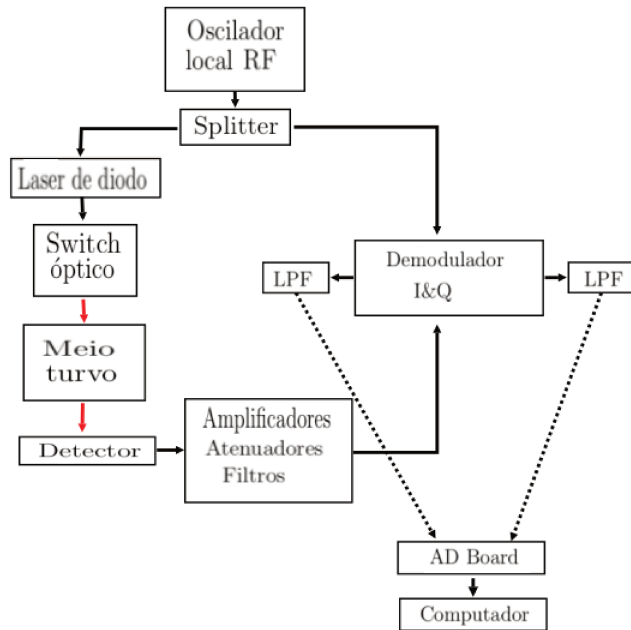


Figura 4.2: Esquema geral do sistema no domínio da frequência. O oscilador local RF fornece o sinal de referência ao demodulador I&Q, enquanto modula o laser de diodo, as fontes, posições dos detectores e comprimentos de onda estão sendo multiplexados usando uma combinação de *switches* ópticos. Então o sinal espalhado através do meio é registrado pelo detector (PMT) e é amplificado e filtrado. O demodulador com o filtro passa baixas (LPF) obtém informação da amplitude e fase, que são salvos no computador através de uma conversão analógica-digital (AD).

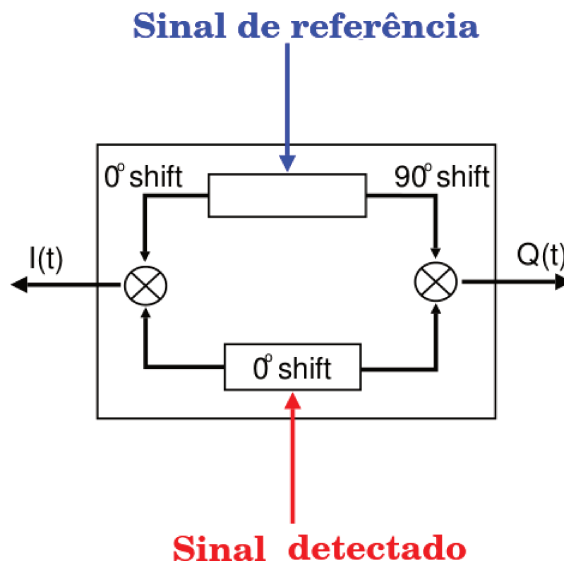


Figura 4.3: Esquema do demodulador em fase e em quadratura I&Q.

A multiplicação na seção de quadratura do sinal de referência defasado em 90° e o sinal detectado não defasado é dada por:

$$\begin{aligned} Q(t) &= \frac{A_r}{2} \cos(\omega t) \frac{A_d}{2} \sin(\omega t + \theta) + Q_0, \\ &= A \sin(\theta) + A \sin(2\omega t + \theta) + Q_0, \end{aligned} \quad (4.1)$$

onde $A = \frac{A_r A_d}{8}$ e Q_0 é a componente DC. Na seção em fase (in-phase), a multiplicação do sinal de referência e o sinal detectado fornece:

$$\begin{aligned} I(t) &= \frac{A_r}{2} \sin(\omega t) \frac{A_d}{2} \sin(\omega t + \theta) + I_0, \\ &= A \cos(\theta) - A \cos(2\omega t + \theta) + I_0, \end{aligned} \quad (4.2)$$

onde I_0 é a componente DC.

Aplicando um filtro passa baixas em I e Q para eliminar componentes de alta frequência, temos que $Q_{DC} = A \sin \theta + Q_0$ e $I_{DC} = A \cos \theta + I_0$ são as saídas finais chegando nos pontos de aquisição de dados. A amplitude e fase² do sinal detectado é então

$$A = \sqrt{(I_{DC} - I_0)^2 + (Q_{DC} - Q_0)^2}, \quad (4.3)$$

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{Q_{DC} - Q_0}{I_{DC} - I_0} \right). \quad (4.4)$$

4.2 Calibração

As sondas experimentais usualmente consistem de múltiplas fontes e/ou fibras detectores que são posicionados variando a posição sobre o tecido. Estas configurações introduzem alguns problemas práticos. Especificamente, variações na transmissão da fibra, tais como perdas ou fótons chegando fora do cone de

²Cabe lembrar que a medida de fase é na verdade a defasagem do sinal espalhado em relação ao sinal incidido no meio turvo.

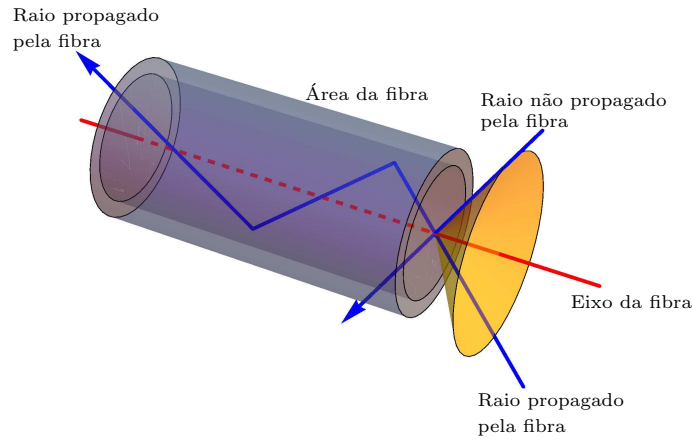


Figura 4.4: (Cone de aceitação, e possíveis fótons que chegam dentro da cone e se propagam pela fibra ou, caso contrario não se propagando pela fibra.)

aceitação (fig.4.4), eficiência do detector, e do fato do acoplamento tecido-fibra não ser perfeito fazem com que a intensidade da luz medida seja proporcional à fluência, ϕ . No entanto, o fator de proporcionalidade é desconhecido. Portanto, deve-se calibrar a sonda a fim de comparar as fluências medidas e teóricas em múltiplas distâncias fonte-detector. Neste trabalho, nós usamos dois tipos diferentes de calibração. O primeiro chamado de Calibração Padrão, que usa fatores de correção para a amplitude e para a fase do sinal medido. O segundo método, chamado de Auto-Calibração, explora as vantagens de ter uma geometria simétrica, onde as únicas razões para diferentes pares fonte-detector com a mesma distância não registrarem o mesmo sinal sejam devido a perdas, sensibilidade diferente entre os detectores ou fontes com diferentes intensidades.

4.2.1 Calibração padrão

No método de Calibração Padrão, definimos C_f^i como o coeficiente de acoplamento para a i -ésima fonte, e C_d^j como o coeficiente de acoplamento para o j -ésimo detector. Assim a medida da fluência no detector j vindo da fonte i , ϕ_{ij} , é definida como :

$$\phi_{ij}^{teo}(r_{ij}, \lambda) = C_f^i C_d^j \phi_{ij}^{exp}(\lambda), \quad (4.5)$$

onde $\phi_{ij}^{teo}(\lambda)$ e $\phi_{ij}^{exp}(\lambda)$ são, respectivamente, a fluência teórica e experimental em r_{ij} (distância entre a i -ésima fonte e o j -ésimo detector). Percebe-se que a fluência é complexa, e portanto os coeficientes de acoplamento podem ser escritos como: $C_f^i = C_{fA}^i e^{iC_{ff}^i}$ e $C_d^j = C_{dA}^j e^{iC_{df}^j}$, permitindo separar amplitude da fase na equação 4.5:

$$A_{ij}^{teo}(r_{ij}, \lambda) = \underbrace{C_{fA}^i C_{dA}^j}_{C_A^{ij}} A_{ij}^{exp}(\lambda),$$

$$\theta_{ij}^{teo}(r_{ij}, \lambda) = \underbrace{C_{ff}^i + C_{df}^j}_{C_f^{ij}} + \theta^{exp}(\lambda).$$
(4.6)

As amostras de prova (ver seção 4.2.3) utilizadas para encontrar estes coeficientes são uma boa aproximação de um meio semi-infinito, $A_{ij}^{teo}(r_{ij})$ e $\theta_{ij}^{teo}(r_{ij}, \lambda)$, são calculados da equação 3.29 com $r_{ij} = \rho$

$$\ln(A_{teo}(\rho)\rho^2) = -k_r^{teo}\rho + \ln A_0 \implies A_{teo} = \frac{e^{-k_r^{teo}\rho}}{\rho^2},$$
(4.7)

$$\theta_{teo} = -k_i^{teo}\rho + \theta_0.$$
(4.8)

Juntando 4.6 com 4.7 e 4.8

$$C_A^{ij} = \frac{e^{-k_r^{teo}\rho}}{\langle A_{ij}^{exp}(\lambda) \rangle_t \rho^2}$$

$$C_f^{ij} = -k_i^{teo}\rho + \theta_0 - \langle \theta_{ij}^{exp}(\lambda) \rangle_t.$$
(4.9)

Para encontrar estes coeficientes (equação 4.9) são usados blocos com propriedades ópticas predefinidas; desta forma $\langle A_{ij}^{exp}(\lambda) \rangle_t$ e $\langle \theta_{ij}^{exp}(\lambda) \rangle_t$ são a amplitude e a fase médias durante um tempo t , medidas no bloco entre a fonte i e o detector j . k_i^{teo} e k_r^{teo} são calculados com os valores conhecidos das propriedades ópticas do bloco e com a equação 3.8. Obtendo-se estes fatores são utilizados em posteriores experimentos onde os coeficientes ópticos são desconhecidos *a priori*, como por exemplo no tecido biológico. Portanto a sonda e o

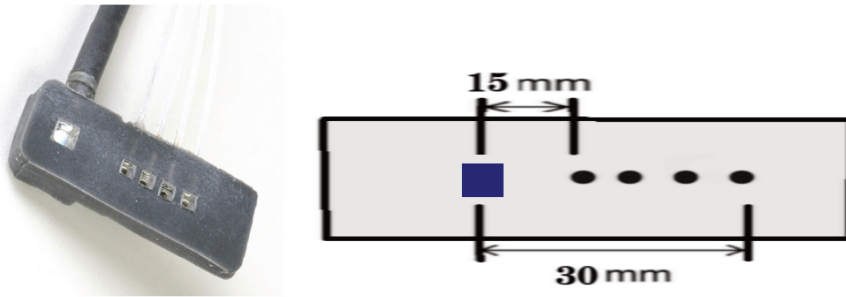


Figura 4.5: Esquerda: fotografia da sonda utilizada neste trabalho para o método de Calibração Padrão. Direita: esquema representativo das distâncias fonte-detector da mesma sonda, onde o quadrado e os círculos representam o detector e as fontes, respectivamente.

instrumento são calibrados por medidas de um bloco, antes de uma medida real ser realizada.

A sonda usada no método de Calibração Padrão tem um detector e 4 fontes. A primeira fonte está numa distância de 15 mm do detector, e para as três seguintes, a distância é incrementada em 5 mm até a última fonte (Figura 4.5).

4.2.2 Auto-calibração

No método de calibração padrão, uma vez calibrada a sonda, pode-se colocar em uma amostra ou tecido onde as correções de calibração podem ser aplicadas durante as medidas. Na prática, a calibração é requerida cada vez que a sonda é conectada ao instrumento. Além disso, a eficiência de acoplamento da fibra óptica pode variar. Isto não é só um inconveniente; adicionalmente dois fatos são assumidos: 1) as intensidades e fases relativas das fontes permanecerão constantes, e; 2) que não terão mudanças nos acoplamentos.

Uma nova sonda foi proposta por Dennis et. al [60], que não “requer” uma calibração padrão e tem mostrado ser mais estável em termos de medidas ao longo tempo [60]. Medidas via este procedimento são independentes das diferenças de intensidade entre fontes de luz, diferenças de fase entre múltiplas fontes de luz, sensibilidade entre os detectores, e algumas perdas por acoplamento óptico.

Sonda de auto-calibração construída e medidas nos phantoms

Para testar o método de auto-calibração, construímos uma sonda (Figura 4.6), baseados na geometria da figura 4.7



Figura 4.6: A) Foto de geometria construída para o método de Auto-Calibração.

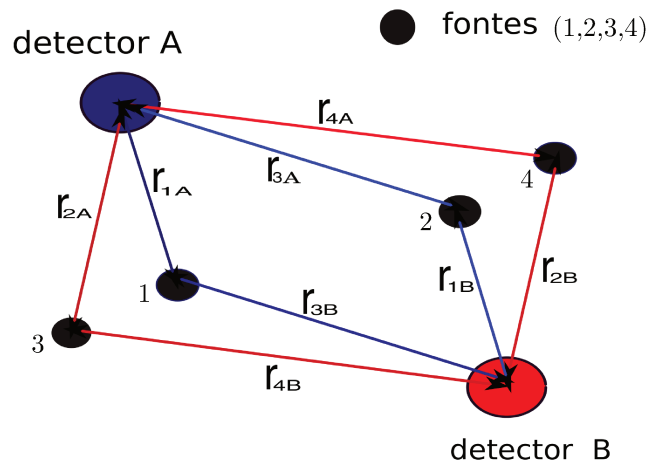


Figura 4.7: A) Esquema da sonda e a configuração entre fontes e detectores no método de auto-calibração. A simetria que existe entre pares de fontes e detectores, permite a comparação da fluência em diferentes canais com a mesma distância.

A sonda construída funciona com dois detectores e 4 fontes (por comprimentos de onda), colocadas simetricamente tal que $r_{iA} = r_{iB} = r_i$ com $i = 1, 2, 3, 4$ (ver figura.4.7). Assim a amplitude e defasagem teóricas no detector B de uma fonte numa distância r_{iB} deveriam ser equivalentes do sinal no detector A, de uma fonte em uma distância r_{iA} . As distâncias fonte-detector são: $r_{1A} = r_{1B} = r_1 = 2$ cm, $r_{2A} = r_{2B} = r_2 = 2.5$ cm, $r_{3A} = r_{3B} = r_3 = 3$ cm e $r_{4A} = r_{4B} = r_4 = 3.5$ cm.

Antes de examinar como a sonda absoluta trabalha vejamos que k_r pode ser calculado com o quociente entre os valores da amplitude (A) do sinal espalhado. Note que a equação 3.29 pode-se escrever como

$$\ln(A_i r_i^2) = -k_r r_i + \ln A_0 \quad i = 1, 2, 3, 4, \quad (4.10)$$

isolando para k_r

$$k_r = \frac{\ln\left(\frac{A_2}{A_1} \frac{A_4}{A_3}\right) + 2\ln\left(\frac{r_2}{r_1} \frac{r_4}{r_3}\right)}{(r_2 - r_1) + (r_4 - r_3)}. \quad (4.11)$$

de forma semelhante para k_i

$$k_i = -\frac{(\theta_{r1} - \theta_{r2}) + (\theta_{r3} - \theta_{r4})}{(r_1 - r_2) + (r_3 - r_4)}. \quad (4.12)$$

Aqui θ_{r1} é a defasagem ideal (i.e. sem perdas) que será detectada numa distância r_1 da fonte 1.

A sonda absoluta pode medir estes quocientes das intensidades e as diferenças de fase de tal forma que são independentes de muitos fatores instrumentais. Consideremos a figura 4.7, e vejamos que a amplitude do sinal no detector A e B enquanto a fonte 1 está ligada, é dada por

$$A_{1,A} = I_1 C_1 Y_A C_A A_{r1}, \quad (4.13)$$

$$A_{1,B} = I_1 C_1 Y_B C_B A_{r3},$$

onde $A_{1,x}$, é o sinal medido devido a fonte 1 no detector x (A ou B), I_1 é a intensidade da fonte 1, Y_x é a

sensibilidade do detector x , C_1 é a combinação entre acoplamento e eficiência para a luz da fonte 1 dentro da amostra, e C_x é a eficiência do acoplamento para a luz fora da amostra chegando no detector x . C_1 e C_A incluem as perdas dentro das guias de onda. A_{rx} é a amplitude do sinal ideal A , numa separação r_x , entre fonte e detector, tendo em mente que r_1 é a menor distância fonte-detector e r_4 é a maior. De forma mais clara, A_{rx} , é o sinal A que deveria ser medido se não existissem perdas e a intensidade de cada fonte fosse 1. Quando a fonte 2 está ligada temos

$$\begin{aligned} A_{2,A} &= I_2 C_2 Y_A C_A A_{r3}, \\ A_{2,B} &= I_2 C_2 Y_B C_B A_{r1}. \end{aligned} \quad (4.14)$$

Note que 4.11 e 4.12 fornecem

$$\frac{A_{r1}}{A_{r3}} = \sqrt{\frac{A_{r1}}{A_{r3}} \frac{A_{r1}}{A_{r3}}} = \sqrt{\frac{A_{2,A} A_{c1,B} I_1 C_1 Y_A C_A I_2 C_2 Y_B C_B}{A_{1,A} A_{2,B} I_2 C_2 Y_A C_A I_1 C_1 Y_B C_B}} = \sqrt{\frac{A_{2,A} A_{1,B}}{A_{1,A} A_{2,B}}}. \quad (4.15)$$

De forma similar

$$\frac{A_{r3}}{A_{r4}} = \sqrt{\frac{A_{4,A} A_{3,B}}{A_{3,A} A_{4,B}}}, \quad (4.16)$$

e para as diferenças de fase

$$(\theta_{r1} - \theta_{r2}) + (\theta_{r3} - \theta_{r4}) = \frac{1}{2} \left(\underbrace{(\theta_{1,A} + \theta_{2,B})}_{2\theta_{r1}} - \underbrace{(\theta_{2,A} + \theta_{1,B})}_{2\theta_{r2}} \right) + \left(\underbrace{(\theta_{3,A} + \theta_{4,B})}_{2\theta_{r3}} - \underbrace{(\theta_{4,A} + \theta_{3,B})}_{2\theta_{r4}} \right), \quad (4.17)$$

onde θ_{ri} ($i = 1, 2, 3, 4$) é a defasagem ideal com respeito à fonte numa distância r_i , e $\theta_{1,x}$ é a defasagem com respeito à fonte 1 detectada pelo detector x (A ou B).

Em princípio, com as equações 4.11, 4.12 e 4.15-4.17 temos uma forma de encontrar as propriedades ópticas do tecido sem precisar de uma calibração com ajuda de blocos ou phantoms de propriedades pré-determinadas.

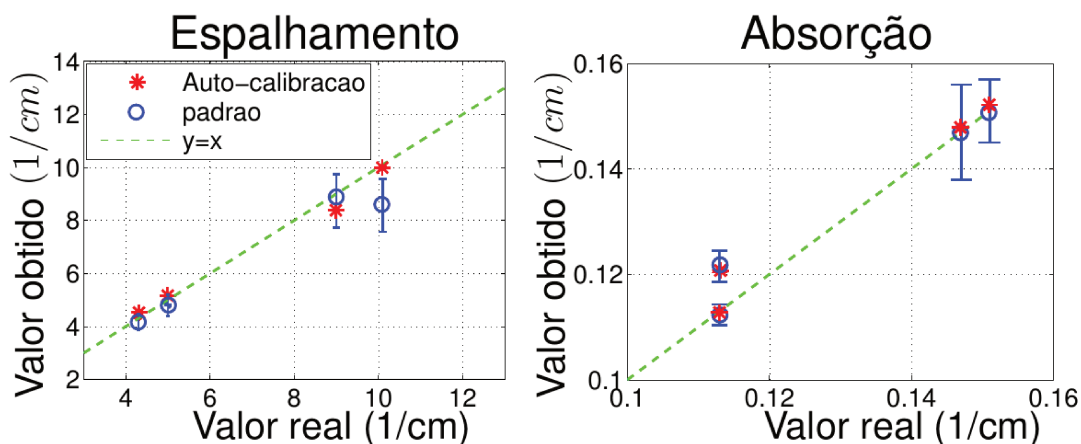


Figura 4.8: Coeficientes de absorção e espalhamento, obtido pelo método de auto-calibração (asteriscos) e de calibração padrão (círculos). A linha tracejada é a condição ideal onde os valores obtidos são iguais aos valores reais.

4.2.3 Resultados em phantoms ópticos

Para testar os métodos de calibração, foram usados dois blocos (ou phantoms), feitos de silicone, com valores pré-determinados dos coeficientes de absorção e de espalhamento. Um dos phantoms (phantom de calibração) foi usado para encontrar os fatores de correção para a amplitude e fase do sinal medido. O outro foi utilizado para testar tais fatores (phantom de prova).

Desta forma, foram encontrados valores para os coeficientes de espalhamento e absorção para o bloco de prova com erros relativos aos nominais menores que 5 % nos dois métodos (ver figura 4.8). No entanto, a geometria de Auto-calibração depende da curvatura onde seja fixada e para o nosso caso do tecido biológico que tem curvatura irregular tivemos que excluir essa calibração. Por tal motivo a calibração utilizada nas medidas em seres humanos foi a Calibração Padrão.

Em vista do procedimento experimental mencionado neste capítulo, e considerando que temos a parte da modelagem do tecido do capítulo anterior, só resta aplicar teoria e experimento ao cálculo das propriedades ópticas em experimentos que envolvam humanos, o que será feito no seguinte capítulo.

Capítulo 5

Aplicações clínicas

Enquanto medidas relativas podem ser suficientes para estudos funcionais com o intuito de detectar respostas hemodinâmicas e metabólicas decorrentes de ativação cerebral [61–63], as medidas absolutas (DOS) podem expandir o alcance de informações fisiológicas adquiridas que possuem relevância clínica.

O modelo do meio semi-infinito tem sido muito utilizado em medidas absolutas para a obtenção e verificação de propriedades ópticas dos tecidos biológicos [64–66], em especial o tecido cerebral. Entretanto, este modelo apresenta algumas desvantagens. Entre elas, a considerada mais significativa poderia ser a incapacidade de se distinguir entre as concentrações de hemoglobina no escalpo, no crânio e no córtex. Além disto, a camada da pele está sujeita a ruído fisiológico, que pode causar interferência no processo de obtenção de informações sobre a atividade cerebral em questão. Não obstante, é possível aproximá-lo como uma estrutura de camadas (pele, crânio, fluido crânio-encefálico e córtex). Neste capítulo, apresentamos os resultados obtidos quando utilizamos o modelo de DC em dados reais obtido em humanos. Estes resultados são comparados com o método tradicional na literatura, que utiliza o modelo semi-infinito.

5.1 Metodologia e protocolos

Para ilustrar o potencial do modelo de DC na área clínica coletamos dados em duas situações distintas envolvendo 2 grupos de voluntários diferentes. No primeiro experimento, coletamos dados de voluntários saudáveis a fim de buscar “padrões de normalidade” entre diferentes indivíduos. Para isto, foi recrutado um

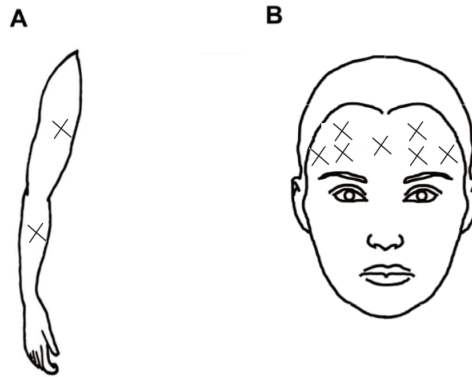


Figura 5.1: Diagrama esquemático dos lugares onde foi posicionada a sonda: A) no braço (2 posições) B) no cérebro (7 posições). O x indica o lugar aproximado onde foi colocada a sonda.

grupo composto por 34 pessoas (20 homens, 14 mulheres) com idade de 22 ± 4 anos. Os voluntários foram instruídos a não fazer nada e ficar quietos em uma cadeira. A sonda (Figura 4.5) foi colocada em 7 diferentes áreas da região pré-frontal e frontal da cabeça, também no braço e antebraço dos voluntários (ver figura 5.1). O tempo de cada medida foi de aproximadamente 120 segundos.

No segundo experimento, estávamos interessados em verificar potenciais diferenças nas medidas relativas ao longo do tempo estimadas pelo modelo de DC. Para isto, aproveitamos de uma situação clínica relevante através de uma colaboração com o grupo de Cirurgia Neurovascular do Hospital das Clínicas (HC) da Unicamp. Os dados deste segundo experimento foram adquiridos durante a cirurgia de endarterectomia de carótida em 10 pacientes com oclusão parcial na carótida interna. A sonda foi fixada em uma única posição na região pré-frontal do lado da artéria carotídea a qual estava sob operação, enquanto o paciente estava deitado na cama de cirurgia sob anestesia geral. O tempo de duração de todas as aquisições foi de aproximadamente 120 minutos (tempo total da cirurgia). Cabe ressaltar que durante este intervalo, as mudanças relevantes aconteceram enquanto foram campleadas e desclampeadas as artérias, como parte da cirurgia, o qual durava um tempo estimado de uns 20 minutos. Nos 2 experimentos, utilizamos o sistema comercial óptico descrito na seção 4.1.1. A sonda utilizada permite usar dois comprimentos de onda, dos quais foram escolhidos 690 nm e 850 nm por praticidade. As separações fonte-detector variam desde 1.5 até 3 cm, com incrementos de 0.5cm.

Todos os experimentos foram realizados no HC/UNICAMP, e o protocolo de pesquisa foi aprovado (a

priori) pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O modelo do termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos participantes está no apêndice C.

5.2 Comportamento linear predito pelo modelo SI

Assumir o tecido bem modelado por um meio homogêneo e semi-infinito fornece uma solução para a fluência com duas informações independentes: uma para a amplitude da fluência $A(\rho)$ e outra para a fase, $\theta(\rho)$. Além disso, se a fluência é medida numa distância maior do que a distância média de espalhamento dos fótons, este modelo prediz comportamentos lineares para o logaritmo da amplitude e para a fase, o que foi conferido no caso do tecido biológico ser a cabeça (ver figura 5.2) e com a sonda dada na figura 4.5. Note que destes comportamentos lineares para a amplitude e fase são calculadas as inclinações $k_r = 1.22(5)$ e $k_i = -0.200(2)1/cm$, e com as equações 3.30 e 3.31 são encontradas as propriedades ópticas aproximadas do cérebro, que no caso do comprimento de onda de 850 nm são: $\mu_a = 0.096(4)$, $\mu'_s = 5.0(2)1/cm$. Estes valores de absorção e de espalhamento são condizentes com a literatura ao ser utilizado o modelo SI [64]. No entanto, como veremos nas seguintes seções o modelo SI subestima μ_a e superestima μ'_s .

5.3 Propriedades ópticas absolutas dos tecidos no estado basal

Medidas absolutas DOS em cérebros humanos de adultos reportam estimativas de [HbT] no intervalo de ~ 42 a $95 \mu M$, e saturação de oxigênio no tecido cerebral no intervalo desde 57 % a 74 %, baseados no modelo semi-infinito [65, 66] ou de duas camadas [17, 67, 68]. Mesmo assim, o modelo semi-infinito subestima por

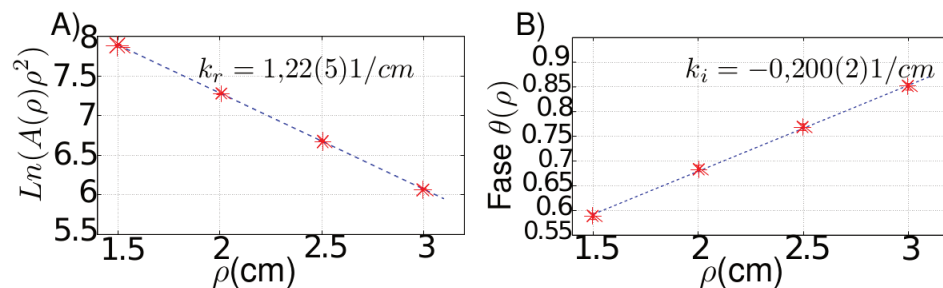


Figura 5.2: A) Comportamento linear para a amplitude do sinal detectado. B) Comportamento linear da defasagem do sinal detectado, em dados experimentais da cabeça.

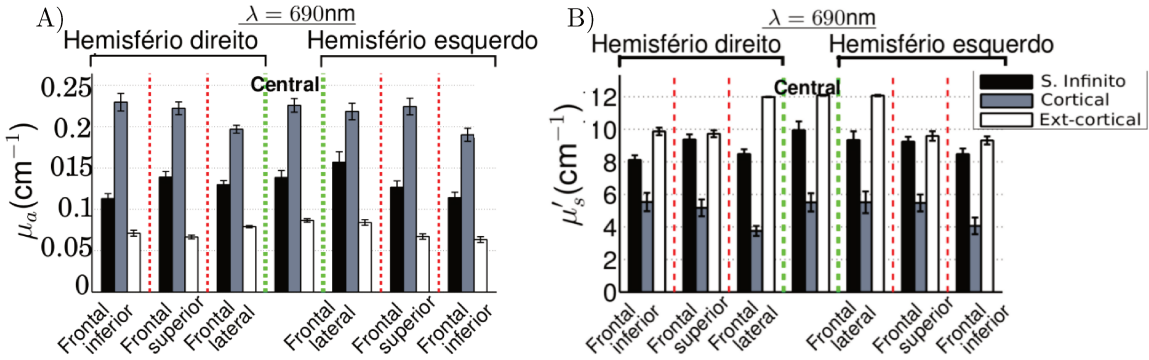


Figura 5.3: Médias para todos os voluntários de A) coeficiente de absorção (μ_a); B) espalhamento (μ'_s), em diferentes regiões da cabeça, no modelo de SI (barras pretas) e de DC (barra cinza representando o córtex e barra branca representando regiões superficiais), no comprimento de onda de $\lambda = 690\text{ nm}$.

volta de 30 % a [HbT] do cérebro em dados simulados [68] e em dados reais por volta de 50 % [17].

Por outro lado, o modelo de duas camadas tem mostrado ser adequado na hora de reproduzir os valores reais da camada inferior (cérebro), tanto em dados simulados [68] quanto em animais [69]. Além disto o modelo de DC, tem sido eficiente na hora de separar informação hemodinâmica (em dados simulados) proveniente da camada inferior (cortical) da camada superior (extra-cortical) com uma aproximação do 98 % em relação à hemodinâmica real simulada [70].

5.3.1 Cérebro

Os modelos SI e DC foram utilizados para encontrar as propriedades ópticas absolutas do cérebro. Para tal finalidade, foram adquiridos dados de 34 indivíduos, o que resultou na constatação de que realmente existem discrepâncias nas informações provenientes do córtex e dos resultados obtidos quando o modelo semi-infinito é empregado. Em resumo, quando comparado com o modelo de DC (na região cortical) o modelo SI subestima em aproximadamente 35 % o coeficiente de absorção e superestima em aproximadamente 55 % o coeficiente de espalhamento (tabela 5.1). Estas discrepâncias na absorção refletiu-se em subestimar [HbO₂], [HbR] e [HbT] em $\sim 29\%$, 45% e 35% , respectivamente; com isso, StO₂ foi superestimada em $\sim 10\%$ (tabela 5.2).

Valores apresentados na tabela 5.1 representam as médias dos coeficientes ópticos nas diferentes regiões para todos os voluntários. Como podemos observar na figura 5.3, tais valores correspondem ao comportamento geral das propriedades ópticas nas diferentes regiões sob estudo, devido à baixa variabilidade inter regiões. Um

resultado notável é que a absorção cortical μ_{a2} é consideravelmente maior do que a absorção extra-cortical (tabela 5.1), o que concorda com a fisiologia conhecida de que a região cerebral é uma região altamente vascularizada, portanto a mesma deve possuir altas concentrações de hemoglobina ($92(5) \mu\text{M}$) se comparadas com camadas superficiais ($23(2) \mu\text{M}$) (tabela 5.2). Em contraste, o espalhamento cortical medido nos sujeitos é mais baixo se comparado a regiões extra-corticais (ver tabela 5.1). Este espalhamento baixo na região cortical também é consistente com alguns valores reportados na literatura (tais como $2-5 \text{ cm}^{-1}$ [68] e 3 cm^{-1} [17]), e talvez sejam originados por fatores fisiológicos e do fato que a largura da primeira camada no nosso modelo de DC foi fixada para ser 1 cm. Como consequência de supor a largura da primeira camada, o que estamos considerando por segunda camada contenha parte do fluido cerebrospinal (CSF) (caracterizado por baixo espalhamento). Desta forma, ao calcularmos o coeficiente de espalhamento cortical, este é subestimado porque a região do CSF tem baixo espalhamento.

Outro aspecto relevante é que mesmo que a diferença entre os modelos DC e SI em $[\text{HbO}_2]$ e $[\text{HbT}]$ seja $\sim 30 \%$, a diferença em StO_2 quando este é calculado é $\sim 10 \%$. Entretanto, outros autores reportam diferenças relativas ao redor de 4% , ainda que ocorram discrepâncias maiores nas concentrações de hemoglobina nos dois modelos [17]. Para um melhor entendimento, suponha a seguinte situação: primeiro considere ΔX_{HbO_2} e ΔY_{HbT} como sendo respectivamente o valor que $[\text{HbO}_2]$ e $[\text{HbT}]$ cortical foram subestimadas pelo modelo SI; segundo, seja HbO_{2DC} e HbT_{DC} a oxí-hemoglobina e hemoglobina total cortical, respectivamente. Com estas duas considerações, $[\text{HbO}_2]$ calculado no modelo SI é: $\text{HbO}_{2DC} - \Delta X_{\text{HbO}_2}$. Assim, StO_2 será igual nos dois modelos se a seguinte relação é satisfeita:

Tabela 5.1: Valores médios de μ_a e μ'_s para todos os voluntários e todas as regiões, usando os modelos SI e DC, e a diferença percentual ($\Delta\% \text{ SI-DC}$) entre os parâmetros calculados pelo modelo SI e DC (na região cortical). Os números entre parênteses representam o desvio padrão entre as médias para todas as medidas.

λ	$\mu_a(\text{cm}^{-1})$ S. Infinito	$\mu_{a2}(\text{cm}^{-1})$ Cortical	$\mu_{a1}(\text{cm}^{-1})$ Extra-cortical	$\Delta\% \text{ SI-DC}$ (cortical)
690 nm	0.13(2)	0.21(1)	0.071(8)	-39
850 nm	0.15(1)	0.22(1)	0.069(4)	-30
	$\mu'_s(\text{cm}^{-1})$ S. Infinito	$\mu'_{s2}(\text{cm}^{-1})$ Cortical	$\mu'_{s1}(\text{cm}^{-1})$ Extra-cortical	$\Delta\% \text{ SI-DC}$ (cortical)
690 nm	9(1)	5(1)	11(1)	56
850 nm	8(1)	4(1)	11(1)	54

$$\frac{HbO_{2DC} - \Delta X_{HbO_2}}{HbT_{DC} - \Delta Y_{HbT}} = \frac{HbO_{2DC}}{HbT_{DC}}, \quad (5.1)$$

ou simplificando,

$$\frac{\Delta X_{HbO_2}}{\Delta Y_{HbT}} = \frac{HbO_{2DC}}{HbT_{DC}}. \quad (5.2)$$

De fato, não importa o quanto se subestime $[HbO_2]$ e $[HbT]$. Se os quocientes do que se subestima com o modelo SI cumprem a relação 5.2, os mesmos resultados de StO_2 serão obtidos em ambos modelos.

Dependência dos parâmetros ópticos com a idade

As propriedades ópticas tem mostrado uma dependência com a idade, de tal forma que os valores absolutos de absorção e espalhamento são menores em pessoas idosas quando comparadas com sujeitos jovens [64]. Tal efeito possivelmente está associado à rarefação microvascular cerebral [71] ou a uma deficiência dependente da idade, da perfusão e metabolismo associado a alguma neuropatologia [72]. Neste trabalho foi feita essa comparação incluindo o modelo de DC para o cálculo das propriedades ópticas. Cabe ressaltar que o número de idosos é pequeno ($n=4$), com idades em 55 ± 8 anos. Mesmo com o número de idosos baixo, as diferenças na absorção e espalhamento são notáveis ao ser usado o modelo SI (ver figura 5.4), tal como tem sido reportado na literatura [64]. No entanto, utilizando o modelo de DC, corticalmente essas diferenças não são tão claras. Se corticalmente não se observam estes comportamentos, poderia indicar que as diferenças encontradas com o modelo SI provavelmente tenham origem no modelo físico e não fisiológico. No entanto, é necessário um maior número de voluntários idosos a fim de realmente entender como as propriedades ópticas dependem da

Tabela 5.2: Valores médios das concentrações de $[HbO_2]$, $[HbR]$, $[HbT]$ e saturação de oxigênio (StO_2) em todas as regiões e todos os voluntários, usando o modelo de SI e DC, e diferença percentual ($\Delta\%$) no SI relativo ao cortical calculado pelo modelo de DC. Os números entre parênteses representam o desvio padrão entre as médias para todas as medidas.

	S. Infinito	Cortical	Extra-cortical	$\Delta\%$ SI-DC (cortical)
$[HbO_2](\mu M)$	41(4)	58(4)	11(1)	-29
$[HbR](\mu M)$	19(3)	34(3)	9(3)	-45
$[HbT](\mu M)$	60(7)	92(5)	23(2)	-35
$StO_2(\%)$	68(1)	63(3)	52(10)	10

idade.

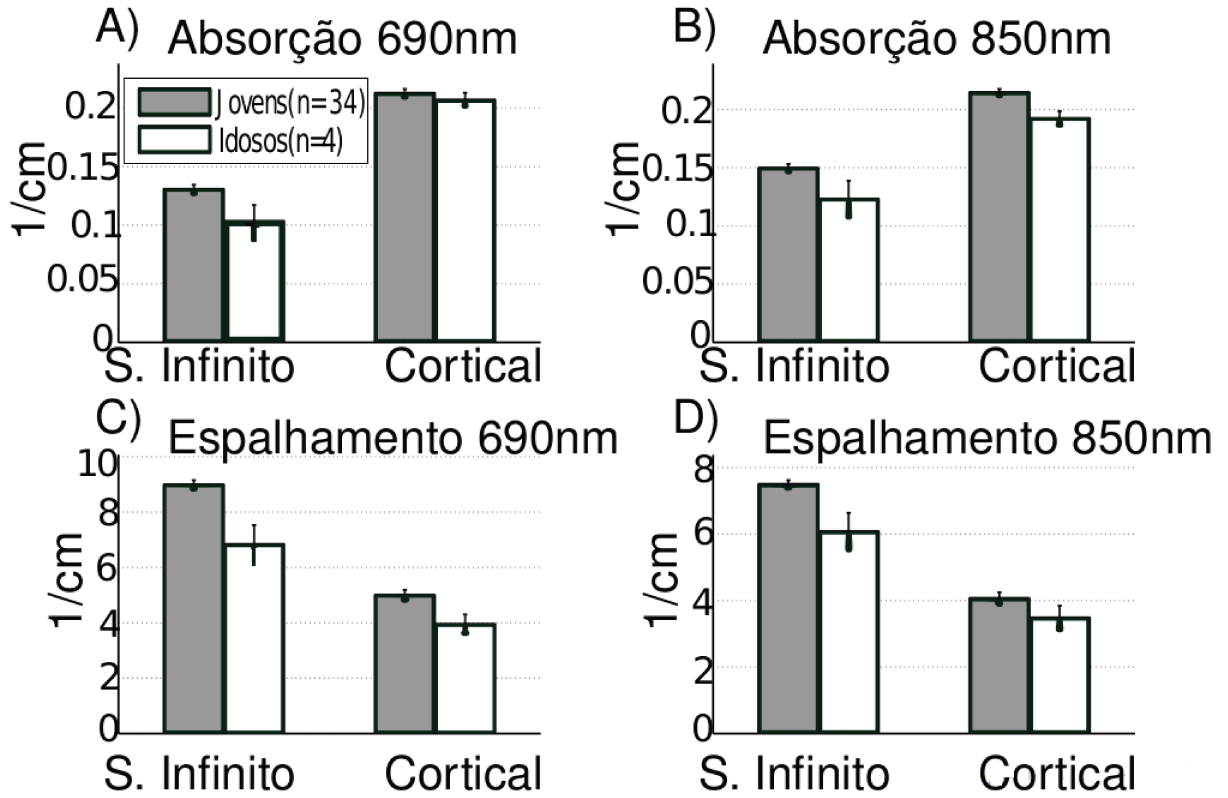


Figura 5.4: Média e erro padrão de medidas das propriedades ópticas absolutas, μ_a , μ'_s em sujeitos idosos e jovens, com os modelos de SI (esquerda) e de DC (direita).

5.3.2 Músculo

Dados de reflectância no braço e ante-braço (Figura 5.1) foram ajustados com o modelo de DC considerando a primeira camada para ser a pele e a segunda como o músculo. A largura da primeira camada foi fixada em 2 mm, de acordo com [73]. Os resultados das propriedades ópticas calculadas estão consignados na tabela 5.3. Os valores de discrepância para o braço e ante-braço, entre os dois modelos são menores dos que foram encontrados no cérebro.

Se pensarmos em que as diferenças ao calcular as propriedades ópticas com o modelo SI depende do quanto os fótons estão interagindo com uma região não desejada (regiões extra-corticais no caso da cabeça ou a pele no caso do braço), então faz sentido que o modelo de SI erre menos as propriedades ópticas do músculo quando comparadas ao cérebro, devido a que a largura da pele é de uns poucos milímetros. Por outro lado,

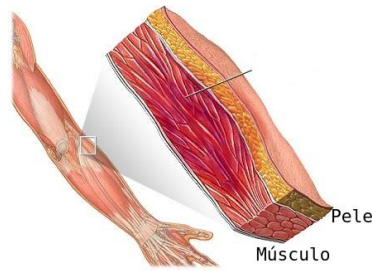


Figura 5.5: Representação de duas camadas para o músculo; primeira camada (pele), segunda camada (músculo). Imagem tirada de MedlinePlus.

mesmo assim os valores reportados pelos dois modelos tem discrepâncias maiores do que 10 % que pode ser atribuídas à modelagem física do problema. Um erro que também pode estar contribuindo nessa diferença está relacionado ao valor fixado para a largura da primeira camada, pois outros estudos mostraram que se o valor da largura da primeira camada é subestimado ou superestimado ao redor de 1 mm o valor medido pode carregar erros entre 10 %-15 % [68] .

5.4 Variações das propriedades ópticas em relação ao estado basal

A seção anterior mostrou que o modelo SI subestima μ_a e superestima μ'_s do córtex no estado basal. No entanto, não sabemos o que acontece com as variações relativas das propriedades ópticas ($\Delta\mu_a/\Delta\mu'_s$) nos dois modelos. Nesta seção usaremos os dois modelos em uma situação fora do estado de repouso, especificamente em uma cirurgia da artéria carótida chamada endarterectomia.

5.4.1 Endarterectomia de carótida

Endarterectomia de carótida é um tipo de cirurgia que é usada para prevenir acidentes vasculares cerebrais (AVCs) em pessoas com estenose da artéria carótida. A estenose da artéria carótida acontece se uma placa é acumulada em pelo menos uma das duas grandes artérias em cada lado do pescoço (as artérias carótidas (figura 5.6)). Estas placas podem ser formadas por gorduras, colesterol, cálcio, e outras substâncias encontradas no sangue. Ao longo do tempo, a placa se endurece e estreita as artérias carótidas. Isto limita ou bloqueia o fluxo de sangue rico em oxigênio para o cérebro, o qual pode conduzir a um AVC [74].

Tabela 5.3: Valores médios das propriedades ópticas tanto no braço quanto no ante-braço, usando o modelo de SI e DC, e a diferença percentual ($\Delta\%$) no SI relativo ao calculado pelo modelo de DC (no músculo). Os números entre parênteses representam o desvio padrão entre as médias para todas as medidas.

	S. Infinito	Músculo	Pele	$\Delta\%$ SI-DC(músculo)
Braço				
$\mu_a(690 \text{ nm})$	0.11(4)	0.15(1)	0.05(3)	-36
$\mu_a(850 \text{ nm})$	0.14(5)	0.15(1)	0.06(3)	-7
$\mu'_s(690 \text{ nm})$	4(1)	4.4(2)	3.8(4)	-10
$\mu'_s(850 \text{ nm})$	4(1)	4(1)	3.5(3)	0
Ante-braço				
$\mu_a(690 \text{ nm})$	0.11(2)	0.13(1)	0.10(4)	-18
$\mu_a(850 \text{ nm})$	0.14(3)	0.15(1)	0.07(4)	-7
$\mu'_s(690 \text{ nm})$	5(1)	4.6(2)	4.3(4)	8
$\mu'_s(850 \text{ nm})$	4(1)	4(1)	3.7(3)	0

Usualmente, nestas cirurgias o paciente estará sob anestesia geral. Normalmente se realiza um corte do lado do pescoço da carótida que será abordada. Em seguida o cirurgião isola a carótida das estruturas que a rodeiam. Posteriormente é ocluída (clampeada) a artéria que vai ser desobstruída, a fim de ter uma diminuição do fluxo de sangue na região de interesse. Em seguida é aberta a carótida numa região posterior de onde foi clampeada, e realizada a retirada da camada mais interna que possui as placas. É então realizado o fechamento da artéria na região que se tirou a placa e feito a desclampagem com retorno à circulação sanguínea normal [75].

5.4.2 Monitoramento durante intervenção cirúrgica e análise com o modelo SI

Dez voluntários foram monitorados durante a cirurgia de endarterectomia, e foram calculadas as diferentes espécies de hemoglobina e saturação de oxigênio com o modelo SI. De forma geral, todos os voluntários mantiveram variações hemodinâmicas estáveis antes do clampeamento e com uma saturação de oxigênio oscilando entre 65 a 68 %. No entanto, durante o clampeamento, 9 voluntários mostraram variações notáveis (ver figura 5.7, gráfico representativo de um sujeito). Por exemplo, no sujeito da figura 5.7 foi observado um notório decréscimo de aproximadamente 18.4 % na HbO₂ e um incremento de 18.9 % na HbR. Após a desclampagem se observou um comportamento inverso com um incremento de 40 % na HbO₂ e um decréscimo de 28 % na HbR.

Em contraste, um dos voluntários não teve mudanças durante o clampeamento, e teve variações relevantes

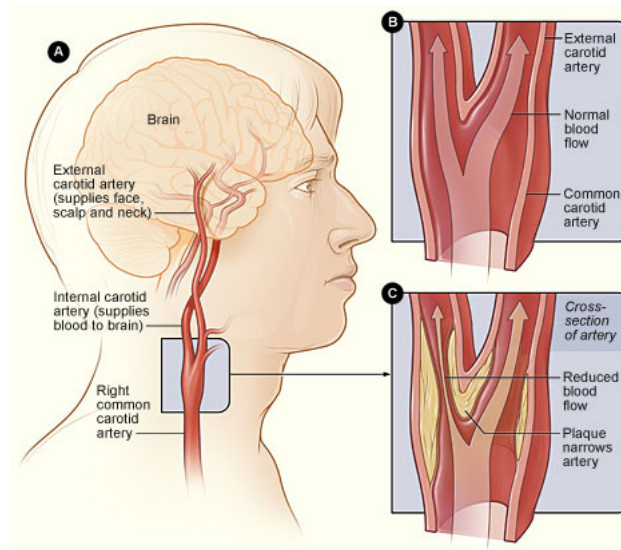


Figura 5.6: Há duas artérias carótidas, uma a cada lado do pescoço, que se dividem em uma externa e uma interna. A) mostra a localização da artéria carótida direita na cabeça e o pescoço. B) seção transversal de uma artéria carótida normal que tem um fluxo normal de sangue. Figura C) seção transversal de uma artéria carótida que tem uma placa acumulada reduzindo o fluxo. Imagem tirada de [74].

após a desclampeagem (Figura 5.8). De forma resumida, teve um incremento relativo de 40 % na HbO_2 , diminuição de 15 % na HbR , resultando num aumento da saturação de oxigênio de 13 %.

O objetivo principal da cirurgia é que o fluxo sanguíneo aumente depois de se retirar a placa. No entanto, pacientes com comportamentos como o mostrado na figura 5.7 podem não ter tido variações importantes imediatamente após a cirurgia. Por exemplo, o comportamento para $[HbO_2]$ antes da cirurgia oscila ao redor de $24 \mu M$, e depois de um certo tempo a $[HbO_2]$ tende a um valor próximo de $24 \mu M$. De forma análoga os outros parâmetros apresentam o mesmo comportamento. Em contraposição, o voluntário da figura 5.8 tem um aumento significativo do fluxo sanguíneo, de certa forma indicando o sucesso da cirurgia.

Por último, algo que podemos notar é que a hemoglobina total destes pacientes é significativamente baixa, se comparado ao valor médio encontrado para os voluntários jovens e saudáveis ($\sim 60(7) \mu M$). Nos 10 voluntários, HbT pré-cirurgia variam entre 31 e $47 \mu M$. Esses valores baixos podem estar relacionados a diferentes fatores, tais como: idade, anestesia ou doença de estenose de carótida. Mais experimentos devem ser feitos a fim de determinar e entender qual destas causas foi a responsável por tais valores baixos na hemoglobina total nos pacientes com estenose comparados aos voluntários jovens e saudáveis. Outro ponto relevante é que mesmo que se tem estes valores baixos na hemoglobina total, a saturação de oxigênio não foi tão diferente. Nos

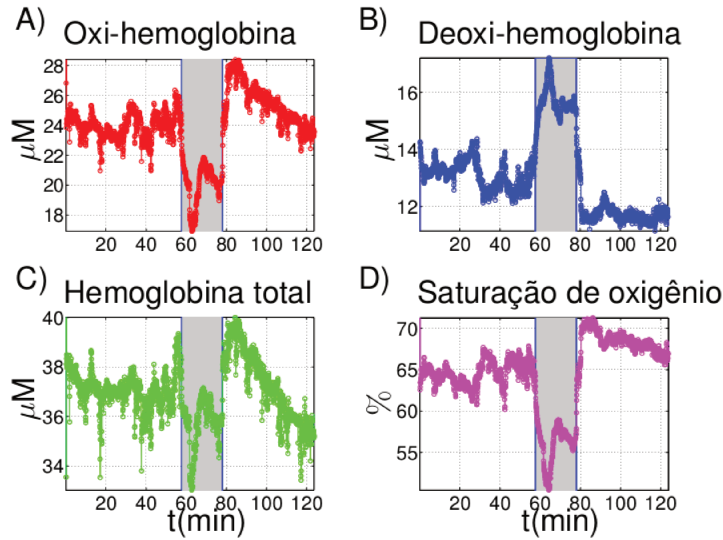


Figura 5.7: Parâmetros calculados com o modelo SI durante a cirurgia para um voluntário representativo (9/10). A) Oxi-hemoglobina (HbO_2); B) Deoxi-hemoglobina (HbR); C) Hemoglobina total (HbT) e ; D) Saturação de oxigênio pelo tecido (StO_2). Região cinza é o intervalo durante o clampeamento.

voluntários jovens temos $\sim 68(1)\%$, e nos pacientes de estenose, variam entre 61 e 68 %.

5.4.3 Comparação modelo SI e DC durante o clampeamento

Para ver o comportamento dos dois modelos quando há variações nas propriedades ópticas, usamos o sujeito da figura 5.7 (comportamentos similares se observaram em 9/10 voluntários) e se calculou a absorção no intervalo desde 8 minutos antes (baseline) até e 3 minutos após o desclampeamento. Usando os modelos SI e de DC, e se observou que as propriedades ópticas apresentam comportamentos semelhantes ao longo do tempo (ver figura 5.9) nos dois comprimentos de onda. A fim de quantificar essa semelhança entre estas séries temporais para as absorções (no modelo SI e de DC na segunda camada), se calculou o coeficiente de correlação temporal de Pearson [76], encontrando-se correlações de 0.8 e 0.9 para os comprimentos de onda de 690 nm e 850 nm, respectivamente (ver figura 5.10), sugerindo que a dinâmica do córtex (i.e. variações em relação ao estado basal) é conservada pelo modelo SI.

Com a finalidade de quantificar as variações durante o clampeamento com respeito ao baseline (8 minutos antes do clampeamento), se calculou a média das absorções durante o clampeamento e a média no baseline, e se fez a diferença, assim como na seguinte expressão:

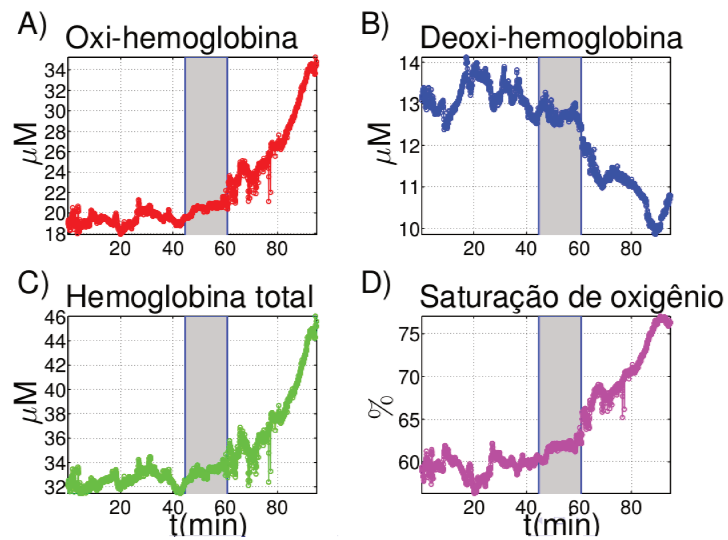


Figura 5.8: Parâmetros calculados com o modelo SI durante a cirurgia para um voluntário com resposta diferente do grupo (1/10). A) Oxi-hemoglobina (HbO_2); B) Deoxi-hemoglobina (HbR); C) Hemoglobina total (HbT) e ; D) Saturação de oxigênio pelo tecido (StO_2). Região cinza é o intervalo durante o clampeamento.

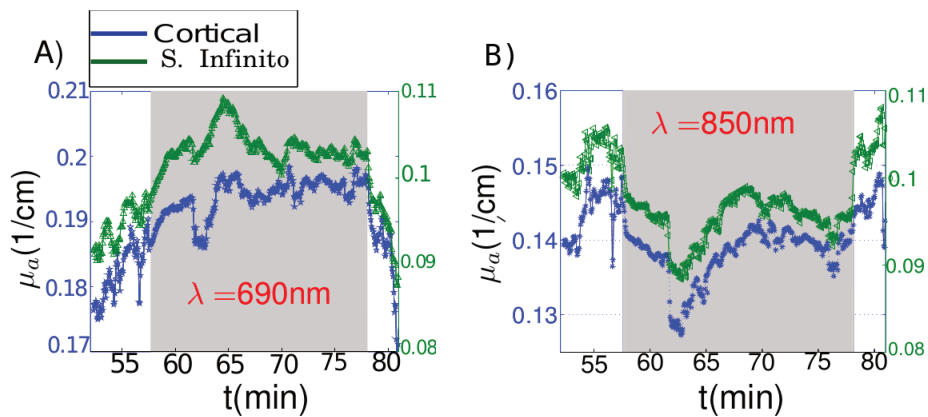


Figura 5.9: Absorção durante o clampeamento nos dois modelos (linha mais clara (verde) modelo SI, e mais escura (azul) no DC na região cortical), e nos dois comprimentos de onda: A) 690 nm, B) 850 nm.

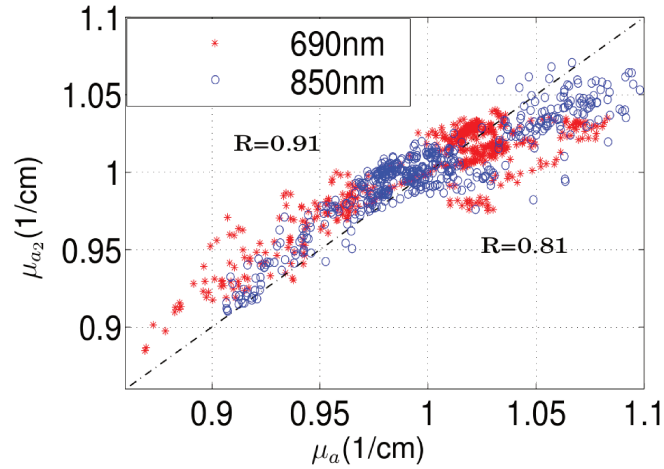


Figura 5.10: Coeficiente de absorção cortical (μ_{a_2}) normalizado pela média durante o clampeamento versus coeficiente absorção (μ_a) calculado no modelo SI normalizado pela média, no comprimento de onda de 690 nm (pontos vermelhos), e 850 nm (pontos azuis). Linha tracejada representa a proporção 1:1.

$$\Delta = [\text{média}(\text{clampeamento}) - \text{média}(8 \text{ min antes do clampeamento})]. \quad (5.3)$$

Tendo as variações nos coeficientes de absorção, calculamos as variações em $[\text{HbO}_2]$, $[\text{HbR}]$, $[\text{HbT}]$ e StO_2 . Os dados foram consignados na tabela 5.4, e mostram que não há diferenças significativas nas variações dos parâmetros obtidos nos dois modelos, evidenciando que o modelo SI não só reproduz a dinâmica do córtex, senão que ele também fornece informação quantitativa aproximada das variações das propriedades ópticas e hemodinâmicas que dependem da absorção no córtex.

Outra forma independente e mais simples de calcular as variações na absorção é usando a lei de Beer-Lambert-Modificada (BLM) [16], onde basicamente o logaritmo da atenuação da amplitude está diretamente relacionado com as variações na absorção, sem precisar da informação adicional da fase, além de supor que o coeficiente de espalhamento não varia (experimentos NIRS com onda contínua). Estes também foram consignados na tabela 5.4, não encontrando diferença significativa com as calculadas anteriormente com os modelos SI e DC. Isto mostra a validade NIRS em estudos funcionais do cérebro devido à generalidade dos modelos na hora de calcular as variações hemodinâmicas, e justifica o amplo uso da lei de BLM em estudos funcionais do cérebro.

Estes comportamentos estão em concordância com o fato de que a amplitude é mais sensível à absorção

Tabela 5.4: Variações dos parâmetros ópticos e fisiológicos com respeito ao baseline (8 minutos antes do clampeamento) nos modelos SI, DC e com a lei de BLM.

	S. Infinito	Cortical	BLM
$\Delta\mu_{a690}$ (1/cm)	0.009(3)	0.012(5)	0.010(4)
$\Delta\mu_{a850}$ (1/cm)	-0.007(3)	-0.055(5)	-0.058(5)
ΔHbO_2 (μM)	-5(2)	-4(2)	-4(1)
ΔHbR (μM)	3(1)	3(1)	3(1)
ΔHbT (μM)	-2(1)	-1(2)	-2(1)
ΔStO_2 (%)	-9(3)	-6(2)	-----

Tabela 5.5: Variações relativas dos parâmetros ópticos e fisiológicos com respeito ao baseline (8 minutos antes do clampeamento) nos modelos SI, DC.

	$\Delta\%$ S. Infinito	$\Delta\%$ Cortical
μ_{a690}	+8.6	+5.9
μ_{a850}	-6.7	-3.8
HbO ₂	-18.4	-14
HbR	18.9	9.6
HbT	-5.4	-2
StO ₂	-13.8	-12.5

(ver figuras 3.8 e 3.9 da seção 3.4). Pelos resultados obtidos com o modelo DC (tabela 5.1) sabemos que a absorção cortical é a absorção dominante. Por tal motivo, ao usar-se o modelo SI ou a lei de BLM, se obtém informações congruentes com a informação obtida pelo modelo DC no que respeita as variações das propriedades ópticas.

Finalmente se calcularam as variações relativas nas concentrações nos diferentes tipos de hemoglobina calculadas com respeito ao estado basal (8 minutos antes do clampeamento), que se mostraram diferentes nos dois modelos (Figura 5.5). Como podemos ver, variações relativas no modelo SI são maiores em relação às calculadas pelo modelo de DC sendo conseqüência de que o modelo SI subestima os valores absolutos.

Capítulo 6

Conclusões e perspectivas

Nesta dissertação mostramos que o processo de aquisição simultânea da fase e da amplitude da onda espalhada pelo meio turvo leva a uma quantificação absoluta das propriedades ópticas do tecido biológico. De maneira geral, conseguimos utilizar duas abordagens na técnica DOS no domínio da frequência, baseados na solução da equação de difusão tanto para um meio semi-infinito quanto para o meio de duas camadas, implementando uma rotina de ajuste para os dados experimentais. Particularmente para o modelo de DC, mostramos que nosso algoritmo é estável na faixa de μ_a/μ'_s de interesse ($\sim 0.02-0.25 \text{ cm}^{-1}$)/($\sim 2-9 \text{ cm}^{-1}$).

O estudo aprofundado dos modelos permitiu entender que a amplitude é mais sensível à absorção, e a fase tanto à absorção quanto ao espalhamento. O modelo de DC foi motivado pela tentativa de extrair informações internas nos tecidos (especialmente o cérebro). Desta forma, quando fizemos medidas DOS não invasivas tanto na cabeça humana quanto no braço, conseguimos calcular concentrações de hemoglobina e saturação de oxigênio em regiões extra-cerebrais (1 camada) e cerebrais (2 camada), como também da pele (1 camada) e músculo (2 camada).

Quando comparados os dois modelos em dados reais em humanos, o modelo SI consegue reproduzir a hemodinâmica da região cortical. Em contraste, subestima os coeficientes de absorção por volta do 30 % e superestima os coeficientes de espalhamento em ao redor de 50 % do tecido biológico, quando comparado ao modelo de DC. Algo notável é que o modelo SI é capaz de medir as variações corticais, e com uma boa aproximação ($\sim 10 \%$) a saturação de oxigênio cortical. No entanto, na hora de calcular valores absolutos

corticais, o modelo de DC se mostrou mais preciso, como já sugerido previamente [69]. Desta forma, em aplicações clínicas onde os valores absolutos são de grande importância é conveniente o uso do modelo de DC.

Adicionalmente, foi mostrado que a absorção cortical é de uma ordem de grandeza maior que a absorção extra-cortical, relacionado à alta vascularização cerebral. Uma limitação é fixação da espessura da primeira camada, que pode levar a que, o que estamos considerando por região cortical, também seja parte do fluido cerebrospinal que tem baixo espalhamento e baixa absorção, como consequência, se estão subestimando as propriedades ópticas da região cortical. Para superar este inconveniente, medidas adicionais com ressonância magnética podem fornecer os valores reais da espessura da primeira camada. Outra opção é aumentar o número de distâncias fonte-detector afim de ter um número maior de pontos para ajustar, e desta forma não fixar o valor para a espessura no algoritmo. No entanto, dois argumentos podem se usar em suporte da metodologia usada neste trabalho. O primeiro é que o coeficiente de espalhamento medido em 690 nm foi maior que em 850 nm, para todos os sujeitos tanto no modelo de SI quanto de DC, como o esperado pela teoria de Mie (equação 2.9). E o segundo, é que tanto as concentrações de hemoglobina quanto a saturação de oxigênio estão dentro do previamente reportado em cérebros humanos [17, 68, 78].

Propriedades ópticas calculadas pelo modelo SI mostraram uma dependência com a idade sendo que para voluntários saudáveis idosos os valores dos coeficientes ópticos foram menores quando comparados aos indivíduos saudáveis. No entanto, o modelo de DC não mostrou claras diferenças, mas é necessário um número de voluntários maior para chegar em alguma conclusão decisiva neste caso. Por outro lado, monitoramos uma cirurgia cardiovascular chamada endarterectomia que para o nosso conhecimento é a primeira vez que essa cirurgia é acompanhada por medidas DOS e analisadas simultaneamente pelo modelo SI e de DC. Aqui os valores para as concentrações de hemoglobina no sangue no baseline, em todos os pacientes se mostraram para ser menores do que nos indivíduos jovens e saudáveis. Ressaltando a importância dos valores absolutos no estado basal como biomarcadores.

No futuro, se espera que DOS seja uma ferramenta para uso primário no estudo de indivíduos saudáveis, para encontrar valores padrões em parâmetros tais como hemoglobina total e saturação de oxigênio pelo tecido, que possam ser usados como referência e sirvam na área de diagnóstico clínico. Além disso, a técnica

tem um grande potencial para monitoramento de pacientes que experimentam intervenções cirúrgicas, devido à sua portabilidade e baixo custo, servindo de apoio médico.

Bibliografia

- [1] F. F. Jobsis. "Noninvasive infrared monitoring of cerebral and myocardial sufficiency and circulatory parameters". *Science* 198 1264–7. (1977).
- [2] E. Gratton, Mantulin W W, van de Ven M J, Fishkin J, Maris M, and Chance B. "The possibility of a near-infrared imaging system using frequency-domain" methods *Proc. Third Int. Conf. on Peace Through Mind/Brain Science (Hamamatsu, Japan)* pp 183–9. (1990).
- [3] J. B. Fishkin and Gratton E. "Propagation of photon density waves in strongly scattering media containing an absorbing 'semi-infinite' plane bounded by a straight edge" *J. Opt. Soc. Am. A* 10 127–40. (1993).
- [4] B. Chance, Cope M, Gratton E, Ramanujam N and Tromberg B. "Phase measurement of light absorption and scattering in human tissues". *Rev. Sci. Instrum.* 69 3457–81. (1998).
- [5] B. W. Pogue and Patterson M S. "Frequency-domain optical-absorption spectroscopy of finite tissue volumes using diffusion-theory". *Phys. Med. Biol.* 39 1157–80. (1994).
- [6] M. S. Patterson, Chance B and Wilson B C. "Time resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurement of tissue optical properties". *Appl. Opt.* 28 2331–6. (1989).
- [7] D. A. Benaron and Stevenson D. K. "Optical time-of-flight and absorbance imaging of biologic media" *Science* 259 1463–6. (1993).
- [8] S. Andersson-Engels, Berg R, Svanberg S and Jarlman O. "Time-resolved transillumination for medical diagnostics". *Opt. Lett.* 15 1179–81. (1990).

- [9] S. L. Jacques. "Time-resolved reflectance spectroscopy in turbid tissues". *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 36 1155–61. (1989).
- [10] F. E. W. Schmidt, Fry M E, Hillman E M C, Hebden J C and Delpy D T. "A 32-channel time-resolved instrument for medical optical tomography". *Rev. Sci. Instrum.* 71 256–65. (2000).
- [11] V. Ntziachristos, Ma X H and Chance B. "Time-correlated single photon counting imager for simultaneous magnetic resonance and near-infrared mammography". *Rev. Sci. Instrum.* 69 4221–33. (1998).
- [12] A. M. Siegel, Marota J A and Boas D A. "Design and evaluation of a continuous-wave diffuse optical tomography system". *Opt. Express* 4 287–98. (1999).
- [13] S. Nioka, Luo Q and Chance B. "Human brain functional imaging with reflectance CWS". *Adv. Exp. Med. Biol.* 428 237–42. (1997).
- [14] W. Colier , van der Sluijs M C Messen J and Oeseburg B. "A new and highly sensitive optical brain imager with 50 Hz sample rate". *NeuroImage* 11 542. (2000).
- [15] J. P. Culver, Choe R, Holboke M J, Zubkov L, Durduran T, Slemp A, Ntziachristos V, Pattanayak D N, Chance B and Yodh A G. "Three-dimensional diffuse optical tomography in the plane parallel transmission geometry: evaluation of a hybrid frequency domain/continuous wave clinical system for breast imaging". *Med. Phys.* 30 235–47. (2003).
- [16] T. Durduran, & Choe, R.& Baker, W.B.& Yodh, A.G., "Diffuse optics for tissue monitoring and tomography", *Rep. Prog. Phys.*, vol. 73, 076701, 2010, (43 pp)
- [17] B. Hallacoglu, Sassaroli A, Fantini S "Optical Characterization of Two-Layered Turbid Media for Non-Invasive, Absolute Oximetry in Cerebral and Extracerebral Tissue". *PLoS ONE* 8(5) (2013)
- [18] C. F. Bohren and Huffman, D R. *Absorption and scattering of light by small particles*. First edn. New York: John Wiley and Sons, (1983).
- [19] P. Bouguer. *Essai d'optique sur la gradation de la lumière*. Section II. De la transparence et de l'opacité. II. De la proportion selon laquelle la lumière diminue en traversant les milieux, (1729).

- [20] J. H. Lambert. *Photometria, sive de mensura et gradibus luminis, colorum et umbrae*. Augsburg, 1760.
- [21] A. Beer. Bestimmung der Absorption des rothen Lichts in farbigen Flüssigkeiten. *Ann Physik Chem*, 86(5), 78–88, (1852).
- [22] E. N. Marieb. *Human Anatomy and Physiology*. Third edn. Redwood City, California: Benjamin/Cummings, (1995).
- [23] D. R. White, Widdowson, E M, Woodard, H Q, and Dickerson, J W. The composition of body tissues (II). Fetus to young adult. *Br J Radiol*, 64(758), 149–159, (1991).
- [24] S. J. Matcher, Cope, M, and Delpy, D T. Use of the water spectrum to quantify tissue chromophore concentration changes in near-infrared spectroscopy. *Phys Med Biol*, 39, 177–196. (1994).
- [25] A. Ishimaru, *Wave Propagation and Scattering in Random Media*, Vol. 1, Academic Press, New York (1978).
- [26] G. Mie. Beitrage zur Optik trüber Medien speziell kolloidaler Metallösungen. *Ann Physik*, 25, 377–445, 1908.
- [27] I. M. Michael. "Scattering, Absorption, and Emission of light by Small particles". CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 2002.
- [28] Rayleigh, Lord. On the light from the sky, its polarisation and colour. *Philos Mag*, 41(273), 107–120, 1871a.
- [29] A. F. Stevenson. "Solution of electromagnetic scattering problems as power series in the ratio (dimension of scatterer/wavelength)". *J. Appl. Phys.* 24, 1134–1142, 1953.
- [30] D. V. Lebedev, M. V. Filatov, A. I. Kuklin, A. K. Islamov, E. Kentzinger, R. Pantina, B. P. Toperverg, and V. V. Isaev-Ivanov, "Fractal nature of chromatin organization in interphase chicken erythrocyte nuclei: DNA structure exhibits biphasic fractal properties," *FEBS Lett* 579, 1465–1468 (2005).
- [31] G. E. Palade. *Mitochondria*. Baltimore: University Park Press. Chap. "An electron microscopy study of the mitochondrial structure", paginas 35–58. (1972).

- [32] K. F. Ross. "Phase contrast and interference microscopy for cell biologists". London: Edward Arnold. (1967).
- [33] A. W. Guy. *et al.*, "Nonionizing Electromagnetic Wave Effects in Biological Materials and Systems". IEEE. Vol 60, No. 6. (1972).
- [34] J. R. Mourant, Freyer, J P, Hielscher, A H, Eick, A A, Shen, D, and Johnson, T M. "Mechanisms to light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics". *Appl Opt*, 37(16), 3586–3593, 1998.
- [35] A. M. Nilsson, Stureson, C, Liu, D L, and Andersson-Engels, S. "Changes in spectral shape of tissue optical properties in conjunction with laser-induced thermotherapy". *Appl Opt*, 37(7), 1256–1267. (1998).
- [36] B. Beauvoit, and Chance, B. "Time-resolved spectroscopy of mitochondria, cells and tissues under normal and pathological conditions". *Mol Cell Biochem*, 184, 445–455. (1998).
- [37] J. Beuthan, Minet, O, Helfman, J, Herrig, M, and Müller, G. "The spatial variation of the refractive index in biological cells". *Phys Med Biol*, 41, 369–382. (1996).
- [38] F. E. Schmidt, Fry, M E, Hillman, E M, and Hebden, J C. A. "32-channel time-resolved instrument for medical optical tomography". *Rev Sci Instrum*, 71(1), 256–265. (2000).
- [39] J. M. Steinke, and Shepherd, A P. "Comparison of Mie theory and the light scattering of red blood cells". *Appl Opt*, 27(19), 4027–4033. (1988).
- [40] L.V. Wang. and Wu H. "Biomedical optics: principles and imaging", 1st ed., John Wiley & Sons Inc., New Jersey. (2007)
- [41] L.J. Steven, and Brian W.P. Tutorial on diffuse light transport. *J. Biomed. Opt* 13(4), 041302. (2008).
- [42] D. A. Boas, M. A. O'Leary, B. Chance, and A. G. Yodh. "Scattering and wavelength transduction of diffuse photon density waves". *Physical Review E*, 47:R2999–R3002. (1993).

- [43] M. A. O’Leary, D. A. Boas, B. Chance, and A. G. Yodh. ”Refraction of diffuse photon density waves”. *Physical Review Letters*, 69(18):2658–2661, (1992).
- [44] J. M. Schmitt, A. Knüttel, and J. R. Knutson. ”Interference of diffusive light waves”. *J. Opt. Soc. Am. A*, 9(10):1832–1843, (1992).
- [45] J. Bruce. Tromberg, Lars O. Svaasand, Tsong-Tseh Tsay, and Richard C. Haskell. ”Properties of photon density waves in multiple-scattering media”. *Appl. Opt.*,32(4):607–616, (1993).
- [46] R. Choe. ”Diffuse optical tomography and spectroscopy of breast cancer and fetal brain.”PhD thesis.Philadelphia: University of Pennsylvania, 2005.
- [47] R. C. Haskell, Svaasand L O, Tsay T, Feng T, McAdams M S and Tromberg B J. ”Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer”. *J. Opt. Soc. Am. A* 11 2727–41. (1994).
- [48] M. Keijzer, W. M. Star, and P. R. M. Storchi, ”Optical diffusion in layered media,”*Appl. Opt.* 27, 1820-1824 (1988).
- [49] J. X. Zhu, D. J. Pine, and D. A. Weitz, ”Internal reflection of diffusive light in random media,”*Phys. Rev. A* 44, 3948-3959 (1991).
- [50] A. Lagendijk, R. Vreeker, and P. DeVries, ”Influence of internal reflection on diffusive transport in strongly scattering media,”*Phys. Lett. A* 136, 81-88 (1989)
- [51] G. H. Bryan, ”An application of the method of images to the conduction of heat,”*Proc. London Math. Soc.* 22, 424-4300 (1981)
- [52] D. Ben-Avraham, H. Taitelbaum, and G. H. Weiss, ”Boundary conditions for a model of photon migration in a turbid medium,”*Lasers Life Sci.* 4, 29-36 (1991).
- [53] R. B. Saager and A. J. Berger, ”Direct characterization and removal of interfering absorption trends in two-layer turbid media,” *J. Opt. Soc. Am. A* 22, 1874–1882 (2005).
- [54] T. S. Leung, C. E. Elwell, and D. T. Delpy, ”Estimation of cerebral oxy- and deoxy-haemoglobin concentration change in a layered adult head model using near-infrared spectroscopy and multivariate statistical analysis,” *Phys. Med. Biol.* 50, 5783–5798 (2005).

- [55] I. Dayan, S. Havlin, and G. H. Weiss, “Photon migration in a two-layer turbid medium. A diffusion analysis,” *J. Mod. Opt.* 39, 1567–1582 (1992)
- [56] A. Kienle, Michael S. Patterson, Nora Dognitz, Roland Bays, Georges Wagnieres, and Hubert van den Bergh ”Noninvasive determination of the optical properties of two-layered turbid media”*J. Opt. Soc. Am. A.* Vol. 37, No. 4 (1998)
- [57] A. Liemert, Kienle. ”A Light diffusion in a turbid cylinder. II. Layered case”. *Opt Express* 18: 9266–9279. (2010).
- [58] K. Madsen, Nielsen HB, Tingleff O (2004) Methods for non-linear least squares problems, Technical Report. Informatics and Mathematical Modelling Technical University of Denmark.
- [59] S. Wray, Cope M, Delpy DT, Wyatt JS, Reynolds EO. “Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome aa3 and haemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation”. *Biochim Biophys Acta* 933: 184–192. (1988).
- [60] D. M. Hueber, S. Fantini, A. E. Cerussi and B. Barbieri ”New Optical Probe Designs for Absolute (Self-calibration) NIR Tissue Hemoglobin Measurements” Part of the SPIE Conference on Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue III. San jose, California. January . SPIE, 3597, 0277-786 (1999)
- [61] C. Hock *et al.*, “Age dependency of changes in cerebral hemoglobin oxygenation during brain activation: a near-infrared spectroscopy study,” *J. Cereb. Blood Flow. Metab* 15(6), 1103–1108 (1995).
- [62] M. Kameyama *et al.*, “Sex and age dependencies of cerebral blood volume changes during cognitive activation: a multichannel near- infrared spectroscopy study,” *Neuroimage* 22(4), 1715–1721 (2004).
- [63] I. L Kwee and T. Nakada, “Dorsolateral prefrontal lobe activation declines significantly with age—functional NIRS study,” *J. Neurol.* 250(5), 525–529 (2003).
- [64] B. Hallacoglu *et al.* ”Absolute measurement of cerebral optical coefficients, hemoglobin concentration and oxygen saturation in old and young adults with near-infrared spectroscopy”*J. Biomed. Opt.* 17(8), 081406 (2012).

- [65] R. Gatto *et al.*, “Age effects on brain oxygenation during hypercapnia,” *J. Biomed. Opt.* 12(6), 062113 (2007).
- [66] E. Ohmae *et al.*, “Cerebral hemodynamics evaluation by near-infrared time-resolved spectroscopy: correlation with simultaneous positron emission tomography measurements,” *Neuroimage* 29(3), 697–705 (2006).
- [67] J. Choi *et al.*, “Noninvasive determination of the optical properties of adult brain: near-infrared spectroscopy approach,” *J. Biomed. Opt.* 9(1), 221–229 (2004).
- [68] L. Gagnon *et al.* “Double-layer estimation of intra- and extracerebral hemoglobin concentration with a time-resolved system,” *J. Biomed. Opt.* 13(5), 054019 (2008).
- [69] R. Choe, Durduran T, Yu G, Nijland MJ, Chance B, et al. Transabdominal near infrared oximetry of hypoxic stress in fetal sheep brain in utero. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 12950–12954.(2003).
- [70] B. Rolf. Saager *et al.* ”Direct characterization and removal of interfering absorption trends in two-layer turbid media” *J. Opt. Soc. Am. A / Vol. 22, No. 9* (2005)
- [71] W. R. Brown and C. R. Thore, “Review: cerebral microvascular pathology in ageing and neurodegeneration,” *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 37(1), 56–74 (2011).
- [72] C. Iadecola, “The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia,” *Acta Neuropathol.* 120(3), 287– 296 (2010).
- [73] V. Tuchin, ”Ligth Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis”. Second edition. SPIE, (2007)
- [74] National Heart, Lung, and Blood institute ”What is Carotid Endarterectomy?”
- [75] Albert Einstein Hospital Israelita, Informativo do procedimento, ”Endarterectomia para tratamento de estenose de carótida”
- [76] F. S. Acton. ‘ ‘Analysis of Straight-Line Data”. New York: Dover, 1966.

- [77] O.B. Paulson, Strandgaard S, Edvinsson L (1990). "Cerebral autoregulation". *Cerebrovascular and brain metabolism reviews* 2 (2): 161–192. PMID 2201348
- [78] M.A. Franceschini, Thaker S, Themelis G, Krishnamoorthy KK, Bortfeld H, et al. "Assessment of infant brain development with frequency-domain near- infrared spectroscopy". *Pediatr Res* 61: 546–551. (2007).

Apêndice A

Equação de transferência radiativa e dedução da equação de difusão

A.1 Aproximação de difusão

O ponto de partida para a equação de difusão é a equação de transferência:

$$\begin{aligned} \frac{1}{v} \frac{\partial L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t)}{\partial t} &= \nabla \cdot (L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) \hat{\Omega}) \\ &- \mu_s(\mathbf{r}) \int_{\Omega'} L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}', t) P(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}') d\Omega' + (\mu_s(\mathbf{r}) + \mu_a(\mathbf{r})) L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) + Q(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t), \end{aligned} \quad (\text{A.1})$$

onde integrando em Ω

$$\begin{aligned} \frac{1}{v} \frac{\partial}{\partial t} \int_{\Omega} L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) d\Omega &= \nabla \cdot \int_{\Omega} L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) \hat{\Omega} d\Omega \\ &- \mu_s(\mathbf{r}) \int_{\Omega'} L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}', t) \int_{\Omega} P(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}') d\Omega d\Omega' + (\mu_s(\mathbf{r}) + \mu_a(\mathbf{r})) \int_{\Omega} L(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) d\Omega + \\ &\int_{\Omega} Q(\mathbf{r}, \hat{\Omega}, t) d\Omega, \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

considerando invariância rotacional e a normalização para a seção de choque diferencial

$$\int P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega = \int P(\widehat{\Omega} \cdot \widehat{\Omega}') d\Omega = 1 \quad (\text{A.3})$$

A equação A.3 trata os fótons como se fossem bolas de bilhar experimentando colisões elásticas. Usando as definições para a fluência ϕ e o fluxo \mathbf{j} :

$$\frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = v \nabla \cdot (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t)) - v \mu_a(\mathbf{r}) \phi(\mathbf{r}, t) + v S(\mathbf{r}, t) \quad (\text{A.4})$$

onde

$$\begin{aligned} S(\mathbf{r}, t) &= \int Q(\mathbf{r}, \widehat{\Omega}, t) d\Omega, \\ \phi(\mathbf{r}, t) &= \int L(\mathbf{r}, \widehat{\Omega}, t) d\Omega, \\ \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) &= \int L(\mathbf{r}, \widehat{\Omega}, t) \widehat{\Omega} d\Omega. \end{aligned} \quad (\text{A.5})$$

Quando o espalhamento é muito maior do que a absorção é considerada a **aproximação de difusão**. Nela é assumido que a radiância encontra muitas partículas e é espalhada quase uniformemente em todas as direções. E portanto a sua distribuição angular é quase uniforme, mas, sua dependência angular não pode ser constante porque, se fosse constante, o fluxo seria zero e não teria potência líquida propagando-se. Assim a radiância é uniforme com uma pequena contribuição do fluxo na direção $\widehat{\Omega}$ [25],

$$L(\mathbf{r}, \widehat{\Omega}, t) = \frac{1}{4\pi} \phi(\mathbf{r}, t) + \frac{3}{4\pi} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}. \quad (\text{A.6})$$

Agora substituindo na equação A.1 e multiplicando por $\widehat{\Omega}$ e depois integrando em Ω

$$\begin{aligned} \frac{1}{v} \frac{\partial}{\partial t} \int_{\Omega} \left[\phi(\mathbf{r}, t) + 3\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega &= \int_{\Omega} \nabla \cdot \left[\left(\phi(\mathbf{r}, t) + 3\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \right) \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega \\ - \mu_s(\mathbf{r}) \int_{\Omega'} \int_{\Omega} \left[\phi(\mathbf{r}, t) + 3\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}' \right] \widehat{\Omega} P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega d\Omega' &+ (\mu_s(\mathbf{r}) + \mu_a(\mathbf{r})) \int_{\Omega} \left[\phi(\mathbf{r}, t) + 3\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega + \\ 4\pi \int_{\Omega} Q(\mathbf{r}, \widehat{\Omega}, t) \widehat{\Omega} d\Omega, \end{aligned} \quad (\text{A.7})$$

as seguintes integrais são nulas devido à simetria¹

$$\begin{aligned}
\int_{4\pi} \widehat{\Omega} d\Omega &= 0, \\
4\pi \int_{4\pi} Q(\mathbf{r}, \widehat{\Omega}, t) \widehat{\Omega} d\Omega &= 0, \\
\int_{4\pi} \phi(\mathbf{r}, t) \widehat{\Omega} d\Omega &= \phi(\mathbf{r}, t) \int_{4\pi} \widehat{\Omega} d\Omega = 0,
\end{aligned} \tag{A.8}$$

portanto a equação A.7 fica como:

$$\begin{aligned}
\frac{3}{v} \frac{\partial}{\partial t} \int_{\Omega} (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega &= \int_{\Omega} \nabla \cdot \left[\left(\phi(\mathbf{r}, t) + 3\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \right) \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega \\
- 3\mu_s(\mathbf{r}) \int_{\Omega'} \int_{\Omega} (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}') \widehat{\Omega} P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega d\Omega' &+ \\
3(\mu_s(\mathbf{r}) + \mu_a(\mathbf{r})) \int_{\Omega} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \widehat{\Omega} d\Omega,
\end{aligned} \tag{A.9}$$

a primeira integral na equação anterior se pode solucionar tendo em conta que $\int_{4\pi} (\mathbf{A} \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega = \frac{4\pi}{3} \mathbf{A}$, para qualquer vetor, \mathbf{A} . A segunda pode-se fazer o seguinte

$$\begin{aligned}
\int_{\Omega} \nabla \cdot \left[\left(\phi(\mathbf{r}, t) + 3\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \right) \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega &= \int_{\Omega} \nabla \cdot (\phi(\mathbf{r}, t) \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega + 3 \int_{\Omega} \nabla \cdot (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega \\
= \int_{\Omega} \left[\nabla \phi(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} + \phi(\mathbf{r}, t) \nabla \cdot \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega &+ 3 \int_{\Omega} \left[\nabla (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \cdot \widehat{\Omega} + \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \nabla \cdot \widehat{\Omega} \right] \widehat{\Omega} d\Omega \\
= \int_{\Omega} (\nabla \phi(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega &+ 3 \int_{\Omega} (\nabla (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega \\
= \frac{4\pi}{3} \nabla \phi(\mathbf{r}, t).
\end{aligned} \tag{A.10}$$

Nas últimas duas integrais usou-se os fatos de que $\int_{4\pi} (\mathbf{A} \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega = \frac{4\pi}{3} \mathbf{A}$ e $\int_{4\pi} (\nabla (\mathbf{A}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega} d\Omega = 0$ para qualquer vetor, \mathbf{A} (ver [25]). Na terceira integral $(\int_{\Omega'} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \int_{\Omega} \widehat{\Omega} P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega d\Omega')$ pode-se fazer primeiro a integral $\int_{\Omega} \widehat{\Omega} P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega$ sendo que é proporcional a $\widehat{\Omega}'$, isto é:

$$\int_{\Omega} \widehat{\Omega} P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega = g \widehat{\Omega}' \tag{A.11}$$

¹Ou fluxo ser zero através de uma esfera de raio unitário

para encontrar g multiplicamos por $\widehat{\Omega}'$ obtendo

$$g = \int_{\Omega} \widehat{\Omega} \cdot \widehat{\Omega}' P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega = \langle \cos(\theta) \rangle. \quad (\text{A.12})$$

Assim

$$\int_{\Omega'} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega} \int_{\Omega} \widehat{\Omega} P(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') d\Omega d\Omega' = g \int_{\Omega'} (\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \cdot \widehat{\Omega}) \widehat{\Omega}' d\Omega' = g \frac{4\pi}{3} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \quad (\text{A.13})$$

Desta forma chegamos a:

$$\begin{aligned} \frac{3}{v} \frac{4\pi}{3} \frac{\partial \mathbf{j}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} &= \frac{4\pi}{3} \nabla \phi(\mathbf{r}, t) - 3g\mu_s \frac{4\pi}{3} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) + 3(\mu_s + \mu_a) \frac{4\pi}{3} \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \implies \\ \frac{1}{v} \frac{\partial \mathbf{j}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} &= \frac{1}{3} \nabla \phi(\mathbf{r}, t) - g\mu_s \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) + (\mu_s + \mu_a) \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \implies \\ \frac{1}{v} \frac{\partial \mathbf{j}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} &= \frac{1}{3} \nabla \phi(\mathbf{r}, t) + (\mu'_s + \mu_a) \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \implies \\ \frac{1}{v(\mu'_s + \mu_a)} \frac{\partial \mathbf{j}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} &= \frac{1}{3(\mu'_s + \mu_a)} \nabla \phi(\mathbf{r}, t) + \mathbf{j}(\mathbf{r}, t), \quad (\text{A.14}) \end{aligned}$$

onde $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$ é o coeficiente de espalhamento reduzido. Desta forma chegamos a:

$$\frac{3D(\mathbf{r})}{v} \frac{\partial \mathbf{j}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = D(\mathbf{r}) \nabla \phi(\mathbf{r}, t) + \mathbf{j}(\mathbf{r}, t), \quad (\text{A.15})$$

onde $D \equiv v/3(\mu'_s + \mu_a) \simeq v/3\mu'_s$ é o coeficiente de difusão fotônica.

Fazendo a divergência da equação A.14, supondo constante $D(\mathbf{r})$ e combinando com A.4

$$\frac{3D}{v^2} \frac{\partial}{\partial t} \left[\frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + v\mu_a \phi(\mathbf{r}, t) - vS(\mathbf{r}, t) \right] = D \nabla^2 \phi(\mathbf{r}, t) + \frac{1}{v} \left[\frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + v\mu_a \phi(\mathbf{r}, t) - vS(\mathbf{r}, t) \right], \quad (\text{A.16})$$

o lado esquerdo da anterior equação pode ser desprezado se $\frac{3Dw}{v^2} \ll 1$ e isto é verdade para $w \ll 6$ Grad/s [47].

No nosso caso $w = 2\pi * 110$ Mrad/s, portanto

$$\frac{1}{v} \frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = D \nabla^2 \phi(\mathbf{r}, t) - \mu_a \phi(\mathbf{r}, t) + S(\mathbf{r}, t), \quad (\text{A.17})$$

que é a equação de difusão.

Apêndice B

Função de Green para a equação de difusão

Então estamos interessados nas soluções que oscilam na mesma frequência que a fonte, essas soluções podem-se escrever na forma [51]

$$\phi_{ac}(\mathbf{r}, t) = \phi(\mathbf{r})e^{-i\omega t}, \quad (\text{B.1})$$

substituindo na equação B.1 na equação A.17 obtemos

$$D(e^{-i\omega t}\nabla^2\phi(\mathbf{r})) - v\mu_a\phi(\mathbf{r})e^{-i\omega t} = -vM_{ac}\delta(\mathbf{r}) - i\omega e^{-i\omega t}\phi(\mathbf{r}), \quad (\text{B.2})$$

agora fatorando e dividindo por $e^{-i\omega t}$, a ambos lados da equação B.2 temos a equação de Helmholtz

$$\nabla^2\phi(\mathbf{r}) - k^2\phi(\mathbf{r}) = -v\frac{M_{ac}}{D}\delta(\mathbf{r}), \quad (\text{B.3})$$

com $k^2 = \frac{v\mu_a}{D} - \frac{i\omega}{D}$. Para solucionar a anterior equação primeiro achamos a solução para a equação homogênea

$$\nabla^2\psi(\mathbf{r}) - k^2\psi(\mathbf{r}) = 0, \quad (\text{B.4})$$

que nas coordenadas esféricas pode-se escrever como

$$\frac{1}{r} \frac{d^2(r\psi(\mathbf{r}))}{dr^2} - k^2\psi(\mathbf{r}) = 0, \quad (\text{B.5})$$

se $w = \psi(\mathbf{r})r$ temos

$$\frac{d^2(w)}{dr^2} - k^2w = 0, \quad (\text{B.6})$$

cuja solução geral é:

$$w = Ae^{-kr} + Be^{kr}, \quad (\text{B.7})$$

de onde

$$\psi = \frac{Ae^{-kr}}{r} + \frac{Be^{kr}}{r}. \quad (\text{B.8})$$

E das considerações físicas a solução aceitável é proporcional a

$$\psi = \frac{e^{-kr}}{r}. \quad (\text{B.9})$$

Voltando a nosso problema inicial de resolver a equação B.3 e com $L\Theta = \nabla^2\Theta - k^2\Theta$ e, considerando o

Teorema da Divergência

$$\int_V \nabla \cdot \vec{A} dV' = \oint_S \vec{A} \cdot \vec{n} dA', \quad (\text{B.10})$$

a continuação façamos $A = \phi \nabla \psi$, pelo qual a equação B.10 será dada por

$$\int_V (\phi \nabla^2 \psi + \nabla \phi \cdot \nabla \psi) dV' = \oint_S \phi \frac{\partial \psi}{\partial n} dA', \quad (\text{B.11})$$

trocando ϕ por ψ e, subtraindo na equação B.11 temos ¹:

$$\int_V (\phi \nabla^2 \psi - \psi \nabla^2 \phi) dV' = \oint_S (\phi \frac{\partial \psi}{\partial n} - \psi \frac{\partial \phi}{\partial n}) dA', \quad (\text{B.12})$$

¹ Teorema de Green

somando e subtraindo $k^2\phi\psi$ ao lado esquerdo da anterior equação temos

$$\int_V (\phi L\psi - \psi L\phi) dV' = \oint_S \left(\phi \frac{\partial \psi}{\partial n} - \psi \frac{\partial \phi}{\partial n} \right) dA', \quad (\text{B.13})$$

agora com as equações B.3 e B.9 na equação B.13, e tendo em conta as descontinuidades em zero da solução ψ ²

$$\begin{aligned} \int_V (\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) (-4\pi\delta(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)) - \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} (-v \frac{M_{ac}}{D} \delta(\mathbf{r}')) dV' = \\ \oint_S (\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) \frac{\partial}{\partial n} \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} - \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \frac{\partial \phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{\partial n}) dA', \end{aligned} \quad (\text{B.14})$$

realizando a integral do lado esquerdo temos

$$\begin{aligned} -4\pi\phi(r) - v \frac{M_{ac}}{D} \frac{e^{-kr}}{r} = \\ \oint_S (\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) \frac{\partial}{\partial n} \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} - \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \frac{\partial \phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{\partial n}) dA', \end{aligned} \quad (\text{B.15})$$

que no caso de um meio infinito ($r \rightarrow \infty \Rightarrow \frac{1}{r} \rightarrow 0$), a integral do lado direito se anula portanto

$$\phi(\mathbf{r}) = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \frac{e^{-kr}}{r}. \quad (\text{B.16})$$

Juntando as equações B.1 e B.16 obtemos

$$\phi_{ac}(\mathbf{r}, t) = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \frac{e^{-kr}}{r} e^{-i\omega t}, \quad (\text{B.17})$$

que é a taxa de fluência para um meio infinito [16].

A fim de encontrar a função de Green para a equação de difusão e considerar outras geometrias além do meio infinito reescrevamos a equação B.13 assim:

²e da definição da função delta em o integrando é dizer $\int L(\frac{e^{kr}}{r}) dv = -4\pi \int \delta(r) dv$

$$\int_V (\phi L(\psi)) dV' = \oint_S (\phi \frac{\partial \psi}{\partial n} - \psi \frac{\partial \phi}{\partial n}) dA' - \int_V (\psi L(\phi)) dV', \quad (\text{B.18})$$

tendo em conta os casos em que $L(\phi) = -f$ para $L(\psi) = 0$ ou $\psi = \frac{e^{-kr}}{r}$ por separado, obtemos as seguintes equações, respectivamente,

$$0 = \oint_S (\phi \frac{\partial \psi}{\partial n} - \psi \frac{\partial \phi}{\partial n}) dA' + \int_V (\psi f) dV', \quad (\text{B.19})$$

e

$$\begin{aligned} \phi(\mathbf{r}) = & \frac{1}{-4\pi} \oint_S (\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) \frac{\partial}{\partial n} \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} - \\ & - \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \frac{\partial \phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{\partial n}) dA' + \frac{1}{4\pi} \int_V (\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} f) dV', \end{aligned} \quad (\text{B.20})$$

somando as equações B.19 e B.20 temos

$$\begin{aligned} \phi(\mathbf{r}) = & \frac{-1}{4\pi} \oint_S (\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) \frac{\partial}{\partial n} (\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + \psi) - \\ & - (\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + \psi) \frac{\partial \phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{\partial n}) dA + \frac{1}{4\pi} \int_V ((\frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + \psi) f) dV'. \end{aligned} \quad (\text{B.21})$$

A anterior equação tem validade para um ψ arbitrário solução de $L(\psi) = 0$ na região S . Utilizando esta arbitrariedade em ψ se obtém

$$\begin{aligned} \phi(\mathbf{r}) = & - \oint_S (\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) \frac{\partial}{\partial n} G(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) - G(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) \frac{\partial \phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{\partial n}) dA + \\ & + \int_V (G(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) f) dV'. \end{aligned} \quad (\text{B.22})$$

Portanto, a função de Green [51] é

$$G(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) = \frac{1}{4\pi} \frac{e^{-k|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + \psi. \quad (\text{B.23})$$

A função ψ que é uma solução da equação homogênea de Helmholtz, determina, univocamente a função de Green após ser especificada as geometrias no que é chamado de condições de contorno.

B.1 Meio infinito

No caso do meio infinito a única condição que temos para a função de Green é que seja zero no infinito e isto é cumprido por fazer $\psi = 0$

$$G(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) = \frac{1}{4\pi} \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}, \quad (\text{B.24})$$

no caso da equação de difusão a fluência é proporcional à função de Green, devido a que a fonte é pontual e portanto

$$\phi(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \frac{e^{-k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}. \quad (\text{B.25})$$

B.2 Meio semi-infinito e condição de contorno extrapolada

A condição de contorno extrapolada é dada por

$$\phi(\mathbf{r})|_{z=z_b} = 0, \quad (\text{B.26})$$

onde a profundidade da fonte é $z_o = \frac{1}{\mu_a + \mu'_s} \simeq \frac{1}{\mu'_s}$.

De acordo com esta condição de contorno, façamos a escolha de $\psi = -\frac{e^{-kr_2(\rho)}}{r_2(\rho)}$ na equação B.23, e suponhamos a fonte imagem numa altura h e encontremos h de tal maneira que se cumpra a relação B.26 determinada pela condição de contorno, que em coordenadas cilíndricas pode ser escrita como:

$$\begin{aligned} \phi(\rho, z)|_{z=z_b} &= \frac{vM_{ac}}{D} G(\rho, z) \Big|_{z=z_b} = \\ &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \left[\frac{e^{-k\sqrt{\rho^2 + (z+z_0)^2}}}{\sqrt{\rho^2 + (z+z_0)^2}} - \frac{e^{-k\sqrt{\rho^2 + (z-h)^2}}}{\sqrt{\rho^2 + (z-h)^2}} \right] \Big|_{z=z_b} = 0, \end{aligned} \quad (\text{B.27})$$

do qual temos que

$$(Z_b - h)^2 = (z_b + z_0)^2 \Rightarrow Z_b - h = -(z_b + z_0) \Rightarrow h = 2z_b + z_0, \quad (\text{B.28})$$

donde se escolheu a solução com sinal negativo, supondo que $h > z_b$ portanto a fluência na interface está dada por

$$\phi(\rho, z)|_{z=0} = \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \left[\frac{e^{-k\sqrt{\rho^2+z_0^2}}}{\sqrt{\rho^2+z_0^2}} - \frac{e^{-k\sqrt{\rho^2+(2z_b+z_0)^2}}}{\sqrt{\rho^2+(2z_b+z_0)^2}} \right], \quad (\text{B.29})$$

a solução anterior pode-se simplificar quando $\rho \gg (2z_b + z_0)$, para isso reescrevamos B.29

$$\begin{aligned} \phi(\rho, z=0) &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \left[\frac{e^{-kr_1(\rho)}}{r_1(\rho)} - \frac{e^{-kr_2(\rho)}}{r_2(\rho)} \right] \\ &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \int (e^{-kr_2(\rho)} - e^{-kr_1(\rho)}) dk \\ &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \int (e^{-k\rho\sqrt{1+(\frac{2z_b+z_0}{\rho})^2}} - e^{-k\rho\sqrt{1+(\frac{z_0}{\rho})^2}}) dk \\ &\simeq \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \int (e^{-k\rho[1+\frac{1}{2}(\frac{2z_b+z_0}{\rho})^2]} - e^{-k\rho[1+\frac{1}{2}(\frac{z_0}{\rho})^2]}) dk \\ &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \int e^{-k\rho} (e^{-\frac{k(2z_b+z_0)^2}{2\rho}} - e^{-\frac{kz_0^2}{2\rho}}) dk \\ &\simeq \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \int e^{-k\rho} \left[\left(\chi - \frac{k(2z_b+z_0)^2}{2\rho} \right) - \left(\chi - \frac{kz_0^2}{2\rho} \right) \right] dk \\ &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D\rho} \int e^{-k\rho} [-k(4z_b^2 + 4z_bz_0 + z_0^2) + kz_0^2] dk \\ &= \frac{vM_{ac}}{4\pi D} \frac{2(z_b^2 + z_bz_0)}{\rho} \int -ke^{-k\rho} dk \\ &\simeq \frac{(z_b^2 + z_bz_0)vM_{ac}}{2\pi D\rho} \left[\frac{ke^{-k\rho}}{\rho} + \frac{e^{-k\rho}}{\rho^2} \right] \xrightarrow{\simeq 0} \\ &= (z_b^2 + z_bz_0) \frac{vM_{ac}}{2\pi D} \frac{ke^{-k\rho}}{\rho^2}. \quad (\text{B.30}) \end{aligned}$$

Lembrando que $k = k_r + ik_i$ ($k_r > 0, k_i < 0$)³, e escrevendo k na forma polar $k = |k|e^{i\theta}$, desta forma a fluência na interface em coordenadas cilíndricas é

³a primeira condição em k_r é para garantir a convergência, ou seja, decaia a amplitude da onda com a distância, e a condição em k_i está relacionada com a solução $e^{-i\omega t}$ da parte temporal

$$\phi(\rho, z = 0) \simeq (z_b^2 + z_b z_0) \frac{v M_{ac}}{2\pi D} |k| \frac{e^{-k_r \rho}}{\rho^2} e^{i(-k_i \rho + \theta_0)}. \quad (\text{B.31})$$

B.3 Meio de duas camadas

A equação de difusão para a fluência no domínio da frequência para as duas camadas:

$$D_1 \nabla^2 \phi_1(\mathbf{r}, w) - (v\mu_{a1} - iw)\phi_1(\mathbf{r}, w) = -vM_{ac}\delta(\mathbf{r}) \quad 0 \leq z \leq l, \quad (\text{B.32})$$

$$D_2 \nabla^2 \phi_2(\mathbf{r}, w) - (v\mu_{a2} - iw)\phi_2(\mathbf{r}, w) = 0 \quad l < z, \quad (\text{B.33})$$

onde $D_i = 1/3(\mu_{a_i} + \mu'_{s_i})$, $\phi_i(\mathbf{r}, w)$ e l são a constante de difusão, a fluência da camada i e a espessura da primeira camada, respectivamente. Para solucionar estas equações pode ser de utilidade fazer a transformada bi-dimensional dada em [56]

$$\phi_i(z, s_1, s_2) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \phi_i(x, y, z) e^{i(s_1 x + s_2 y)} dx dy, \quad (\text{B.34})$$

onde $s = \sqrt{s_1^2 + s_2^2}$, com o qual obtemos as seguintes equações diferenciais

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} \phi_1(z, s) - \alpha_i^2 \phi_1(z, s) = -\frac{1}{D_1} \delta(z - z_0) \quad 0 \leq z \leq l, \quad (\text{B.35})$$

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} \phi_1(z, s) - \alpha_i^2 \phi_1(z, s) = 0 \quad z < l, \quad (\text{B.36})$$

as equações B.35 e B.36 definem as equações para as funções de green da primeira e segunda camadas

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} G_1(z, s) - \alpha_i^2 G_1(z, s) = -\frac{1}{D_1} \delta(z - z_0) \quad 0 \leq z \leq l, \quad (\text{B.37})$$

e

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} G_1(z, s) - \alpha_i^2 G_1(z, s) = 0 \quad z < l. \quad (\text{B.38})$$

Para encontrar a solução da função de Green da primeira camada se precisa tanto da solução homogênea quanto uma solução particular da equação B.37. Para derivar a solução particular da primeira camada $G_1^p(s, z, w)$ foi usada a transformada de Fourier para encontrar a função de Green uni-dimensional para uma região sem contorno na direção z , por aplicar

$$G_1^p(s, k, w) = \int_{-\infty}^{\infty} G_1^p(s_n, z, w) e^{-ikz} dz, \quad (\text{B.39})$$

com o qual obtemos

$$G_1^p(s, k, w) = \frac{1}{D_1} \frac{1}{k^2 + \alpha_1^2} e^{-ikz_0}, \quad (\text{B.40})$$

que com a inversa da transformada de Fourier

$$G_1^p(s, z, w) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} G_1^p(s_n, k, w) e^{ikz} dz, \quad (\text{B.41})$$

sendo usada para obter a solução particular de B.37 para a primeira camada

$$G_1^p(s, z, w) = \frac{e^{-\alpha|z-z_0|}}{2D_1\alpha_1}, \quad (\text{B.42})$$

assim as soluções das equações B.37 e B.38 são

$$G_1(s, z, w) = A_1 e^{\alpha_1 z} + B_1 e^{-\alpha_1 z} + \frac{e^{-\alpha|z-z_0|}}{2D_1\alpha_1}, \quad (\text{B.43})$$

e

$$G_1(s, z, w) = A_2 e^{\alpha_2 z} + B_2 e^{-\alpha_2 z}. \quad (\text{B.44})$$

As constantes A_k e B_k são determinadas por usar as seguintes condições de contorno

$$\begin{aligned} G_1(-z_b, s) &= 0 \\ G_1(\infty, s) &= 0 \\ \frac{G_1(l, s)}{G_2(l, s)} &= \frac{n_1^2}{n_2^2} = 1 \\ D_1 \frac{\partial G_1}{\partial z} \Big|_{z=l} &= D_2 \frac{\partial G_2}{\partial z} \Big|_{z=l}, \end{aligned} \quad (\text{B.45})$$

com isto as soluções da função de Green para primeira e segunda camada são

$$\begin{aligned} G_1(z, s) &= \frac{\text{sen}[\alpha_1(z_b + z_0)]}{D_1 \alpha_1} \frac{D_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l - z)] + D_2 \alpha_2 \text{senh}[\alpha_1(l - z)]}{D_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l + z_b)] + D_2 \alpha_2 \text{senh}[\alpha_1(l + z_b)]} \\ &\quad - \frac{\text{senh}[\alpha_1(z_0 - z)]}{D_1 \alpha_1} \end{aligned} \quad 0 \leq z \leq l, \quad (\text{B.46})$$

e

$$G_2(z, s) = \frac{\text{sen}([\alpha_1(z_b + z_0)]e^{\alpha_2(l-z)})}{D_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l + z_b)] + D_2 \alpha_2 \text{senh}[\alpha_1(l + z_b)]} \quad 0 \leq z \leq l. \quad (\text{B.47})$$

Para inverter as equações B.46 e B.47 e obter a fluência em coordenadas cilíndricas (ρ, θ, z) utilizamos a solução dada em [57]

$$\widehat{\phi}_k(\mathbf{r}, w) = \frac{1}{\pi a'^2} \sum_{n=1}^{\infty} G_k(s, z, w) J_0(s\rho) J_1^{-2}(a's), \quad (\text{B.48})$$

onde $k = 1, 2$ representam primeira e segunda camada, respectivamente. J_0 e J_1 as funções de Bessel de ordem zero e primeira ordem, respectivamente.

Apêndice C

Termo de consentimento

(Aprovado pelo CEP/UNICAMP em 27/01/2014. Parecer CAAE: 256565130.0000.5404.)

Universidade Estadual de Campinas
Departamento de Raios C3smicos e Cronologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLE

SOBRE A PESQUISA:

Eu, _____, entendo que fui convidado(a) a participar de um projeto de pesquisa, intitulado “*Uso da fase para estimativa das propriedades 3pticas do tecido biol3gico com espectroscopia 3ptica de difus3o,*” de responsabilidade dos pesquisadores Reember C. Rodriguez, Marcelli Baldu3no, Wagner Avelar, Fabr3cio O. Lima e Rickson C. Mesquita. O objetivo geral deste estudo 3 utilizar uma t3cnica 3ptica emergente para determinar par3metros hemodin3micos em diferentes partes do corpo (c3rebro e/ou bra3o e/ou mama). Tal estudo se faz importante para estabelecer o que poder3 ser considerado como valores normais destes par3metros no futuro, quando quisermos comparar os valores destes par3metros em pacientes.

A t3cnica a ser utilizada 3 conhecida como espectroscopia 3ptica de difus3o, ou simplesmente NIRS. A NIRS 3 uma t3cnica inofensiva, capaz de produzir informa33es sobre as mudan3as das concentra33es da hemoglobina (com e sem oxig3nio) presentes no tecido quando este interage com a luz infravermelha. A t3cnica permite obter imagens do c3rebro usando a luz infravermelha e permite reconstruir imagens topogr3ficas dos tecidos a partir dos dados obtidos.

As informa33es a meu respeito que forem coletadas nesse estudo poder3o ser compartilhadas com outros pesquisadores, podendo ser utilizada em outras pesquisas como controle. O sigilo ser3 mantido em todos os estudos colaborativos atrav3s da utiliza33o de um c3digo num3rico para a identifica33o dos indiv3duos participantes.

PROCEDIMENTO:

Eu entendo que, se concordar em participar desse estudo, primeiramente passarei por uma entrevista com os pesquisadores, na qual responderei perguntas a respeito dos meus antecedentes m3dicos e de meus familiares. A seguir, serei convidado a sentar confortavelmente numa cadeira dentro de uma sala fechada, e os pesquisadores colocar3o um arranjo 3ptico sobre a minha pele e/ou cabe3a. Este arranjo 3ptico cont3m fibras 3pticas, que ser3o posicionadas para iluminar e/ou coletar a luz infravermelha. A potencia e o comprimento de onda da luz incidente n3o produzem riscos para mim. Entendo que permanecerei em sil3ncio e tentando n3o pensar em nada durante a coleta dos dados, que ter3 dura33o de 10 a 30 minutos.

Durante todo o tempo do exame estarei acompanhado pelos pesquisadores. Caso eu queira ou me sinta mal, posso pedir para parar o estudo e minha participa33o ser3 interrompida em qualquer momento, sem que isto afete em nada o estudo. Em todas as etapas, os pesquisadores me passar3o informa33es detalhadas e esclarecer3o as minhas d3vidas a respeito de cada procedimento.

VANTAGENS:

Estou ciente que n3o obterei nenhuma vantagem direta com a minha participa33o nesse estudo. Contudo, entendo que os resultados da pesquisa podem, a longo prazo, trazer melhorias nos diagn3sticos e tratamentos cl3nicos com NIRS. Os resultados do meu exame de NIRS ficar3o 3 disposi33o caso eu queira saber os resultados no futuro.

Tamb3m entendo que n3o serei reembolsado pela minha participa33o na pesquisa, uma vez que a mesma n3o vai gerar nenhum gasto. Exce33o se faz para despesas de transporte, que ser3o ressarcidas quando for o caso.

Universidade Estadual de Campinas
Departamento de Raios C3smicos e Cronologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLE

RISCO E DESCONFORTO:

A t3cnica de NIRS tem sido utilizada desde o in3cio da d3cada de 1990 como instrumento de pesquisa cl3nica, incluindo pacientes com dist3rbios e doen3as neurol3gicas, sem nenhum risco determinado. Os pesquisadores me explicaram que n3o h3 riscos previs3veis da t3cnica, pois a pot3ncia da luz utilizada 3 muito baixa.

Quanto aos desconfortos, poderei sentir um pouco da press3o das fibras sobre a minha pele ou minha cabe3a. O procedimento 3 minucioso e o uso do arranjo pode causar um certo desconforto. Caso o desconforto seja grande, avisarei aos pesquisadores e eles reposicionar3o o arranjo para melhorar o conforto. O tempo de prepara33o do exame pode demorar um pouco por causa disso.

REQUERIMENTOS

3 **muito importante** informar aos m3dicos(as) e t3cnicos(as) caso eu tenha um alguma doen3a.

FORNECIMENTO DE INFORMA33O ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informa33es adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. Poderei entrar em contato com o pesquisador **Reember C. Rodriguez** atrav3s do telefone (19) 3521-5516, ou por email: rcanor@ifi.unicamp.br

Em caso de d3vidas e/ou reclama33es, posso entrar em contato com o Comit3 de 3tica em Pesquisa da UNICAMP, no endere3o R. Tess3lia Vieira de Camargo, 126 – Campinas, SP, CEP 13083-887, telefone (19) 3521-8936 ou (19) 3521-7187, ou por email: cep@fcm.unicamp.br

RECUSA OU DESCONTINUA33O DA PARTICIPA33O:

Eu entendo que a minha participa33o 3 volunt3ria e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participa33o no estudo a qualquer momento.

Eu confirmo que o pesquisador _____ me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e poss3veis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li e compreendi esse formul3rio de consentimento e estou de pleno acordo em participar desse estudo ao assinar este documento em duas vias, sendo uma c3pia minha e outra dos pesquisadores.

Campinas, ____ / ____ / ____.

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador Respons3vel

Nome do Participante

Nome do Pesquisador Respons3vel