

Aplicaciones biofísicas de la fotoacústica

Pedro Alejandro Lomelí Mejía,* Norma Pilar Castellanos Ábrego,**

María Magdalena Méndez González,*** Alfredo Cruz Orea,****

José Luis Jiménez Pérez *****

* Laboratorio de Biomecánica, Instituto Nacional de Rehabilitación.

** Departamento de Ingeniería Eléctrica, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

*** Laboratorio de Síntesis del Departamento de Física de la ESFM del IPN.

**** Departamento de Física, CINVESTAV-IPN.

***** Departamento de Ciencias Básicas, UPIITA-IPN.

Dirección para correspondencia:
 Pedro Alejandro Lomelí Mejía
 E-mail: palm7@hotmail.com;
 pedrolomelimejia@yahoo.com.mx

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medicographic.com/rid>

Palabras clave: Fotoacústica, espectroscopia, biofísica.

Key words: Photoacoustic, spectroscopy, biophysics.

Resumen

En este artículo se presentan diversas aplicaciones posibles de la espectroscopía fotoacústica (PAS, por sus siglas en inglés) a la medicina que se pueden llevar a cabo con un equipo básico (lámpara de xenón, monocromador pulsador óptico, fibra óptica, amplificador lock-in, celda fotoacústica y computadora personal). Como posible aplicación de la PAS se puede mencionar, por ejemplo, la selección del láser más adecuado para hacer una fotoestimulación en el proceso de cicatrización. También se menciona que se pueden conocer algunas propiedades térmicas y ópticas de los tejidos, como es la difusividad térmica, o el coeficiente de absorción óptica. El objetivo de este trabajo es despertar el interés de los médicos por técnicas de diagnóstico relativamente nuevas, no-invasivas y no-ionizantes, con la ventaja de que no es necesaria la preparación de la muestra de estudio.

Abstract

This paper shows different applications of photoacoustic spectroscopy (PAS) to medicine. Typical PAS experimental set-up includes a xenon lamp, monochromator, optical modulator, optical fiber, lock-in amplifier, photoacoustic cell and PC. With this equipment it is possible to obtain, among other things, the optical absorption spectrum in several tissues which is useful; for example, in selecting the most appropriate laser for photo-stimulation, in healing process. Through PAS it is possible to know some physical properties of tissues such as the thermal diffusivity and the optical absorption coefficient. The aim of this paper is to present diverse applications of PAS in the medical field. PAS is a relatively new technique, non-invasive and non-ionizing, with the advantage of minimum or no preparation of the studied sample.

Introducción

La tecnología fotoacústica no es nueva, aunque muchas de sus aplicaciones sí lo son. El inventor del teléfono, Alexander Graham Bell (1847-1922), tenía problemas auditivos, y en su afán por descubrir nuevas formas de transmitir el sonido, hace más de 100 años se dio cuenta de que al iluminar una muestra con radiación modulada en una cámara cerrada ([celda fotoacústica], Figura 1) era posible captar sonidos con intensidad directamente proporcional a la longitud de onda absorbida por la muestra. En esa época, no pasó de ser tan sólo motivo de curiosidad, debido a que no se disponía ni de fuentes luminosas monocromáticas

(láseres) ni de detectores apropiados, y tampoco de un marco teórico por medio del cual relacionar el fenómeno físico a propiedades de la materia involucrada. Fue hasta la década de los setenta cuando dos investigadores (A. Rosencwaig y A. Gersho) desarrollaron un esquema teórico satisfactorio, a partir de la solución de las ecuaciones diferenciales de difusión de calor en los diferentes medios involucrados, denominado modelo de Rosencwaig-Gersho, que explica este fenómeno físico.¹ El objetivo del artículo pretende hacer una divulgación científica del potencial que puede tener esta técnica en el campo médico.

El efecto fotoacústico (PA, por sus siglas en inglés) se puede entender a partir de fenómenos térmicos y



Figura 1. Celda fotoacústica. La luz incide en la muestra por la parte superior a través de una fibra óptica; el micrófono está situado lateralmente.

mecánicos. La radiación que incide sobre el material y que es absorbida en el seno de éste se transforma en calor, el cual se transmite a través del material, generando un perfil periódico de temperaturas que, al alcanzar el gas que ocupa la celda fotoacústica (generalmente aire), provoca ciclos alternos de calentamiento-enfriamiento en una capa muy delgada del gas en contacto con la superficie del material. Estas fluctuaciones dan lugar a cambios de presión en el interior de la celda fotoacústica, que es el sonido que se detecta por medio de un micrófono acoplado a la celda.² Dichas características del fenómeno físico dan lugar a múltiples aplicaciones en diferentes campos de investigación. Los ejemplos de aplicación de la PAS en el área médica son muchos, por ejemplo:

La selección de un láser para una aplicación en particular: En ciertas terapias se debe elegir el tipo de láser que más conviene; por ejemplo, uno que permita la aceleración del proceso de cicatrización a nivel de las capas más superficiales de la piel. Lo primero que se debe hacer es una búsqueda bibliográfica que permita conocer las propiedades ópticas, es decir, conocer una respuestapectral o, al menos, de una longitud de onda, en particular para ese tejido de estudio. Lo recomendable es conocer las propiedades ópticas de la piel, tomar una biopsia y someterla a un barrido de diferentes longitudes de onda, conocer su respuesta de acuerdo con la ley de Beer-Lambert,³ pero esto sería muy difícil, ya que es necesario contar con muchas fuentes monocromáticas (de un solo color). Una posibilidad puede ser: hacer un estudio por PAS, y disponer de un arreglo experimental como el que se muestra en la figura 2. De esta forma, se puede obtener una respuestapectral continua, en un rango de longitudes tan grandes como lo permitan las condiciones del equipo.

Conocer la difusividad térmica α [cm²/s]: Es otra aplicación física importante que puede determinarse con un equipo como el que se mencionó en la figura 2.

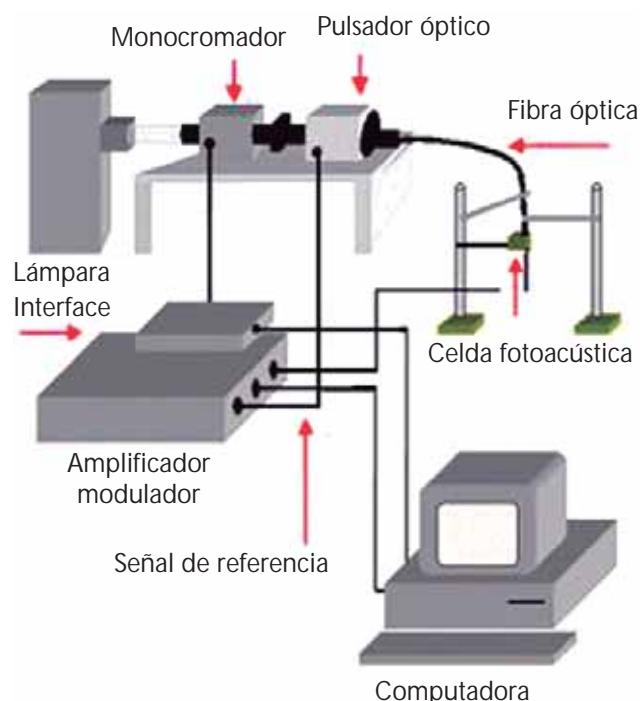


Figura 2. Arreglo experimental para hacer estudios fotoacústicos. Se observa una lámpara de Xenón, la cual proporciona luz blanca de alta intensidad. Un monocromador que selecciona luz monocromática (de un solo color). Un pulsador que interrumpe el paso de la luz a una frecuencia fija. Fibra óptica que sirve para conducir la luz hasta la celda fotoacústica. Amplificador modulador (amplificador *lock-in*) que amplifica la señal del micrófono, además permite conocer la relación de fase entre el ángulo del prisma del monocromador y la amplitud de la señal recibida. Una computadora personal se usa para controlar el monocromador, el amplificador *lock-in* y el pulsador. Con las señales recibidas se pueden procesar imágenes de análisis fotoacústicos.

La difusividad térmica es una propiedad característica de cada material, determina la «velocidad» con la cual se difunde el calor y depende de su densidad ρ [kg/m³], la orientación con la cual se haga una medición o se conduzca el calor, su conductividad térmica k [W/°Cm] y el calor específico C_p [J/kg °C]. Esta propiedad toma importancia en aplicaciones ortopédicas, por ejemplo, al colocar una placa metálica ortopédica después de alinear una fractura. Muchas veces, sucede que se llega a tener la sensación de «toques eléctricos» en torno al implante, sobre todo cuando se está expuesto a variaciones externas de temperatura.⁴ Este problema se produce por el contacto entre dos superficies que conducen de forma diferente el calor: el hueso

y el metal. Este gradiente de temperatura que se ha formado, a su vez, induce cambios del orden de milivoltios, que de alguna manera alteran los nervios que se encuentran en su vecindad. Esto se debe a que se unen materiales con coeficientes de difusividad térmica α [cm²/s] diferentes. La razón mecánica de diseño, por lo que se recomienda que muchos implantes tengan algún tipo de recubrimiento de tipo cerámico, es procurar una buena osteointegración, y desde el punto de vista termodinámico lograr que la conducción de calor sea homogénea desde el implante hacia el hueso, como en sentido contrario. Generalmente, los fabricantes de implantes toman en cuenta características de tipo mecánico, como es la resistencia de los materiales, o bien, los efectos toxicológicos de los mismos, pero no los efectos térmicos, una vez que ha pasado un tiempo de su colocación.⁵ Al hacer estudios de difusividad térmica en huesos, se ha encontrado que el calor se transmite de forma diferente en hueso esponjoso y en hueso cortical, y aún más, difiere su dirección, dependiendo de la línea del corte de observación. El calor se difunde mejor en la dirección de la porosidad (corte transversal), que en la dirección perpendicular a ésta (corte longitudinal);⁶ este tipo de estudios se ha realizado con PAS, y tiene grandes ventajas, a diferencia de la espectroscopía convencional, en la que se requiere del apoyo de esferas de concentración, en virtud de que estas últimas utilizan un mecanismo de comparación entre la radiación incidente y la que pasa a través de la muestra. En la espectroscopía fotoacústica, el tamaño de las muestras puede ser del orden de 4 x 4 mm, sin ninguna preparación en particular. Se puede aplicar esta técnica de diagnóstico no invasiva con algunas variantes, para hacer estudios directamente en seres vivos, aun si hay algún tipo de neoplasia, o si se trata de una mujer embarazada.

Distribución de una determinada droga en la piel: En algunos casos, es de gran interés conocer la distribución de algún fármaco; por ejemplo, la disposición de un analgésico como es el piroxicam, el cual puede aplicarse tópicamente, ya sea por medio de masajes, o a través de ultrasonido (fonoforesis). Por fotoacústica se puede conocer la eficiencia de su transporte, es decir, qué tan profundo ha llegado en las capas más internas de la piel en estudios *in vivo*,⁷⁻⁹ esto debido a que cambios en la concentración de la difusión de la droga alteran la distribución de las fuentes de calor, y en combinación con la absorción de la luz modulada conducen a cambios en la señal fotoacústica detectada, la cual es directamente proporcional a la concentración del medicamento o droga aplicada. Los resultados observados de estos estudios indican

que no solamente la concentración final obtenida depende de la forma o método obtenido para aplicar una determinada droga, sino también del tipo de piel, y es natural, ya que sus propiedades ópticas son diferentes para cada individuo, como se muestra en un estudio de la *University College of London*.¹⁰⁻¹⁴ De manera semejante, es posible evaluar qué tan hidratada se encuentra la piel.

Procesamiento de imágenes: Probablemente, la aplicación más interesante de la fotoacústica para la medicina sea el procesamiento de imágenes, las cuales son vitales para el diagnóstico y la investigación médica, sobre todo cuando se trata de casos clínicos donde lo que se busca es causar un mínimo de molestias al paciente y evitar posibles daños colaterales.¹⁵

Muchas tecnologías actuales tienen algún tipo de limitante técnica o económica. Tan sólo por mencionar uno, la tomografía axial computarizada (TAC) tiene el inconveniente de usar radiación ionizante, además de implicar fuertes sumas de dinero, tanto para instalación como para mantenimiento. La imagen por ultrasonido tiene un contraste pobre, y las técnicas ópticas puras de la proyección de imagen no pueden visualizar con eficacia las estructuras a varios centímetros de profundidad en el tejido,¹⁶ debido a la fuerte dispersión del tejido biológico, entre otras características. Al tomar en cuenta esta problemática, se investigan nuevas tecnologías de diagnóstico, tal es el caso de la imagenología fotoacústica.^{17,18} Esta técnica, relativamente nueva, fue desarrollada en 2002, por un grupo de investigadores de UCL (Biomedical Optics Research Laboratory, BORL) en Inglaterra, basados principalmente en la obtención de ondas acústicas generadas por la incidencia de un láser para visualizar la estructura interna de los tejidos. Potenciales aplicaciones incluyen la evaluación del cerebro, enfermedades vasculares, anormalidades de la piel y la detección temprana de cáncer de mama, de una manera no-invasiva y no-ionizante.

A partir de los principios básicos de la fotoacústica y de las propiedades ópticas de los tejidos se ha desarrollado una nueva tecnología que combina lo mejor de ambas técnicas, denominada tomografía fotoacústica (PAT, por sus siglas en inglés), la cual es no-invasiva y no-ionizante.

En la figura 3 se muestra un diagrama en bloques de un arreglo experimental, para procesar imágenes por medio de técnicas fotoacústicas. La adquisición se hace combinando técnicas de ultrasonido y fotoacústica. Consta principalmente de un equipo láser pulsado en el rango de radiofrecuencia, con el cual se emite luz a alta frecuencia para la excitación de la muestra de

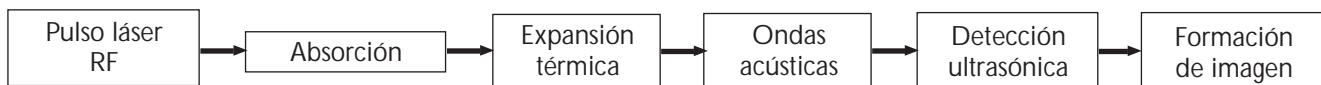


Figura 3. Arreglo experimental en bloques para la formación de imágenes mediante técnica fotoacústica.

estudio; un equipo para la detección ultrasónica de las ondas mecánicas que se generan cuando la muestra se somete a periodos de calentamiento y enfriamiento, debido a la incidencia periódica de la luz, y un equipo fotoacústico para la detección de la amplitud de señal, en función de la absorción de la longitud de onda por la muestra de estudio. El procesamiento de imágenes se hace principalmente con algoritmos matemáticos que permiten el procesamiento de la señal en un robusto equipo de cómputo. Se observa, de este diagrama en bloques, que es necesario lograr pulsos de luz láser, que deben coincidir con la luz que más fácilmente es absorbida por el tejido de estudio, a una determinada frecuencia en el rango de los miles de Hertz (radiofrecuencia). Posteriormente, esta absorción causará efectos de dilatación y contracción, y se producirán ondas termoelásticas que generalmente están en la región del ultrasonido (frecuencias mayores a 20 kHz). Finalmente, la señal que se obtiene se procesa mediante algoritmos matemáticos y sofisticados sistemas de computación para obtener imágenes que pueden ser, inclusive, en tercera dimensión. En esencia, una imagen fotoacústica es considerada como una imagen obtenida por ultrasonido, en la cual el contraste no depende de las propiedades mecánicas y elásticas del tejido, pero sí de sus propiedades ópticas, en particular de la absorción óptica. Como consecuencia, ofrece una mayor definición que la imagen de ultrasonido, con la habilidad de detectar hemoglobina, lípidos, agua y otros cromóforos que absorben luz, pero con una mayor trayectoria de penetración que la imagen obtenida ópticamente.¹⁹⁻²¹ Una de las grandes aplicaciones será en la detección de cáncer prostático y de mama, debido a que el crecimiento tumoral provoca neovascularizaciones.²² Los métodos de reconstrucción de la imagen a partir de las señales acústicas del detector no son una tarea fácil, continúan en evolución y dependen, en gran medida, de la aplicación clínica que se deseé.^{18,19}

Una de las aplicaciones de la fotoacústica dentro del procesamiento de imágenes es conocer el daño tisular en pacientes que han sufrido algún tipo de quemadura. Conocer cuál es la profundidad máxima que se ha afectado, así como su extensión, es una tarea difícil, ya que lo que se busca es manipular, lo menos posible, estructuras que son muy sensibles al dolor. La hidratación de la piel, en estos casos, es una

variable de gran importancia, que da una idea de qué tan grande es el daño tisular. La determinación visual, por sí sola es inexacta, aun al tratarse de personal altamente calificado. Una opción puede ser disponer de métodos ópticos, ya que no son invasivos, y por medio de la luz que se refleja es posible hacer un acertado diagnóstico.^{23,24} La tomografía óptica coherente (OCT), sensible a la polarización, es una técnica que puede, potencialmente, evaluar la profundidad de una quemadura *in vivo*, permite la alta resolución en la sección transversal de imágenes de la microestructura de los tejidos, de forma análoga a las imágenes obtenidas por ultrasonido, excepto que, en lugar de disponer de sonido, se usa luz infrarroja. Con esta tecnología se tiene la mejor opción para determinar la profundidad y extensión de una lesión tisular de este tipo.²⁵

Conclusiones: Con este trabajo se ha tratado de dar una idea de la importancia que tiene la fotoacústica en la tecnología médica, tanto en la espectroscopía clínica, la eficiencia de una droga, la selección de un láser para una aplicación en particular, o bien, en el procesamiento de imágenes, sobre todo en casos delicados donde hay sospechas de cáncer, como puede ser en el diagnóstico de cáncer de mama o de cerebro. Actualmente, México cuenta con varios centros de investigación donde se llevan a cabo estudios de aplicación de esta tecnología fototérmica; entre ellos se puede mencionar: CINVESTAV-Querétaro, CINVESTAV-Zacatenco, CICATA-Legaria y UPIBI, tan sólo por mencionar algunos donde se hacen aplicaciones en diferentes campos de la ciencia.

Bibliografía

1. Rosencwaig A, Gersh A. Theory of the photoacoustic effect with solids. Journal of Applied Physics 1976; 47 (1): 64-69.
2. Florido CAE. Determinación de la efusividad térmica en sólidos mediante la técnica fotoacústica, Tesis para obtener el grado de Maestría en Tecnología Avanzada, CICATA-IPN, Junio de 2004, 7-38.
3. Bozkurt A, Rosen A, Rosen H, Onaral B. A portable near infrared spectroscopy system for bedside monitoring of newborn brain. Biomed Eng Online, 2005; 4(1):29.
4. Jacobs JJ, Gilbert JL, Robert M. Urban, Current concepts review corrosion of metal orthopaedic implant. J of Bone and Joint Surgery. 1998; 80:268-282.

5. Bozna J, Bukowski RJ, Christ A, Pogoda T. Photoacoustic detection of drug diffusion into a membrane: theory and numerical analysis. International Journal of Heat and Mass Transfer 2002; 45: 4515-4523.
6. Peña RG, Méndez GM, Calderón AA, Cruz OA, Sánchez S. Caracterización térmica de hueso y sustratos metálicos para uso biomédico. Biomecánica 2000; 8 (1): 40-43.
7. Silveira FLFD, Barja PR, Acosta-Avalos D. Photoacoustic evaluation the penetration of piroxicam gel applied with phonophoresis into human skin. Journal of Physics, Conference Series IOP Publishing Ltd. 2010; 214: 1-5.
8. Simpson CR, Kohl M, Essenpreis M, Cope M. Near infrared optical properties of ex-vivo human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo inversion technique. Phys Med Biol 1998; 43: 2465-2478.
9. Schendzielorz A, Bui Duc Hanh, Reinhard H, Neubert H, Wartewig S. Penetration studies of clotrimazole from semisolid formulation using step-scan FT-IR photoacoustic spectroscopy. Pharmaceutical Research 1999; 16 (1): 42-45.
10. Laufer J, Simpson CR, Kohl M, Essenpreis M, Cope M. Effect of temperature on the optical properties of ex-vivo human dermis. Phys Med Biol 1998; 43: 2479-2489.
11. UCL. Biomedical Optics Research Laboratory. Measurement of skin optical properties. http://www.medphys.ucl.ac.uk/research/borg/research/NIR_topics/skin/skinoptprop.htm
12. Xiao P, Cowen JA, Imhot RE. In-vivo transdermal drug diffusion depth profiling-a new approach to opto-thermal signal analysis. Analytical Sciences 2001; 17: s349-s352.
13. Simpson CR, Kohl M, Essenpreis M, Cope M. Near-infrared optical properties of ex vivo human skin and subcutaneous tissues measured using the Monte Carlo technique. Phys Med Biol 1998; 2405-2478.
14. Bozna J, Bukowski JR, Chrit A, Pogoda T. Photoacoustic detection of drug diffusion into a membrane: theory and numerical analysis. International Journal of Heat and Mass Transfer 2002; 45: 4515-4523.
15. Favazza PC, Jassim O, Cornelius AL, Wang VL. *In vivo* photoacoustic microscopy of human cutaneous microvascular and nevus. J of Biomedical Optics 2011; 16 (1): 016015.
16. Kwang Hyun, Lihong V Wang. Deep reflection-mode photoacoustic imaging of biological tissue. Journal of Biomedical Optics Letters. 2007; 12 (6): 060503.
17. Halmeir M, Scherzer O, Zangerl G. A reconstruction algorithm for photoacoustic imaging based on the nonuniform FFT. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 2009; 28 (11):1727-1735.
18. Changhui Li, Lihong V Wang. Photoacoustic tomography and sensing inbiomedicine. Phys Med Biol 2009; 45 (19): R59-R97.
19. Marion A, Boutet J, Debourdeau M, Dinten JM, Vray D. A quantitative study to design an experimental setup for photoacoustic imaging. 33rd Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2011.
20. Yae-Lin Sheu, Cheng-Ying Chou, Bao-Yu Hsieh, Pai-Chi Li. Image reconstruction in intravascular photoacoustic imaging. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 2011; 58 (10): 2067-2077.
21. Su JL, Wang B, Wilson EK, Bayer CL, Yun-Sheng Chen, Seungsoo Kim, Kimberly A. Homan, Stanislav Y. Emelianov, seen advances in clinical and biomedical applications of photoacoustic imaging. Expert Opin Med Diagn 2010; 4 (6): 497-510.
22. Beard P, Biomedical photoacoustic imaging, Interface, 2011, 1(4), 602-631.
23. Zhang FH, Maslov K, Stoica G, Wang LV. Imaging acute thermal burns by photoacoustic microscopy. J of Biomedical Optics 2006; 11 (5): 054033.
24. Monstrey S, Hoeksema H, Verbelen J, Pirayesh A, Blondefeld P. Assessment of burn depth and burn wound healing potential. Burns 2008; 34: 761-769.
25. Leonardi L, Sowa GM, Payette RJ, Hamantsch HH. Near-infrared spectroscopy and imaging: A new approach to assess burn injuries. Clinical Note, American Clinical Laboratory 2000: 20-22.