



Guilherme Santiago Figueira Pinto

Licenciatura em Engenharia Biomédica

Estudo de técnicas de modulação de fase para focar radiação laser em meios biológicos túrbidos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: João Pinto Coelho, Professor Investigador Auxiliar,
Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Co-Orientador: Pedro Manuel Cardoso Vieira, Professor Auxiliar,
Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade
Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Paulo Ribeiro

Arguentes: João Coelho
Dawei Liang

Outubro, 2019



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Estudo de técnicas de modulação de fase para focar radiação laser em meios biológicos túrbidos.

Copyright © Guilherme Santiago Figueira Pinto, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

This document was created based in the “novathesis” template[1], developed at the Dep. Informática of FCT-NOVA [2]. [1] <https://github.com/joaomlourengo/novathesis> [2] <http://www.di.fct.unl.pt>

Dedicatória

A todos os que me concederam a honra de estarem comigo ao longo desta difícil caminhada. Concluído mais um capítulo da minha vida, esta vitória também é vossa.

Agradecimentos

Gostaria, em primeiro lugar, de agradecer a toda a minha família e em especial aos meus pais, avós e irmão, pelo apoio incondicional e incentivo que me deram ao longo destes anos e por sempre me terem proporcionado as melhores condições para que eu pudesse desenvolver o meu trabalho da melhor forma possível. A vós vos agradeço por, desde pequeno, me terem transmitido os mais nobres valores, ferramentas preciosas que utilizo no presente e que serão os meus alicerces do futuro.

Agradeço também aos meus Orientadores, Professor João Coelho e Professor Pedro Vieira pela oportunidade que me deram e por todo o acompanhamento, atenção e preocupação que demonstraram ao longo do período em que me encontrei a desenvolver a tese. Foi um prazer trabalhar convosco e ter sido vosso aluno.

Finalmente, agradeço aos meus melhores amigos de longa data e ainda, mas não menos importantes, ao fantástico grupo de melhores amigos que a Universidade me permitiu conhecer com quem me diverti, estudei e vivi experiências verdadeiramente inesquecíveis.

A todos vocês, o meu sincero obrigado.

Atualmente tem-se vindo a registar um interesse progressivo na utilização de métodos ópticos na Medicina e Biologia. Apesar dos estudos existentes conseguirem reconhecer um vasto leque de possíveis tratamentos para contrariar os efeitos de doenças cancerígenas nos pacientes, estudos recorrendo à aplicação de radiação laser como ferramenta de destruição de neoplasias de forma eficaz e com detalhe são ainda escassos, uma vez que, em áreas como a fototerapia aplicada à oncologia ou imagiologia, a elevada difusão a que a radiação luminosa é submetida pelos tecidos biológicos tem restringido o seu propósito.

Esta tese apresenta um estudo sobre técnicas de manipulação de frentes de onda que visam aumentar a eficácia dos tratamentos que utilizam radiação laser para a destruição de células cancerígenas. Para a obtenção de resultados foram elaborados um conjunto de algoritmos numéricos em MATLAB® (interface) com a capacidade de receber, processar e analisar os dados originados pelas simulações em ZEMAX™. Em função da técnica abordada, os resultados foram apresentados sob a forma de gráficos de irradiância (obtidos por detetores retangulares em ZEMAX™), gráficos de pontos ou tabelas para analisar a convergência do algoritmo. Com estas ferramentas foi possível avaliar qual dos métodos estudados é mais eficaz na modelação da frente de onda de um feixe de radiação laser, contrariando assim os efeitos da difusão que ocorre quando a luz atravessa um meio turbido e que dificultam a obtenção de imagem a profundidades elevadas.

A modelação do feixe, para o qual foram testadas várias técnicas e algoritmos, apresentou resultados favoráveis uma vez que se verificou um aumento da concentração, e, portanto, melhor focagem do feixe a profundidades superiores a 1 mm no interior do meio turbido desenvolvido com características muito similares às da pele e tecido muscular (fantom).

Qualquer um dos algoritmos desenvolvidos apresenta boas perspetivas sobre uma eventual implementação deste modelo de simulação funcional com base em ZEMAX™.

Palavras-chave: Métodos Ópticos, Doenças Cancerígenas, Radiação Laser, Difusão, Tecidos Biológicos, ZEMAX™, MATLAB®

Abstract

At the present time there has been registered a progressive interest in using optical methods in Medicine and Biology. Even though existing studies are able to recognize a myriad of possible treatments to counteract the effects of carcinogenic diseases in patients, studies that focus on the use of LASER radiation as a tool that is able to destroy neoplasms effectively and with detail are still scarce, since, in areas as oncology applied phototherapy or imaging, the high levels of diffusion that the radiation is submitted to by the biological tissue has restricted its purpose.

This thesis presents a study about manipulation techniques of wave fronts that aim to increase the efficiency of treatments that use LASER radiation for the destruction of carcinogenic cells. To obtain the results a set of numeric algorithms in MATLAB® was created (interface), with the ability of receiving, processing and analysing data from simulations performed in ZEMAX™. The results are presented as a function of the technique in study in the form of irradiance graphics (obtained by rectangular detectors in ZEMAX™), point graphics or tables to analyse the convergence of the algorithm. With these tools, it was possible to evaluate which one of the methods is more effective in the modelling of the wave front of the LASER radiation beam, counteracting the diffusion effects that occur when light passes through a turbid medium that stunt to obtain images at high depth.

The modelling of the beam, for which were tested several configurations and algorithms, showed positive results, since there was registered an increase in concentration and consequently a better focus of the beam at depths higher than 1 mm, in the interior of the turbid structure developed with characteristics very similar to the ones of the skin and muscle tissue (phantom).

Both iterative and non-iterative algorithms that have been developed present encouraging prospects about an eventual implementation of this functional simulation model with basis in ZEMAX™.

Key words: Optical Methods, Carcinogenic diseases, LASER radiation, Diffusion, Biological Tissues, ZEMAX™, MATLAB®.

Conteúdo

LISTA DE FIGURAS.....	XVII
LISTA DE TABELAS.....	XXI
ACRÓNIMOS.....	XXIII
INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO.....	1
1.1.1 Aplicações.....	2
1.2 STATE OF THE ART.....	4
1.2.1 <i>Microscopy with Self- Reconstructing Beams</i> – MISERB.....	5
1.2.2 <i>Pre - Compensate Wavefront Shaping</i> – Exemplo Método Iterativo.....	6
1.2.3 <i>Time – Reversed Optical Phase Conjugation</i> (OPC) – Exemplo Método Não iterativo.....	8
1.2.4 Discussão.....	9
1.3 OBJETIVOS.....	9
1.4 ESTRUTURA.....	10
ENQUADRAMENTO TEÓRICO.....	11
2.1 LUZ.....	11
2.1.1 Interação luz-matéria.....	13
2.1.1.1 Comportamento Ondulatório da luz.....	13
2.1.1.2 Comportamento corpuscular da luz.....	15
2.2 MEIOS TÚRBIDOS.....	15
2.2.1 Tecido biológico - Pele.....	16
2.2.1.1 Estrutura da pele.....	16
2.3 INTERAÇÕES DA LUZ NO INTERIOR DE MEIOS BIOLÓGICOS TÚRBIDOS.....	18
2.3.1 Absorção.....	22
2.3.2 <i>Scattering</i>	25
2.3.2.1 Tipos de Difusão no interior do tecido biológico.....	26
2.3.3 Ordens de magnitude no tecido biológico.....	28
2.4 LASER.....	30
2.4.1 Propriedades do LASER.....	30
2.4.2 Efeitos da Interação da radiação LASER com os tecidos.....	31
2.5 SOFTWARE UTILIZADO PARA AS SIMULAÇÕES.....	35
2.5.1 ZEMAX™.....	35
Modo sequencial.....	35
Modo não sequencial.....	35
2.5.2 MATLAB®.....	36

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	37
3.1 <i>AXICONS</i>	38
3.1.1 Simulação <i>Axicons</i> Modo Sequencial e Não Sequencial.....	39
3.1.2 Comparação <i>Axicons</i> vs. lentes convencionais	41
3.2 MÉTODO ITERATIVO E MÉTODO NÃO ITERATIVO.....	43
3.2.1 Caracterização dos componentes em ZEMAX™.....	43
3.2.2 Parâmetro de comparação utilizado na evolução do algoritmo.....	48
3.2.3 Funcionamento dos Algoritmos	50
3.2.3.1 Configuração da Grid Sag no método iterativo	51
3.2.3.2 Configuração da Grid Sag no método não iterativo.....	53
3.2.4 Sistemas desenvolvidos.....	55
3.2.4.1 Método iterativo.....	55
3.2.4.2 Método não iterativo	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4.1 <i>AXICONS</i>	57
4.1.1 Simulação <i>Axicons</i> Modo Sequencial e Não Sequencial.....	57
4.1.2 Comparação <i>Axicons</i> vs. lentes convencionais	58
4.2 MÉTODO ITERATIVO.....	59
4.2.1 Resultados Abordagem 1	60
4.2.2 Resultados Abordagem 2	67
4.2.3 Discussão.....	77
4.3 MÉTODO NÃO ITERATIVO.....	78
4.3.1 Resultados Abordagem 1	79
4.3.2 Resultados Abordagem 2	80
4.3.3 Discussão.....	81
CONCLUSÃO.....	83
5.1 CONCLUSÃO	83
5.2 TRABALHO FUTURO.....	84
BIBLIOGRAFIA.....	87
<i>AXICONS</i>.....	93
A.1 TABELA INFORMATIVA <i>AXICONS</i>	93
MÉTODO ITERATIVO	95
B.1 MATRIZ DE IRRADIÂNCIAS NÃO NORMALIZADA - ABORDAGEM 1	96
B.2 MATRIZ DE IRRADIÂNCIAS NÃO NORMALIZADA - ABORDAGEM 2	98
DESVIO PADRÃO	101
C.1 DESVIO PADRÃO ABORDAGEM 1.....	101
C.2 DESVIO PADRÃO ABORDAGEM 2.....	102
MÉTODO ITERATIVO - COMPARAÇÃO ABORDAGENS.....	105

MÉTODO NÃO ITERATIVO	107
E.1: MATRIZ DE IRRADIÂNCIAS NORMALIZADA E NÃO NORMALIZADA - ABORDAGEM 1	107
E.2: MATRIZ DE IRRADIÂNCIAS NORMALIZADA E NÃO NORMALIZADA - ABORDAGEM 2	108

Lista de Figuras

Figura 1.1: Exemplificação do Método Iterativo. Adaptado de [39].	7
Figura 2.1: Diagrama do espectro eletromagnético exibindo as várias propriedades das diferentes ondas eletromagnéticas. Adaptado de [56].	12
Figura 2.2: Esquema de duas ondas desfasadas em valor igual à "Diferença de fase". Adaptado de [57].	14
Figura 2.3: Desenho esquemático de pele. Adaptado de [62].	17
Figura 2.4: Escala dimensional de várias estruturas que constituem os tecidos biológicos. Adaptado de [63].	18
Figura 2.5: Tipos de interações de um fotão no interior de meios biológicos túrbidos. Adaptado de [66].	18
Figura 2.6: Absorção e difusão no tecido biológico. Rácio do coeficiente de scattering reduzido ($\mu's$) pelo coeficiente de absorção (μ_a) da pele humana vs. Comprimento de onda (400 – 1800 nm). Adaptado de [67].	19
Figura 2.7: Difusão isotrópica e anisotrópica. Adaptado de [72].	20
Figura 2.8: Diferença entre transport mean free path ($l's$) e scattering mean free path (l_s). Retirado de [72].	21
Figura 2.9: Absorção no tecido biológico. Coeficiente de absorção (μ_a) vs. Comprimento de onda (0,1 - 10 μm). Adaptado de [67].	23
Figura 2.10: Coeficientes de absorção, μ_a , de diferentes camadas da pele em função do comprimento de onda (400-1000 nm). Adaptado de [73].	24
Figura 2.11: Esquema onde são apresentados os diferentes tipos de difusão. Adaptado de [57].	26
Figura 2.12: Espectro dos coeficientes de absorção dos principais constituintes absorvedores da pele. Janela óptica da pele devido a uma reduzida absorção de radiação infravermelha e NIR entre os 650-950 nm. Adaptado de [63].	29
Figura 2.13: Propriedades da luz laser e comparação com outras fontes. Adaptado de [82].	31
Figura 2.14: Tipos de interação laser-tecido. Adaptado de [83].	33
Figura 3.1: Representação esquemática de uma lente do tipo Axicon, de diâmetro D, com uma espessura central EC. Adaptado de [92].	38

Figura 3.2: Implementação de uma lente Axicon com $\alpha = 20^\circ$, no modo sequencial, onde se observa a propriedade do “espigão de luz” de comprimento R0.	40
Figura 3.3: Implementação de uma lente Axicon com $\alpha = 20^\circ$, no modo não sequencial, onde se observa a propriedade do “espigão de luz” de comprimento R0.	40
Figura 3.4: Reconstituição 3D de uma lente Axicon, com $\alpha = 20^\circ$ para percepção realista da mesma.	40
Figura 3.5: Simulação do comportamento de um Axicon para focagem de luz em meios túrbidos com uma distância focal de 50 mm.	42
Figura 3.6: Simulação do comportamento de uma Lente convencional para focagem de luz em meios túrbidos com uma distância focal de 50 mm.	42
Figura 3.7: Variação do índice de refração da pele para um intervalo de comprimentos de onda entre 300-1600 nm.	45
Figura 3.8: Esquema do procedimento do cálculo do raio ponderado.	49
Figura 3.9: Esquema do algoritmo de controlo da Grid Sag para o Método iterativo.	52
Figura 3.10: Esquema do algoritmo de controlo da Grid Sag para o Método não Iterativo.	54
Figura 3.11: Sistema para o método iterativo sem considerar o efeito da difusão.	55
Figura 3.12: Sistema para o método iterativo considerando o efeito da difusão.	55
Figura 3.13: Sistemas para o método não iterativo sem considerar o efeito da difusão (à esquerda) e considerando o efeito de difusão (à direita).	56
Figura 4.1: Padrões em forma de anel dos diferentes Axicons estudados para valores de $\alpha = 20^\circ, 10^\circ, 5^\circ, 2^\circ, 1^\circ$ e $0,5^\circ$, no modo sequencial (MS) em cima, e modo não sequencial (MNS), em baixo.	58
Figura 4.2: Gráficos de irradiância coerente obtidos no modo não sequencial para lentes do tipo Axicon (em cima) e para lentes convencionais (em baixo).	59
Figura 4.3: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 300 iterações.	60
Figura 4.4: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 300 iterações.	60
Figura 4.5: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 15 mm de profundidade e 300 iterações.	61
Figura 4.6: Método Iterativo, Abordagem 1 - Matriz de irradiâncias normalizada (Irradiância normalizada vs. N° Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à	

esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma. Algoritmo concluído ao fim de 300 iterações.	63
Figura 4.7: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 2000 iterações.	64
Figura 4.8: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 2000 iterações.....	65
Figura 4.9: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo utilizando uma Grid Sag com 250pixéis x 250pixéis, detetor a 10 mm de profundidade e 300 iterações.....	66
Figura 4.10: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 300 iterações.	68
Figura 4.11: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 300 iterações.	68
Figura 4.12: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 15 mm de profundidade e 300 iterações.	68
Figura 4.13: Método Iterativo, Abordagem 2 - Matriz de irradiâncias normalizada (Irradiância normalizada vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma	71
Figura 4.14: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 2000 iterações.	72
Figura 4.15: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 2000 iterações.....	72
Figura 4.16: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e dimensão dos clusters de 10pixéis x 10pixéis. Algoritmo processado com 300 iterações.	74
Figura 4.17: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e dimensão dos clusters de 10pixéis x 10pixéis. Algoritmo processado com 300 iterações.	74
Figura 4.18: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade, Grid Sag de 250pixéis x 250pixéis e tamanho de clusters da matriz sag: 5x5, 10x10 e 25x25 pixéis. Algoritmo processado com 300 iterações.	76
Figura B.1: Método Iterativo, Abordagem 1 - Matriz de irradiâncias não normalizada (Irradiância não normalizada (W/cm ²) vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma.....	96

Figura B.2: Método Iterativo, Abordagem 2 - Matriz de irradiâncias não normalizada (Irradiância não normalizada (W/cm^2) vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma.....	98
Figura C.1: Abordagem 1 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 5 mm de profundidade.....	101
Figura C.2: Abordagem 1 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 10 mm de profundidade.....	101
Figura C.3: Abordagem 1 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 15 mm de profundidade.....	102
Figura C.4: Abordagem 2 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 5 mm de profundidade.....	102
Figura C.5: Abordagem 2 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 10 mm de profundidade.....	103
Figura C.6: Abordagem 2 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 15 mm de profundidade.....	103
Figura E.1 Método Não Iterativo, Abordagem 1 - Matriz de irradiâncias normalizada e não normalizada (W/cm^2) vs. Nº Pixéis, obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm profundidade no interior do fantoma.....	107
Figura E.2 Método Não Iterativo, Abordagem 2 - Matriz de irradiâncias normalizada e não normalizada (W/cm^2) vs. Nº Pixéis, obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm profundidade no interior do fantoma.....	108

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Propriedades ópticas do tecido biológico humano para comprimentos de onda entre os 650-950 nm.....	29
Tabela 3.1: Valores calculados para a constante cônica de seis Axicons com diferentes ângulos físicos (representados na tabela pela letra Alpha (α)).	39
Tabela 3.2: Informação sobre a distância focal (em mm) das lentes convencionais e do tipo Axicon a serem projetadas no ZEMAX™.....	41
Tabela 3.3: Coeficientes da fórmula de Conrady para a pele humana.	44
Tabela 3.4: Tabela resumo dos valores dos parâmetros de difusão utilizados no fantoma de pele.	46
Tabela 4.1: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) para cada um dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade ao fim de 300 iterações.....	62
Tabela 4.2: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 5 mm e 10 mm de profundidade ao fim de 2000 iterações.	65
Tabela 4.3: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo), calculados a 10 mm de profundidade num sistema com uma Grid Sag de 250pixéis x 250pixéis, ao fim de 300 iterações.....	67
Tabela 4.4: Método Iterativo, Abordagem 2: Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) para cada um dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade ao fim de 300 iterações.....	70
Tabela 4.5: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 5 mm e 10 mm de profundidade ao fim de 2000 iterações.	73
Tabela 4.6: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 5 e 10 mm de profundidade e utilizando uma Grid Sag de 50pixéis x 50pixéis constituída por clusters de 10pixéis x 10pixéis, ao fim de 300 iterações.....	75

Tabela 4.7: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 10 mm de profundidade e utilizando uma Grid Sag de 250pixéis x 250pixéis constituída por clusters de 5x5, 10x10 e 25x25 pixéis, ao fim de 300 iterações	77
Tabela 4.8: Método Não Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado calculados a 5 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo, para um total de 9 testes com combinações onde se utilizaram 3 detetores e 3 Grid Sag diferentes constituídas por 200x200, 250x250 e 300x300 pixéis	79
Tabela 4.9: Método Não Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado calculados a 5 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo, utilizando uma Grid Sag de 300pixéis x 300pixéis.....	81
Tabela A.1: Dimensões dos seis Axicons implementados em ZEMAX™.	93
Tabela B.1: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag.....	97
Tabela B.2: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag.....	99
Tabela D.1: Tabela comparativa dos resultados obtidos para o raio ponderado no método iterativo, segundo a Abordagem 1 e Abordagem 2. Valores retirados das tabelas 4.1 a 4.7. Nota: “Outros testes” refere-se aos dados presentes nas tabelas 4.3 e 4.7 da Abordagem 1 e Abordagem 2, respetivamente.	106
Tabela E.1: Método não Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag.	108
Tabela E.2: Método não Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag.	109

Acrónimos

ASCII	American Standard Code for Information Interchange
DOPC	Digital Optical Phase Conjugation
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
MISERB	Microscopy with Self- Reconstructing Beams
MNS	Modo Não Sequencial
MS	Modo Sequencial
NIR	Near-Infrared Radiation
OPC	Optical Phase Conjugation
SLM	Spatial Light Modulator
TTO	Técnicas de Tomografia Óptica
TOF	Tomografia Óptica Fluorescente
TCO	Tomografia de Coerência Óptica
TOD	Tomografia Óptica Difusa

Introdução

1.1 Contextualização

Segundo a *International Agency for Research on Cancer*, em 2018, foram estimados 18,1 milhões de novos casos e 9,6 milhões de mortes provocadas por cancro em todo o mundo, sendo esta doença uma das duas principais causas de mortalidade no planeta. Com o número de casos de pacientes a aumentar ano após ano [1],[2], torna-se imperativo procurar soluções que consigam diagnosticar precocemente a doença, controlar a proliferação de células tumorais e promover a sua destruição, tudo isto de forma o mais eficaz possível e de modo a que as consequências sofridas pelo paciente sejam o menos nefastas possível para a sua saúde [3],[4],[5].

Assim, nos últimos anos, têm sido realizados estudos recorrendo à aplicação de radiação laser como ferramenta de destruição de neoplasias, funcionando como agente de aquecimento fototérmico seletivo no tratamento de células tumorais e oferecendo a possibilidade de, não só minimizar a dosagem de luz em terapias fototérmicas, como também promover a qualidade da imagem em profundidade e resolução [5],[6].

No entanto, apesar da evolução deste método de tratamento, é necessário ultrapassar os efeitos do *scattering* (difusão) da luz no interior de meios difusores, algo que tem inspirado cientistas ao longo das últimas décadas para desenvolver novas técnicas de imagiologia óptica. De facto, a propagação da luz em tecidos biológicos (meio túrbido), é um processo aleatório, cujo grau de importância será tanto maior caso a energia concentrada que atinge o tumor não seja a suficiente para que este seja eliminado totalmente, ou, visto por outra perspetiva, seja demasiado elevada, o que poderá afetar as células saudáveis do tecido próximo [7].

Como tal, com o desenvolvimento deste trabalho, pretende-se estudar a propagação de radiação laser num meio túrbido através da modelação da frente de onda incidente, recorrendo à simulação de diferentes técnicas já existentes (e que abordarei num capítulo posterior). Deste modo, procurarei obter uma frente de onda que maximize a densidade de energia num ponto específico no interior do meio em estudo, contribuindo para a realização de terapias ou métodos de diagnóstico mais eficazes e em profundidades superiores.

1.1.1 Aplicações

Existem diversos tipos de aplicações onde a utilização de técnicas de manipulação ou reconstrução de frentes de onda para focagem de luz e obtenção de imagem no interior de meios túrbidos, apresentam impactos significativamente positivos com uma melhoria dos seus resultados em parâmetros como a resolução e profundidade da imagem obtida [7],[8]. Apresento, seguidamente, algumas aplicações de interesse.

- **Cuidados de saúde**

Relativamente aos cuidados de saúde, a conjugação de fase de frentes de onda, apresenta-se como uma importante ferramenta no processo de evolução no desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico de doenças cancerígenas, bem como para avaliar o estado de saúde de um paciente. De acordo com Conkey *et al.*[9], a monitorização da propagação de luz no interior de meios túrbidos é de particular interesse em Óptica e fundamental em imagiologia biomédica. Deste modo, nas últimas décadas, têm-se desenvolvido estudos no âmbito da manipulação da propagação da luz que visam encontrar técnicas eficazes de imagiologia que funcionem em meios biológicos túrbidos [10] e, nesta linha de pensamento, sempre com o objetivo primário de proporcionar ao paciente o acesso aos melhores cuidados de saúde para um aconselhamento médico adequado que melhore a sua qualidade de vida, foram desenvolvidas Técnicas de Tomografia Óptica (TTO) como Tomografia Óptica Fluorescente (TOF), Tomografia de Coerência Óptica (TCO) ou Tomografia Óptica Difusa (TOD). Segundo Cong *et al.* [11], qualquer uma destas técnicas tem como objetivo principal modelar a propagação de luz em meios biológicos de tal forma que permita a imaginar a profundidades superiores.

A utilização de TOF, uma tecnologia de imagem médica *in vivo* e não invasiva, permite a localização e quantificação de fluoróforos em profundidade [12]. Esta técnica usa agentes de contraste fluorescentes com o intuito de aumentar o

contraste óptico entre tecido saudável e cancerígeno, permitindo assim, com uma elevada sensibilidade e boa resolução espacial, identificar potenciais cancros, revelando-se um promissor método de imagem de diagnóstico [8], [13].

A TCO, é uma tecnologia emergente utilizada para obter imagens *cross-sectional* da estrutura de tecidos a uma escala micrométrica, de alta-resolução, *in situ* e em tempo real. A utilização de TCO em conjunto com cateteres e endoscópios permite imaginar com alta resolução a zona intraluminal de sistemas de órgãos, pelo que a TCO funciona como um tipo de biópsia óptica e perfilando-se também como uma importante tecnologia de imagiologia em diagnósticos médicos [14].

A imagiologia por TOD, é considerada uma técnica funcional, não invasiva e de rápida aquisição que proporciona o acesso a uma grande variedade de parâmetros fisiológicos que de outra forma não são acessíveis, tais como respostas hemodinâmicas a estímulos e a imaginação de outros processos fisiológicos de mudança rápida em menos de um segundo. De acordo com Hoshi *et al.* [15], a TOD é uma das mais sofisticadas técnicas de imagiologia óptica para observação no interior do tecido biológico, permitindo a obtenção de imagens 3D sobre informação anatómica e funcional, tendo um grande potencial como método de diagnóstico ótico.

Em comum, estes três (exemplos de) métodos de imagem médica têm o facto de poderem ser utilizadas em diferentes aplicações clínicas (tais como na imagiologia funcional do cérebro e da mama) e ainda apresentarem limitações ao nível da resolução espacial quando comparadas com outros métodos, como a Imagem por Ressonância Magnética ou a Tomografia Computorizada por Raios – X [8], [16], [17]. Para além disso, o elevado efeito de espalhamento (*scattering*) e absorção que ocorre sobre a luz no interior dos tecidos biológicos, faz com que a imagiologia em profundidade seja limitada por atenuação óptica [10],[17] não ultrapassando por norma os 4-5mm de profundidade [13], [14].

- **Tecnologia**

Ao longos dos últimos anos tem-se verificado o desenvolvimento de técnicas de óptica adaptativa com o objetivo de suprimir os efeitos causados pela turbulência atmosférica (*scattering* atmosférico) em aplicações como observações astronómicas e telecomunicações. Estas técnicas são bastante similares às utilizadas em imagiologia biomédica, no entanto, o objetivo não será obter uma imagem no interior do meio turbido, mas sim através do meio turbido (atmosfera) [18], [19], [20].

1.2 *State of The Art*

A difusão da luz é um fenómeno físico fundamental que assume um papel preponderante na imagiologia óptica [9],[21]. De facto, este processo ocorre sempre que partículas ou ondas se desviam da sua trajetória original, sendo necessária a sua focagem através de um sistema de imagem para obter a visualização óptica do objeto em estudo. Para o caso do tecido biológico, um meio dinamicamente instável, é necessário manipular a fase da frente de onda da luz à medida que as partículas do meio se movem, sendo essa, portanto, a maior dificuldade na imagiologia biológica.

Inicialmente, como primeira abordagem a este problema, Zernike, em 1955, desenvolveu a técnica de microscopia de contraste de fase (*Phase-Contrast Microscopy*, PCM) [22] em que, ao tirar partido do fenómeno da interferência da luz, permitiu aumentar o contraste nas imagens de células biológicas. Mais recentemente, novas técnicas de imagiologia de fase têm sido desenvolvidas e utilizado como objeto de estudo tridimensional o mapeamento de células vivas e tecidos [23],[24]. Assim, ao explorar a distribuição dos índices de refração (como fonte de contraste de imagiologia óptica intrínseca), de uma amostra celular e tendo em consideração os princípios de interferometria ou holografia, inúmeras técnicas de imagiologia de fase permitiram a observação de fenómenos simples de *scattering* em amostras 3D [25]. Não obstante a melhoria dos resultados, a problemática do *scattering* em larga escala (*multiple scattering* ou Teoria da Difusão Múltipla), nomeadamente em meios biológicos, permanece como um grande desafio à obtenção de imagem no interior destes meios [5], [26].

Nesse âmbito, nas últimas décadas, cientistas e investigadores têm aperfeiçoado diferentes métodos experimentais e teoremas para melhor compreender o transporte de luz em meios biológicos. Deste modo, os princípios físicos associados à difusão das ondas luminosas têm sido exaustivamente perscrutados, desde o estudo de ondas acústicas, ao transporte de eletrões em meios mesoscópicos (transporte balístico) e até à investigação do efeito de *multiple scattering* da luz [27].

Podemos, portanto, afirmar que a manipulação da propagação da luz foi sempre objeto de investigação ao longo do tempo ([7], [19],[28]), sendo várias as motivações associadas [26]: o facto da luz ser sensível às propriedades intrínsecas das moléculas - assumindo-se como uma ferramenta essencial para compreender as estruturas e propriedades da matéria e monitorizar processos físicos, biológicos e químicos – permite, por exemplo, com base na avaliação dos efeitos ópticos causados por um feixe laser incidente em tecidos diferentes, definir qual o tipo de laser escolhido numa determinada aplicação recorrendo a radiação não ionizante (ao invés de Raios X) no tratamento biológico de tecidos. Na

realidade, uma melhor compreensão e controlo da propagação de luz em meios túrbidos, promove efeitos benéficos imediatos em qualquer área associada a fenómenos ondulatórios [26].

Um das razões fundamentais que sugere a possibilidade de controlar continuamente a difusão da luz em meios túrbidos, está relacionado com o facto de, apesar de se observarem padrões de intensidade com distribuições totalmente aleatórias (padrões do tipo *speckle*), a difusão é, *per si*, um fenómeno determinístico que pode ser explicado através das equações de Maxwell [29], [30], [31]. Como tal, nos anos mais recentes e tendo em consideração a natureza determinística do *scattering* (elástico) da luz, foram desenvolvidas técnicas de modelação de frente de onda para manipulação do espalhamento da luz e focagem no interior de meios túrbidos, tais como métodos iterativos para otimização da frente de onda (*Pre-Compensate Wavefront Shaping*), métodos de conjugação de fase (*Optical Phase Conjugation – OPC*) e ainda microscopia com feixes auto reconstrutivos (*Microscopy with Self- Reconstructing Beams - MISERB*) através da utilização de estruturas conhecidas como *Axicons* [7], [18], [28], [32].

Tais progressos na medição e controlo das frentes de onda da luz no interior de meios túrbidos, são de interesse especial em áreas como a imagiologia biomédica de alta resolução, nomeadamente em técnicas *in vivo* e ainda na área da medicina, pois permite o desenvolvimento de métodos de diagnóstico ou tratamento de doenças como cancro, sem intervenção cirúrgica. Uma outra notável aplicação, é a possibilidade de efetuar ativação seletiva de processos fotoquímicos que requerem a incidência de luz concentrada em regiões específicas no interior do tecido humano [26].

Apesar da importância associada ao controlo da luz no interior de meios túrbidos, ninguém conseguiu ainda efetuar a focagem da luz em profundidades elevadas, isto é, acima de 5 mm, no interior destes mesmos meios [29].

1.2.1 *Microscopy with Self- Reconstructing Beams – MISERB*

O conceito de feixes auto reconstrutivos (*Self-Reconstructing Beams*) tem origem em estudos desenvolvidos com *Axicons* (um tipo de lentes que será explorado no terceiro capítulo desta tese), estruturas a partir das quais são gerados feixes com uma maior profundidade de campo, os feixes de Bessel, sendo também denominados feixes não difrativos [33].

A técnica MISERB assenta na utilização de feixes de Bessel para iluminação de amostras no interior de meios túrbidos, tendo-se verificado, de acordo com Fahrbach *et al.* [34], um aumento da profundidade do foco, o que evidencia que a integridade dos feixes

Bessel varia muito pouco quando comparado com a considerável distância percorrida no interior do meio em estudo.

De facto, a aparente “resistência” dos feixes Bessel contra os efeitos da difusão possibilita que a MISERB aumente a qualidade da imagem em meios heterogéneos, tendo mesmo sido registado um aumento da penetração em profundidade na pele humana [34],[35]. Como tal, a redução controlada da difusão e espalhamento do feixe, assegura o desenvolvimento de um novo conceito de iluminação para microscópicos especialmente concebidos para observação detalhada e em profundidade no interior de meios biológicos.

Fahrback *et al* [35], sugere ainda que apesar dos feixes auto reconstrutivos terem sido objeto de estudo científico ao longo dos últimos anos, existe ainda pouca informação sobre a sua propagação e comportamento autocorretivo num meio tridimensional heterogéneo.

1.2.2 Pre - Compensate Wavefront Shaping – Exemplo Método Iterativo

No passado recente, a focagem de luz através de meios túrbidos foi alcançada através da otimização de frentes de onda, recorrendo a um sistema de feedback e a moduladores de luz espaciais (*Spatial Light Modulators*, SLM) para monitorização das frentes de onda [36].

Vellekoop *et al.* [32] provou que é possível contruir frentes de onda que permitem a focagem através de meios de elevada difusão, sendo para isso necessário que a frente de onda modelada assuma uma configuração tal que permita compensar a alteração que a onda incidente sofre ao atravessar o meio, por ação da partículas que o integram. Para focar luz através de tecido vivo ou um meio túrbido líquido (sangue), é necessário dinamicamente adaptar a frente de onda à medida que a partículas do meio se movem.

A frente de onda “ótima” poderá ser obtida através de um algoritmo iterativo [36] [32] ou através da medição da matriz de transmissão do meio túrbido [37], [38]. No primeiro caso, a ideia fundamental é que é através da otimização da frente de onda incidente que as fases ópticas dos diferentes segmentos espaciais que constituem a luz num ponto específico do meio túrbido, que inicialmente estavam aleatoriamente distribuídos, se ajustam ao meio túrbido havendo interferência construtiva de todos os campos como resultado da relação linear entre os campos de incidência e de transmissão. O princípio por detrás do controlo do fenómeno da difusão (*multiple scattering*) poderá ser observado na Figura 1.1. Na Figura 1.1 (a), verifica-se que o feixe laser ao atravessar um meio (heterogéneo) túrbido, difunde e posteriormente forma um padrão aleatório (*speckle*) devido à distribuição espacial de fraca interferência construtiva e interferência destrutiva resultante da alteração dos percursos ópticos. O objetivo será modelar a frente de onda incidente de forma a que a

difusão causada pelo meio túrbido, permita a formação de um foco de luz num ponto específico (Figura 1.1 (b)). Para tal, recorre-se à divisão da frente de onda incidente em segmentos espaciais, cuja amplitude contribui individualmente e de forma aleatória para o foco (Figura 1.1 (c)). Depois de ajustarmos a fase de cada segmento, num processo de otimização da frente de onda do feixe incidente, obtemos um padrão de interferência construtiva de todos os campos, pelo que é possível determinar a fase para o qual a intensidade do campo é máxima e que corresponde ao nosso foco ótico (Figura 1.1 (d)). O processo de otimização é desenvolvido de forma iterativa (explicado detalhadamente em [32]).

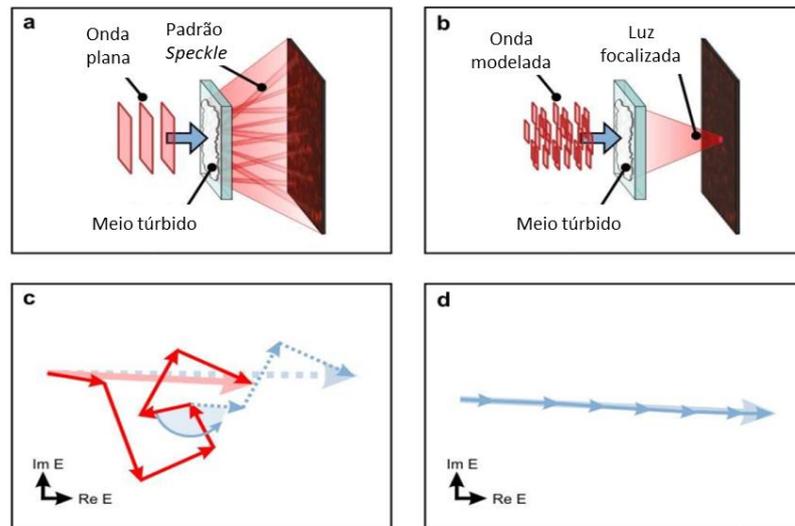


Figura 1.1: Exemplificação do Método Iterativo - Em a), observa-se que a frente de onda incidente, ao atravessar um meio túrbido, produz um padrão de interferência aleatório do tipo *speckle*. Em b), a frente de onda incidente é modelada de forma a que a difusão a que é sujeita ao atravessar o meio túrbido permita obter um foco de luz num determinado ponto desejado. Em c), observa-se a representação complexa de cada segmento da onda incidente. Antes da modelação ocorrer, verifica-se que cada segmento tem uma contribuição segundo uma direção aleatória (setas vermelhas). Ao ajustar-se a fase de cada segmento, obtém-se a fase para o qual a intensidade é máxima (seta azul); d), representa, simbolicamente, essa intensidade que ocorre quando há uma interferência construtiva de todos os segmentos. Adaptado de [39].

A obtenção de um foco ótico através de um meio altamente difuso acarretará bastantes benefícios na área da ótica biomédica, desde o tratamento e diagnóstico de doenças como o cancro até às terapias fotodinâmicas e fototérmicas. O método iterativo comprova que a difusão poderá ser regularmente monitorizada através da modelação das frentes de onda e depois de demonstrada a sua eficácia, este tem sido articulado com técnicas de polarização [40] e seletividade espectral [41].

A grande desvantagem deste método prende-se com o facto de ser um processo bastante moroso, devido à necessidade de correr milhares de iterações de otimização e consequente atualização dos padrões do *Spatial light modulator* (SLM) responsável pela modelação do feixe em cada iteração [42], [43].

1.2.3 *Time – Reversed Optical Phase Conjugation (OPC)* – Exemplo Método Não iterativo

Nas últimas décadas, a técnica da OPC tem sido objeto de estudo na área da óptica não linear e revela uma relação particular entre dois feixes ópticos coerentes que se propagam em direções opostas, com a frente de onda revertida e similar distribuição de amplitude. A característica singular de um par de feixes conjugados em fase, está relacionada com a influência das aberrações impostas sobre o feixe incidente ao atravessar um meio turbido que podem ser automaticamente removidas pelo feixe regressivo ao atravessar precisamente o mesmo meio [44].

A conjugação óptica de fase consiste na transformação do campo de luz numa direção de propagação oposta com uma frente de onda conjugada e tem sido utilizada para suprimir o efeito de *scattering* em meio turbidos [28]. Depois de passar um meio extremamente difusor, o campo ótico incidente transforma-se num campo altamente complexo (*speckle*). Quando este campo *speckle* é conjugado em fase e se propaga novamente na direção oposta através do meio difusor, todos os eventos de *scattering* são totalmente revertidos (deste ponto, compreende-se o conceito *time-reversed* ser particularmente associado a esta técnica), resultando então na formação do campo ótico incidente inicial [45],[46].

Mais recentemente, o método da conjugação óptica de fase digital (*Digital Optical Phase Conjugation*, DOPC) tem apresentado resultados muito promissores no que diz respeito à diminuição dos efeitos causados pela turbidez em tecidos biológicos [26]. De uma forma sintética, a aplicação da DOPC assenta em duas etapas fundamentais: Primeiramente, resulta da medição do campo de luz difundido pelo meio turbido obtido através de holografia digital e gravada por um espelho de conjugação de fase [47], ou recorrendo a técnicas quantitativas de imagiologia em fase [48]; de seguida analisa-se este campo e elabora-se o respetivo campo de luz difuso conjugado em fase, explorando para isso técnicas de modelação de frentes de onda com SLMs.

As vantagens deste método são a boa resolução (o efeito de *scattering* é totalmente suprimido) e o facto de não envolver um elevado número de iterações, cumprindo a sua função celeremente, tendo-se inclusivamente conseguido obter experimentalmente focos ópticos dentro de pouco tempo (na ordem dos milissegundos) [49],[50]. Para além disso, foi já demonstrado a DOPC de fluorescência [51],[52] e a geração de sinais de segunda harmónica [53],[54]. No passado recente, a conjugação óptica de fase digital utilizando modulação com ultrassons [26], apresentou resultados auspiciosos para focagem óptica no interior de meios turbidos e imagiologia de alta resolução em tecidos biológicos em profundidade, abrindo por isso boas perspetivas para o desenvolvimento de aplicações *in vivo*.

1.2.4 Discussão

Como referido anteriormente, as técnicas de manipulação de frentes de onda têm sido alvo de estudo por parte de cientistas e investigadores ao longo do tempo. Porém, e com o intuito de proporcionar imagens cada vez mais rápidas, nítidas e a profundidades superiores no interior de tecidos vivos, há a constante necessidade de aprimorar ou desenvolver novos algoritmos, no sentido de desenvolver novas aplicações, evoluir para novas terapias e métodos de diagnóstico ou obter imagens com melhor resolução. Devido à escassez de literatura que compare algumas das técnicas já apresentadas (e com a possibilidade continuada de melhoria), este trabalho é uma experiência num campo da imagiologia óptica com espaço para ser explorado, uma vez que, apesar dos notáveis avanços conseguidos, as utilizações das técnicas mencionadas foram sempre limitadas pelos sistemas onde foram aplicadas, quer em meios dinâmicos e transparentes ou em meios estáticos e opacos. O grande objetivo seria aplicar técnicas de modelação de frentes de onda a sistemas dinâmicos e opacos, o que permitirá obter imagem de tecidos profundos em qualquer ambiente. Para resolver este problema, estima-se que um sistema híbrido que combine vantagens de métodos iterativos e não iterativos, permitirá manipular a propagação no interior de qualquer meio turbido com um elevado grau de precisão.

A análise dos resultados deste trabalho poderá ser de bastante utilidade para investigadores em todo o mundo, que poderão retirar as suas ilações e repensar se o tempo que pretendiam aplicar experimentalmente nestas técnicas se justifica, ou se por outro lado o investirão no desenvolvimento de novas hipóteses.

1.3 Objetivos

O fenómeno de *multiple scattering* (ou difusão) de luz tem-se assumido como um dos maiores obstáculos para a obtenção de imagem no interior de meios túrbidos, como o tecido biológico. Como tal, a principal dificuldade deste trabalho será tentar compensar o efeito de *scattering*, sendo primeiramente necessário compreender quais os princípios físicos por detrás deste fenómeno, para posteriormente desenvolver algoritmos de modelação de frentes de onda que permitam controlar este efeito no interior de meios biológicos. Segundo Tziraki *et al.* [55] e Vallekoop *et al.* [51], existem dois fatores que dificultam a penetração da luz em profundidade e que, por essa razão, terão que ser tomados em consideração no presente estudo, nomeadamente a sua absorção no interior do meio turbido e ainda o fator de turvação induzido pelo mesmo meio de propagação, que conduz a uma difusão da luz e redução dos efeitos causados pela energia aplicada.

O propósito desta tese será explorar novos algoritmos e desenvolver técnicas de modelação de frentes de onda, com o firme objetivo de procurar manipular com elevado grau de precisão a propagação de luz no interior de materiais difusores, para desse modo obter imagem de um foco de luz mais reduzido no interior deste mesmo tipo de materiais em profundidades elevadas (5 mm - 15 mm). Por conseguinte, pretende-se simular diferentes técnicas utilizando um *software* de simulação óptica, o ZEMAX™, onde serão desenhados os sistemas ópticos, e elaborar um programa/interface com o MATLAB® para o desenvolvimento dos novos algoritmos.

Com este trabalho, e devido a outros avanços recentes em técnicas de modelação de frentes de onda, a imagiologia óptica no interior de tecidos biológicos sem procedimentos invasivos poderá ser utilizada em testes experimentais, oferecendo oportunidades promissoras para aplicações em imagiologia *in vivo* e de diagnóstico.

1.4 Estrutura

A estrutura desta tese encontra-se dividida em cinco capítulos. O primeiro capítulo compreende a introdução onde estão incluídos a contextualização, *state of the art* e objetivos. O capítulo segundo, aborda os conceitos teóricos que serão necessários para uma melhor perceção do trabalho desenvolvido. No capítulo três é apresentado detalhadamente o procedimento adotado e o seu enquadramento, seguido pelo capítulo onde serão apresentados e discutidos os resultados obtidos nas diferentes experiências e algoritmos desenvolvidos. Por fim, o capítulo cinco apresenta-se como o último desta tese, onde está incluída a conclusão e a utilidade deste estudo na óptica médica e onde são sugeridas oportunidades para um trabalho futuro.

Enquadramento teórico

Apesar das diferentes células biológicas serem, individualmente, constituídas por água e proteínas e transparentes à luz visível, os tecidos biológicos, que são constituídos por múltiplas camadas destas células, são altamente opacos resultando na difusão da luz. Para contrariar este efeito e com o propósito de calcular e compreender melhor as características do meio biológico, inúmeras técnicas têm sido desenvolvidas para obter informações sobre o meio considerado. A ênfase principal desta dissertação é desenvolver algoritmos a serem aplicados em técnicas de modelação de frentes de onda a fim de aumentar a profundidade de penetração da luz no meio turbido. Posteriormente, irá ser avaliada o desempenho das técnicas em estudo.

Neste capítulo, são apresentados alguns conceitos teóricos transversais a todo o trabalho, nomeadamente relativos às técnicas de modelação de frentes de onda em estudo. A compreensão destes conceitos é fundamental para o acompanhamento do trabalho.

2.1 Luz

Do ponto de vista clássico, sempre que uma carga elétrica se encontra em movimento é criado um campo magnético, e, caso o movimento seja acelerado, o campo magnético varia e um campo elétrico é gerado. Essa oscilação de campos elétricos e magnéticos faz com que outros portadores de carga à distância também oscilem. Como as oscilações dos campos magnéticos e elétricos são perpendiculares entre si e perpendiculares à direção do movimento da onda e energia, uma onda eletromagnética (luz) é uma onda transversal e que não necessita de um meio para se propagar, pelo que pode viajar através de meios materiais ou vácuo.

CAPÍTULO 2 ENQUADRAMENTO TEÓRICO

De acordo com a mecânica quântica, a radiação eletromagnética é descrita como sendo constituída por fótons (também conhecidos como *quanta* de luz) que se propagam à velocidade da luz no vácuo.

Em 1865, Maxwell foi o primeiro a descobrir a existência de ondas eletromagnéticas, cujo espectro de luz inclui radiação com diferentes propriedades (comprimentos de onda, frequência...) como Raios-X, luz visível, infravermelho, ondas de rádio, entre outras. (Figura 2.1).

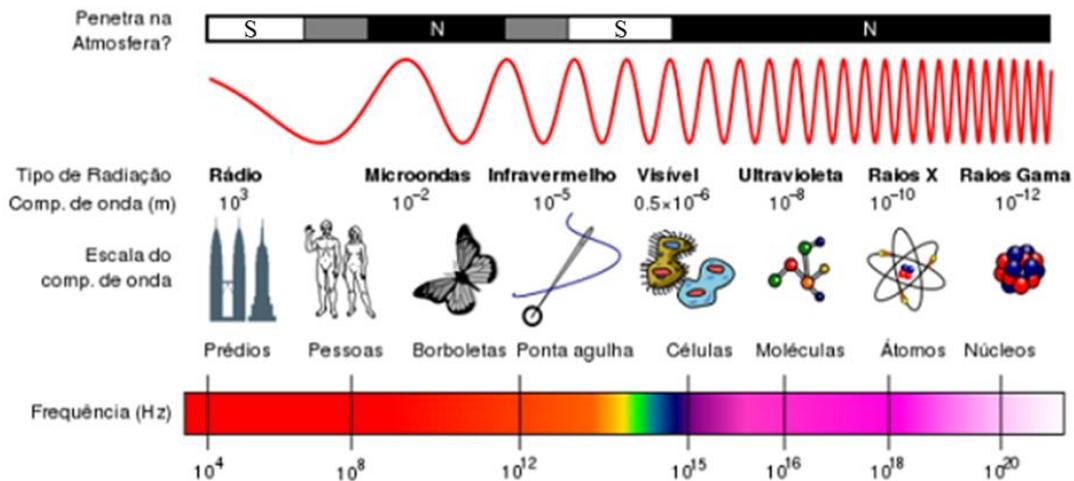


Figura 2.1: Diagrama do espectro eletromagnético exibindo as várias propriedades das diferentes ondas eletromagnéticas. Adaptado de [56].

Todas as ondas eletromagnéticas viajam à mesma velocidade no vácuo, à “velocidade da luz”, c . Já num outro qualquer meio, quer seja em água, cortiça ou um tipo de tecido biológico, por exemplo, a velocidade de propagação, v , é diferente. O quociente entre estas duas velocidades é chamado de índice de refração, n , do meio. Pode-se então escrever:

$$n = \frac{c}{v} \quad (1)$$

De (1), é possível inferir que quanto maior o índice de refração, menor é a velocidade de propagação da luz no meio, pelo que o índice de refração pode ser visto como uma medida de resistência oferecida por um meio à passagem da luz.

Refira-se que ao longo deste trabalho o uso do conceito de “luz” é mais restritivo e refere-se essencialmente a luz visível e infravermelho.

2.1.1 Interação luz-matéria

Existem diferentes tipos de interações possíveis entre luz e matéria. Como exemplo, a matéria pode absorver, emitir, refletir ou difundir a luz. Na realidade, se pensarmos no que existe ao nosso redor, verificamos que o leite é branco pois reflete toda a luz visível que sobre ele incide enquanto que as folhas das plantas são verdes, uma vez que absorvem luz principalmente azul e vermelha. Também as lâmpadas podem emitir um tipo de luz em função da sua temperatura (menor temperatura, luz amarela/branca e maior temperatura, luz azul). Já as cores do céu e do arco-íris são manifestações de vários eventos de *scattering* da luz.

Em vários meios túrbidos biológicos, como o tecido biológico, os dentes ou ossos, a luz é mais difusa do que absorvida ou emitida, o que faz com que o seu processo de imagiologia seja bastante complexo; a luz ao propagar-se nestes meios, experiencia vários fenômenos de *scattering* e torna-se difusa, impedindo-nos de ver as estruturas e características intrínsecas dos meios em estudo.

Importa ainda referir que a luz tem um carácter dual: os fenômenos de reflexão, refração, interferência, difração e polarização da luz podem ser explicados pela teoria ondulatória e os de emissão e absorção podem ser mais facilmente compreendidos pelo carácter corpuscular da luz que explicam alguma das interações entre luz e matéria.

2.1.1.1 Comportamento Ondulatório da luz

A maior parte das interações entre a luz e as moléculas biológicas de interesse são de carácter eléctrico. Para se descreverem as interações entre a luz e as moléculas, iremos partir das equações de Maxwell para as ondas eletromagnéticas. Fixemo-nos em particular na equação (2) que descreve a natureza oscilante do campo eléctrico, \mathbf{E} , que se propaga em fase e perpendicularmente ao campo magnético, \mathbf{B} , e à direcção de propagação da onda plana.

A equação (2) é solução da equação de onda de Maxwell para o campo eléctrico \mathbf{E} (z , t) e caracteriza um campo eléctrico oscilante que se propaga ao longo do tempo, t , numa direcção z , no vácuo:

$$\mathbf{E}(z, t) = \mathbf{E}_0 \sin k(z - ct) = \mathbf{E}_0 \sin(kz - \omega t) \quad (2)$$

$$\text{com} \quad k = \frac{\omega}{c} = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (3)$$

CAPÍTULO 2 ENQUADRAMENTO TEÓRICO

Em que E_0 define a amplitude do campo elétrico, ω é a frequência angular dada por $2\pi\nu$ (ν , frequência da onda), c , a velocidade da luz e k é o vetor de propagação.

A velocidade de uma onda plana é descrita pela propagação das ondas num meio, sendo caracterizada por duas velocidades:

- ✓ velocidade de fase, que é definida como sendo a velocidade do plano de fase constante (isto é, a distribuição espacial do pico de onda) de uma única onda e igual à velocidade de propagação de uma onda eletromagnética no meio em que se desloca, tal como referido anteriormente. A diferença de fase entre duas ondas pode ser observada na Figura 2.2.

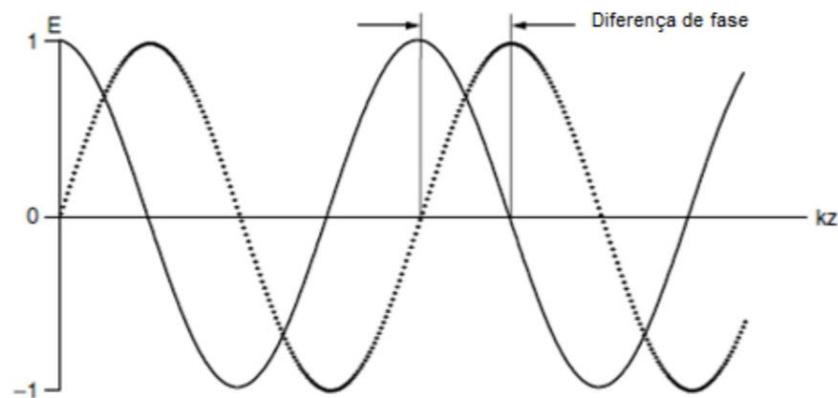


Figura 2.2: Esquema de duas ondas desfasadas em valor igual à "Diferença de fase". Adaptado de [57].

- ✓ Se o número de ondas planas for infinito (pacotes de ondas), e estas possuírem valores de k muito próximos, então a velocidade de propagação do grupo de ondas é, por definição, a velocidade do seu centro e designa-se por velocidade de grupo. Cada onda plana que contribui para o grupo de ondas propaga-se à sua velocidade de fase e representa a velocidade de transmissão de energia ou informação [58].

Qualquer material, quando considerado como um meio de propagação ótico, apresenta um índice de refração, n , variável em função do comprimento de onda da radiação que sobre ele incide. Verifica-se ainda que esta é uma relação inversa, ou seja, o valor do índice de refração do meio aumenta quando se diminui o comprimento de onda. Pela equação (1), pode depreender-se que a velocidade de fase aumenta com o aumento do comprimento de onda, sendo que o comportamento da velocidade de grupo de ondas é idêntico. Estas relações explicam o facto de, por exemplo, a luz vermelha se propagar mais depressa que a luz azul [57].

2.1.1.2 Comportamento corpuscular da luz

A ideia proposta por Planck postulava que a energia num feixe de luz, ao invés de se encontrar distribuída no espaço pelos campos elétricos e magnéticos de uma onda eletromagnética, estava concentrada em quantidades discretas de energia conhecidos por "quanta" ou fóton. Cada fóton tem uma determinada frequência, ν , e tem uma energia discreta e fixa, de valor $h\nu$, onde h é a constante de Planck. Assim, é possível afirmar que a energia de uma onda eletromagnética é quantizável e nem todos os valores de energia são possíveis, mas somente múltiplos de um valor mínimo fundamental equivalente à energia de um só fóton. A energia total de uma onda é igual a $Nh\nu$, onde N é o número de fótons que constitui a onda.

Os fótons são partículas de luz dotadas de energia cinética e que também possuem momento linear, p , sendo este, pela Lei de De Broglie, igual $h\nu/c$ ou ainda a h/λ com λ , o comprimento de onda do fóton. O momento linear é fundamental para explicar fenômenos como o Efeito Fotoelétrico ou Efeito de Compton, ao descrever o instante em que um fóton muda de direção de propagação quando colide com outra partícula (sofre *scattering*) ou quando é refratado na superfície de um meio [59].

2.2 Meios túrbidos

Num mundo homogêneo ideal, a luz deverá propagar-se como um raio; numa direção específica, em linha reta e com uma velocidade constante. O ar que nos rodeia é o meio que mais próximo está de comportar-se como um meio homogêneo, pelo que a luz difusa ou emitida por um objeto consegue aí, por exemplo, propagar-se em linha reta. Num meio homogêneo denso, observa-se que a onda difusa se sobrepõe com a onda incidente e dá origem a uma onda refratada que se propaga à velocidade $\frac{c}{n}$, com c , a velocidade da luz e, n , o índice de refração. A partir desta aproximação microscópica, as leis de Snell-Descartes mostram que o índice de refração depende da polarização de cada molécula e do número de moléculas por unidade de volume. Portanto, sempre que consideradas pequenas flutuações do índice de refração quando comparados com o comprimento de onda, o traçado de raios é ainda possível considerando as leis da refração.

Os meios túrbidos, pelo contrário, são constituídos por uma densa concentração de partículas que causam heterogeneidades aleatórias que difundem e evitam uma propagação linear da luz. No interior destes meios, verificam-se vários eventos de *scattering* que distorcem a frente de onda de tal forma que toda a coerência espacial é perdida, tornando-os meios opacos. Da mesma forma que a luz não pode sair do meio túrbido de forma incólume,

é igualmente difícil concentrar luz sobre um objeto no interior destes meios, uma vez que o fenómeno de difusão espalha a luz em vez de a concentrar num único ponto [29],[32]. Aqui, a luz encontra flutuações do índice de refração à escala do seu comprimento de onda, pelo que a onda incidente é totalmente distorcida.

Os meios biológicos túrbidos podem ser óticamente modelados através da análise da flutuação dos índices de refração, pelo que, a propagação da luz poderá ser conjecturada recorrendo às equações de Maxwell caso seja conhecida a posição no interior do meio túrbido onde ocorre a mudança do índice de refração. Contudo, derivado a complexidade das estruturas no interior destes meios, dificilmente conseguimos obter soluções para essas equações. A capacidade de manipular a propagação da luz no interior de meios túrbidos (como em tecidos biológicos (pele)) poderá ser fundamental em diferentes áreas da medicina.

2.2.1 Tecido biológico - Pele

Neste subcapítulo, é detalhadamente descrito o tecido biológico mais relevante e utilizado nesta investigação, a pele. Ao estudar a sua estrutura complexa, compreende-se a razão pela qual o efeito da difusão da luz é tão intenso no seu interior, sendo por isso considerado como um meio túrbido.

A pele é o maior órgão visível do corpo humano, cobrindo uma área corporal equivalente a 2 m² e compondo quase um sexto do peso corporal. Para além disso, a pele é um órgão dinâmico, atua como primeira linha de defesa do organismo contra bactérias e vírus, ajuda na termorregulação e outras funções metabólicas e é muito sensível ao tato.

2.2.1.1 Estrutura da pele

Na figura 2.3 está representada a estrutura da pele. A camada mais superficial, a Epiderme, tem uma espessura aproximada de 60-80 µm, sendo que este valor pode variar em função da região corporal e é composta essencialmente por proteínas e lípidos. A Epiderme é constituída por cinco subcamadas, da mais profunda para a mais superficial, Estrato basal, Estrato espinhoso, Estrato granuloso, Estrato lúcido e Estrato córneo [60]. Esta última subcamada é a que previne a entrada de elementos estranhos para o interior do corpo.

Imediatamente abaixo da Epiderme, encontra-se a camada intermédia da pele, a Derme, de aproximadamente 1-2 mm de espessura em humanos. Esta é constituída essencialmente por uma rede de fibras de colagénio (um tipo de fibras elásticas), sal, água, proteínas

e fibroblastos, o principal tipo de células da Derme e responsável pela secreção das proteínas estruturais elastina e colagénio, que conferem suporte e elasticidade às células da pele. Por sua vez, a Derme está dividida em duas camadas, Estrato reticular e Estrato papilar. O Estrato papilar encontra-se provida de uma rede vascular que fornece nutrientes à Epiderme e ajuda na termorregulação, sendo o colagénio o seu mais importante constituinte. As fibras de colagénio encontram-se aleatoriamente distribuídas, apresentam um diâmetro que poderá variar entre os 0,3-3 μm e encontram-se entrelaçadas com fibras elásticas compostas por microfibrilhas cujo diâmetro varia entre 10-12 μm . O Estrato reticular é uma camada grossa e profunda que confere força e elasticidade à pele e forma uma fronteira com a Hipoderme subcutânea [60].

A Hipoderme é a última e mais profunda camada da pele e é responsável pelo armazenamento de energia enquanto acolchoa e isola o corpo, sendo constituído essencialmente por tecido adiposo, fibras de colagénio e vasos sanguíneos. Existem ainda outras estruturas presentes na pele como nervos sensitivos, glândulas sebáceas, folículos capilares e glândulas sudoríparas que fazem com que a pele seja um meio realmente complexo e dinâmico.

Em termos quantitativos, o colagénio é o maior constituinte da pele (exceção feita à água) e representa até 70% do peso seco da pele [61], sendo provavelmente o maior contribuidor para a difusão da luz neste tecido biológico.

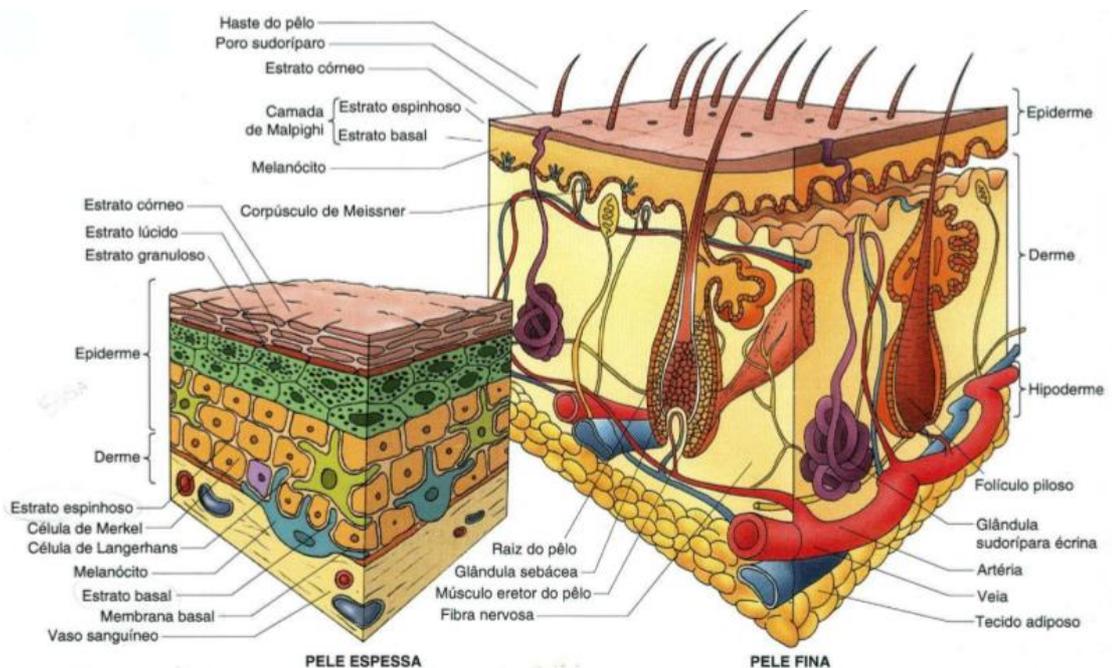


Figura 2.3: Desenho esquemático de pele. Adaptado de [62].

2.3 Interações da luz no interior de meios biológicos túrbidos

Tal como foi possível deprender pelo subcapítulo 2.2.1.1, estruturas biológicas como a pele apresentam inúmeras heterogeneidades com diferentes dimensões que interagem com a luz. Na figura 2.4, estão representadas algumas estruturas biológicas e as suas respetivas escalas espaciais.

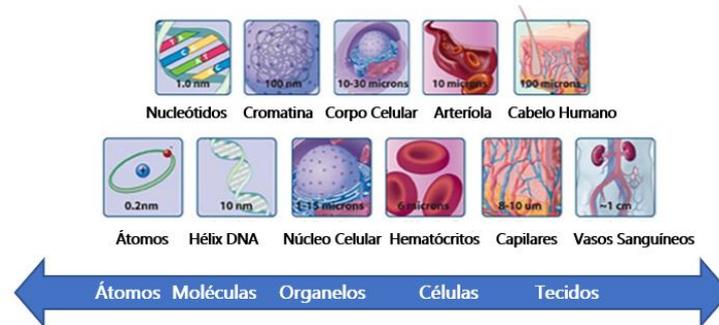


Figura 2.4: Escala dimensional de várias estruturas que constituem os tecidos biológicos. Adaptado de [63].

Sempre que um fóton interage com partículas que constituem o meio difusor, este pode sofrer o efeito de vários eventos, [64][65] tal como ilustrado na Figura 2.5:

- ✓ **Reflexão especular** - na superfície do meio;
- ✓ **Absorção** – no interior do meio;
- ✓ **Reflexão difusa** – sai do meio depois de vários fenómenos de *scattering*;
- ✓ **Transmissão direta** - sem interação com o meio, propaga-se em linha reta (fótons balísticos);
- ✓ **Transmissão difusa** – transmissão através do meio depois de sofrer vários eventos de *scattering*. Estes fótons podem ser divididos em “*snake photons*”, quando sofrem poucos eventos e *fótons difusos* quando sofrem múltiplos eventos de *scattering*.

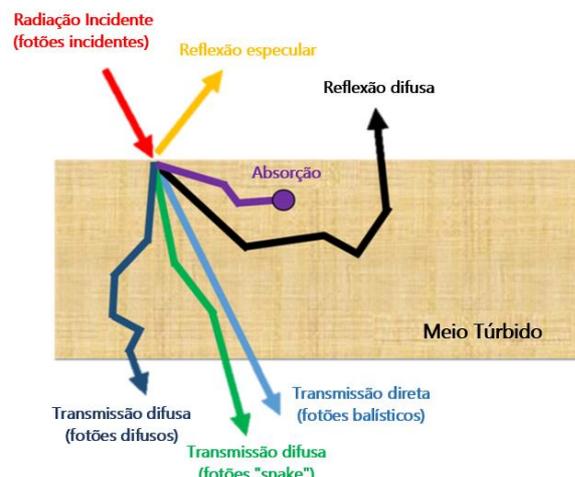


Figura 2.5: Tipos de interações de um fóton no interior de meios biológicos túrbidos. Adaptado de [66].

2.3 INTERAÇÕES DA LUZ EM MEIOS BIOLÓGICOS TÚRBIDOS

Apesar das diferentes possíveis interações fóton/partícula, os dois fenômenos que ocorrem com maior regularidade quando a luz se propaga no interior de meios difusores são a absorção e a difusão (*scattering*), [67]. Dependendo da sua magnitude relativa podem influenciar a forma como a luz sai da amostra (ou não, caso seja totalmente absorvida) e a capacidade de extrair informação óptica a partir do interior do meio.

A figura 5 apresenta as magnitudes relativas da absorção e difusão na pele em função do comprimento de onda. Para comprimentos de onda (λ) < 450 nm, a atividade óptica dos elementos constituintes da pele proporciona um domínio da absorção relativamente à difusão. Para λ entre 450-1750 nm, a difusão no tecido prevalece, no geral, sobre a absorção, embora para λ entre 450-600 nm, a melanina e hemoglobina atuem como fortes absorvedores enquanto que a água apresenta um papel similar para $\lambda > 1350$ nm (algo que será oportunamente descrito na secção 2.3.1). Finalmente, para $\lambda > 1750$ nm, a absorção no tecido predomina novamente sobre a difusão.

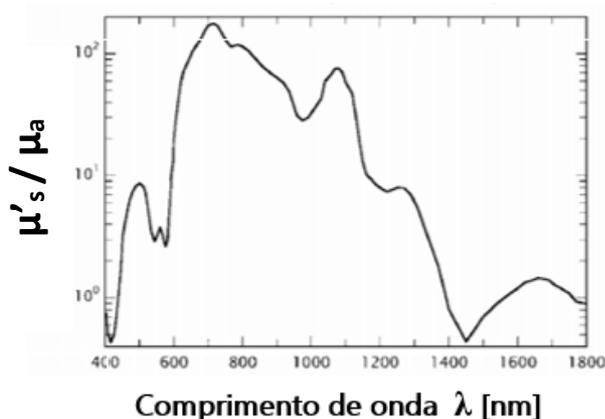


Figura 2.6: Absorção e difusão no tecido biológico. Rácio do coeficiente de *scattering* reduzido (μ'_s) pelo coeficiente de absorção (μ_a) da pele humana vs. Comprimento de onda (400 – 1800 nm). Adaptado de [67].

Após terem sido identificados os fenômenos de interação entre a luz e os tecidos biológicos mais relevantes sob o ponto de vista do trabalho a desenvolver, considero ainda importante compreender quais os parâmetros utilizados para os estudar. Assim, a propagação de radiação eletromagnética em meios difusores é caracterizado pelos seguintes parâmetros:

– *Scattering mean free path*, l_s , definido como a média da distância entre dois eventos de *scattering* consecutivos. Em tecidos biológicos, este valor encontra-se na ordem dos 0,1 mm, para comprimentos de onda NIR (*Near Infra-Red*, 0,75 – 2,5 μm), [68], [69]. O coeficiente de *scattering*, μ_s , é definido como o inverso do *scattering mean free path*;

– **Mean free path de absorção**, l_a , definido como a média da distância percorrida por um fóton antes de ser absorvida pelo meio. Nos tecidos pode variar entre os 10 e os 100mm, para comprimentos de onda NIR [16]. O coeficiente de absorção, μ_a , é definido como o inverso do *mean free path de absorção*;

– **Mean free path (MFP)**, l , definido como a distância percorrida por um fóton antes de ser absorvido ou difuso. O MFP corresponde ao inverso do coeficiente atenuação, $\mu_t = \mu_a + \mu_s$. No tecido biológico, como o $\mu_s \gg \mu_a$, o *mean free path* é muito próximo do *scattering mean free path*.

– **Função de Fase** - Dependendo do tamanho das partículas do meio, o processo de difusão poderá ser mais ou menos isotrópico. A função de fase representa a distribuição angular da intensidade da luz com um determinado comprimento de onda, difusa por uma partícula. Para tecidos biológicos, considera-se que a função depende apenas de um ângulo, θ , relativamente ao feixe incidente e representa a probabilidade $P(\mathbf{u}, \mathbf{u}')$ de um fóton incidente na direção \mathbf{u} , ser difuso na direção \mathbf{u}' . Para o tecido biológico, o modelo de Henyey-Greenstein consegue uma boa aproximação da função, [70].

– **Fator de anisotropia**, g - parâmetro utilizado para avaliar a isotropia do meio e definido por $g = \langle \cos \theta \rangle = \langle u \cdot u' \rangle = \int_{4\pi} u \cdot u' P(u, u') d\Omega$. Quando as partículas difusoras são de uma ordem de grandeza superior ao comprimento de onda do fóton, a probabilidade de distribuição de θ , definido como o ângulo entre a direção inicial e após o evento de *scattering*, não é uniforme (figura 2.7). Neste caso a difusão é anisotrópica, contrariamente à difusão isotrópica onde os fótons têm a mesma probabilidade de seguir em qualquer direção. Quando estamos na presença de um fenómeno de difusão isotrópico, $g = 0$. Já se a difusão ocorrer em linha reta, g aproxima-se de 1 e, caso ocorra difusão revertida total (isto é, reflexão), $g = -1$. Em tecidos biológicos, para comprimentos de onda NIR, $g \sim 0,9$ [68][71], ou seja, podemos depreender que a luz é praticamente difusa em linha reta, o que resulta na sua penetração no interior dos tecidos.

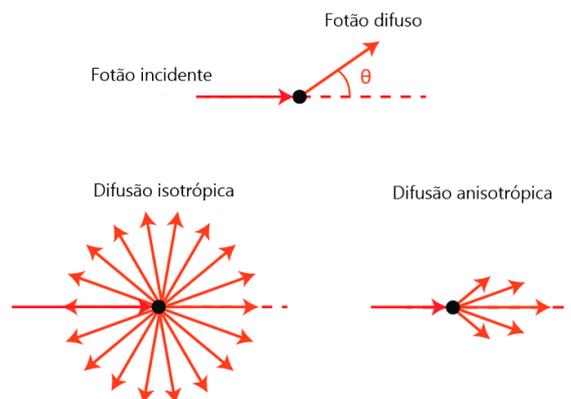


Figura 2.7: Difusão isotrópica e anisotrópica. Adaptado de [72].

2.3 INTERAÇÕES DA LUZ EM MEIOS BIOLÓGICOS TÚRBIDOS

– *Coefficiente de Scattering reduzido*, definido como a distância que um fóton percorre enquanto é submetido a vários eventos de *scattering* e está correlacionado com a direção original de propagação. Este parâmetro é definido através da expressão $\mu'_s = \mu_s (1-g)$, onde g corresponde ao fator de anisotropia.

– *Transport mean free path*, l'_s , corresponde ao inverso do coeficiente de *scattering* reduzido, μ'_s , tal que $l'_s = \frac{1}{\mu'_s} = \frac{l_s}{1-g}$ e pode ser interpretado como a distância que um fóton que sofreu vários eventos de *scattering* (regime de *multiple scattering*) percorreu, até se perder informação sobre a sua direção original e polarização (figura 2.8). Por outras palavras, a propagação da luz torna-se isotrópica após alguns *transport mean free paths*.

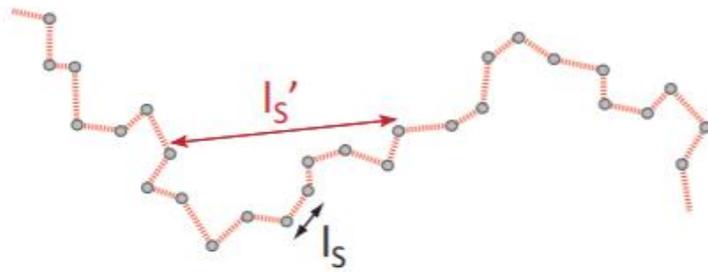


Figura 2.8: Diferença entre *transport mean free path* (l'_s) e *scattering mean free path* (l_s). Retirado de [72].

2.3.1 Absorção

Os fótons podem ser absorvidos pelos átomos e moléculas do meio turbido e desse modo promover excitações eletrônicas ou transições de estado vibracionais. No processo de transição dos elétrons de regresso aos estados de menor energia, a maior parte da energia libertada é transformada em calor. Este fenómeno nanoscópico pode ser descrito através do coeficiente de absorção, μ_a , que caracteriza a diminuição da intensidade balística devido à absorção (atenuação), tendo em consideração potenciais flutuações locais das propriedades de absorção do meio.

Matematicamente, o efeito da atenuação da intensidade balística considerando um feixe colimado é dado pela lei de Beer-Lambert (4):

$$I(z) = I_0 e^{(-\mu_a z)} \quad (4)$$

Em que z é o comprimento do caminho ótico, $I(z)$ a irradiância a uma determinada distância “ z ”, I_0 a irradiância incidente inicial e μ_a o coeficiente de absorção do meio.

O correspondente *mean free path* de absorção é dado, como vimos no subcapítulo anterior, por $l_a = 1/\mu_a$. No entanto, é necessário compreender que os tecidos não se assemelham a um conjunto de partículas difusoras discretas, pelo que o *mean free path* de absorção deverá ser interpretado como uma medida estatística em que a probabilidade dP de um fóton ser absorvido a uma distância óptica dz é proporcional a “ I ”. A partir da equação (5),

$$dP = \mu_a e^{(-\mu_a z)} dz \quad (5)$$

Verifica-se que

$$\langle Z \rangle = \int_0^{\infty} z \mu_a e^{(-\mu_a z)} dz = \frac{1}{\mu_a} = l_a \quad (6)$$

De acordo com a equação (6), chega-se à conclusão que, em média, um fóton propaga-se a uma distância equivalente ao seu *mean free path de absorção*, l_a , antes de interagir com uma partícula do meio e ser absorvido, e que o valor do coeficiente de absorção, μ_a , é o inverso da distância que a luz penetra num material até que a sua intensidade $I(z)$ decaia 1/e do valor da intensidade incidente I_0 .

2.3 INTERAÇÕES DA LUZ EM MEIOS BIOLÓGICOS TÚRBIDOS

Dado que se está a investigar a propagação de luz no interior de tecidos biológicos humanos, é importante perceber qual a contribuição dos seus constituintes orgânicos para as variações do coeficiente de absorção no tecido, em função do comprimento de onda da luz incidente.

Os principais constituintes do tecido biológico que absorvem luz são: melanina, oxihemoglobina (HbO_2), desoxi-hemoglobina (Hb), água, proteínas e colagénio. Procedendo à análise da figura 2.9, verifica-se que a absorção de luz por intermédio destes componentes varia em função do comprimento de onda da radiação incidente; assim, constata-se que a água (curva preta) absorve predominante luz para comprimentos de onda superiores a 1200 nm no espectro do infravermelho (compreendido entre os 700 nm e 1 mm (1×10^6 nm)) e para comprimentos de onda inferiores a 200 nm, ou seja, no espectro do ultravioleta (compreendido entre os 100 nm e os 400 nm). Em ambas as regiões mencionadas, observa-se também que as propriedades de absorção da luz dos restantes constituintes dos tecidos biológicos são bastante elevadas, sendo que entre os 200-350 nm as proteínas (curva cor-de-laranja) dominam a absorção, entre os 400-600 nm a melanina (curva vermelha) absorve fortemente luz e acima dos 5000 nm, o colagénio (perfil azul) atua como um forte absorvedor. Por outro lado, para comprimentos de onda entre os 300-900 nm, a água assume um comportamento quase transparente e a Hb e HbO_2 (curva castanha e verde, respetivamente) apresentam um coeficiente de absorção mais baixo entre os 500-1000 nm.

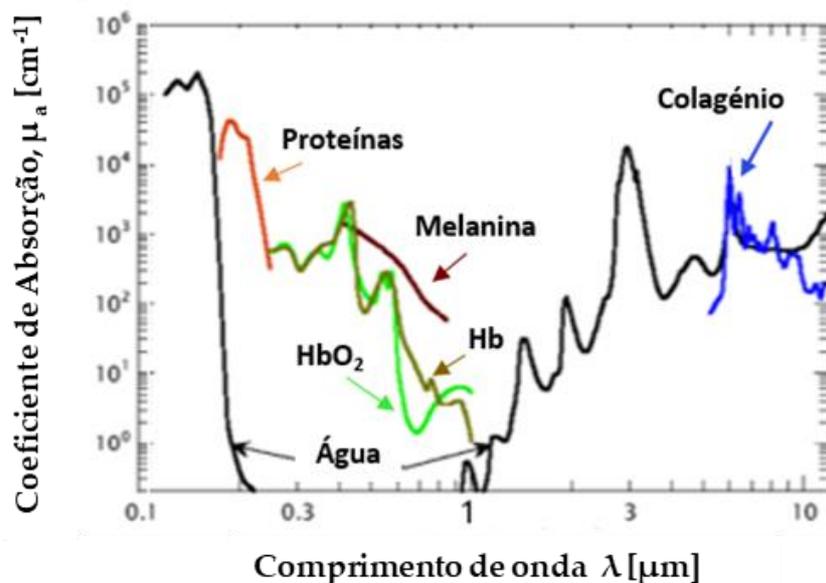


Figura 2.9: Absorção no tecido biológico. Coeficiente de absorção (μ_a) vs. Comprimento de onda (0,1 - 10 μm). Adaptado de [67].

Finalmente, por forma a adquirir uma melhor perceção do comportamento absorvedor das diferentes camadas da pele e não apenas de (alguns) dos seus constituintes, apresenta a figura 2.10 que compara os coeficientes de absorção, μ_a , de algumas camadas da Epiderme, Derme e Hipoderme em função de comprimentos de onda compreendidos entre os 400 e os 1000 nm. Através da análise da figura 2.10, verifica-se que para comprimentos de onda entre os 650 e 950 nm, as camadas Derme reticular, Derme papilar e Tecido adiposo apresentam os seus coeficientes de absorção mais baixos. Relativamente às camadas Estrato basal, Estrato córneo e Epiderme, observa-se uma diminuição do coeficiente de absorção para comprimentos de onda cada vez maiores. De notar ainda que a Epiderme é, no seu todo, a camada que apresenta um coeficiente de absorção mais elevado para qualquer comprimento de onda.

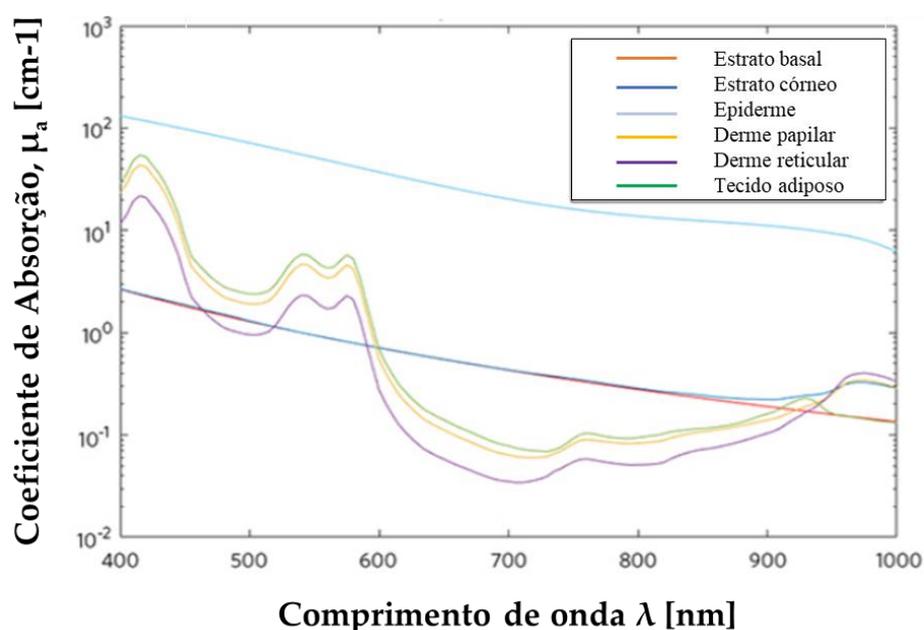


Figura 2.10: Coeficientes de absorção, μ_a , de diferentes camadas da pele em função do comprimento de onda (400-1000 nm). Adaptado de [73].

A informação apresentada pelo gráfico da figura 2.10 está de acordo com os dados que foram anteriormente analisados na figura 2.9, em que se constata que os principais constituintes do tecido biológico, como por exemplo da pele, apresentam um valor de coeficiente de absorção mais baixo para comprimentos de onda entre os 650 nm e os 950 nm. Teoricamente, para o mesmo intervalo de comprimentos de onda e em função da composição das camadas da pele, os valores do coeficiente de absorção da Derme reticular, Derme papilar e Tecido adiposo deveriam ser inferiores relativamente a todo o espetro de comprimentos de onda considerado, algo corroborado pela figura 2.10.

2.3.2 *Scattering*

Difusão ou espalhamento de luz (ou ainda *scattering*, em inglês) é o processo em que ocorre a deflexão de raios de luz em diferentes direções. No caso das ondas eletromagnéticas, os fótons podem alterar a sua direção inicial ao interagirem com partículas como elétrons ou núcleos atômicos.

A difusão está relacionada com as heterogeneidades do meio, podendo variar em função de fatores como o tamanho das partículas do meio, a distância entre si e o comprimento de onda da radiação considerada. A difusão da luz dentro de um meio turbido pode ser classificada em três tipos de regime [74] :

- ***Single scattering***, um regime favorecido em meios extremamente absorvedores ou em meios com poucas partículas, em que o número de eventos de *scattering* é ≤ 1 e os fótons balísticos (que não sofrem difusão) são dominantes. A aproximação do modelo de *single scattering*, que assume que os fótons apenas experienciaram até um evento de *scattering* antes de chegarem ao detetor, pode ser aplicado;

- ***Single – to – multiple scattering***, um regime intermédio que surge quando o número de eventos de *scattering* se encontra entre 2 e 9. Neste regime, uma ordem de *scattering* é claramente definida e nenhuma aproximação pode ser feita;

- O regime de ***multiple scattering*** prevalece em meios túrbidos e não absorvedores e é definido quando o número de eventos de *scattering* é maior ou igual a 10. Neste regime, nenhuma ordem de *scattering* surge como dominante e a aproximação feita pela teoria da difusão pode ser aplicada.

Da mesma forma que a absorção é caracterizada pelo coeficiente de absorção μ_a , a difusão é descrita pelo coeficiente de *scattering*, μ_s . Este caracteriza o decaimento balístico dos fótons que se propagam em linha reta no interior de um meio (luz balística). As unidades do coeficiente são cm^{-1} e, pela Lei de Lambert, a perda de irradiância por ação da difusão é dada por (7):

$$I(z) = I_0 e^{(-\mu_s z)} \quad (7)$$

Analogamente à equação (4), z é o comprimento do caminho ótico, $I(z)$ a irradiância a uma dada distância “ z ”, I_0 a irradiância incidente inicial e μ_s é o coeficiente de *scattering*.

Como vimos, o parâmetro *scattering mean free path*, l_s , é o inverso do coeficiente de *scattering* e, desenvolvendo um raciocínio similar ao que foi efetuado para o fenómeno

da absorção, l_s é interpretado como sendo uma medida estatística que corresponde à distância média percorrida por um fóton entre dois eventos de *scattering*.

2.3.2.1 Tipos de Difusão no interior do tecido biológico

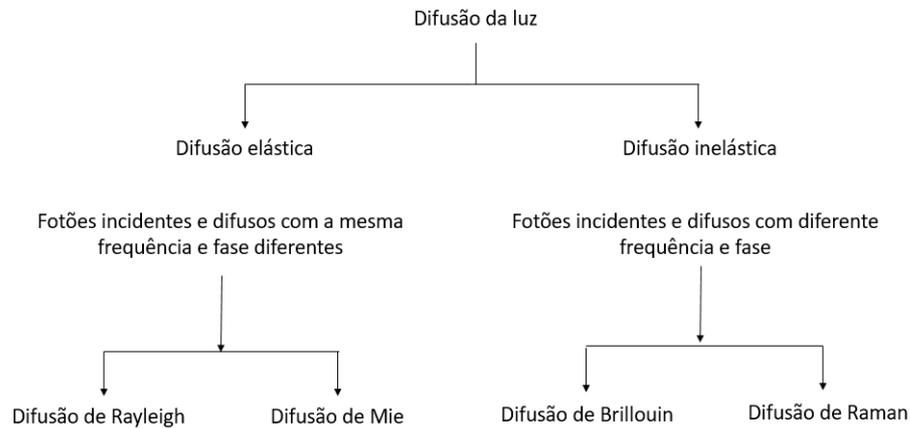


Figura 2.11: Esquema onde são apresentados os diferentes tipos de difusão. Adaptado de [57].

Ao observar o esquema da Figura 2.11, verifica-se que existem dois tipos de difusão fundamentais - elástica e inelástica. No tipo de difusão elástica, os fótons são refletidos, ou seja, ressaltam após o embate com átomos e moléculas, sem alterações de energia, com a mesma frequência e fase diferentes relativamente aos fótons incidentes. Na difusão inelástica ocorrem transferência de energia entre os fótons e as partículas, tendo como consequência fótons difusos com diferente comprimento de onda e fase.

Como a difusão inelástica é praticamente irrelevante nos tecidos biológicos [57], irei cingir-me apenas aos modelos que explicam o processo da difusão elástica no interior de meios túrbidos.

Modelo de Rayleigh – o modelo da difusão de Rayleigh aplica-se em casos em que as partículas são até 10 vezes menores que o comprimento de onda dos fótons incidentes. A difusão de Rayleigh pode ser considerada como sendo elástica, uma vez que a energia dos fótons sujeitos à difusão não sofre alterações e difunde os fótons de igual forma para ângulos $\theta = 0^\circ$ e 180° . Está inversamente relacionada com a quarta potência do comprimento de onda da radiação incidente, $I \propto 1/\lambda^4$ [57], e as leis de Rayleigh também preveem a variação da intensidade da luz difusa com a direção e a sua polarização. A título de curiosidade, este é também o modelo responsável pela explicação do facto do céu apresentar

2.3 INTERAÇÕES DA LUZ EM MEIOS BIOLÓGICOS TÚRBIDOS

uma tonalidade azul e é usado essencialmente para descrever a difusão em gases, nomeadamente na atmosfera.

Modelo de Mie – Este modelo descreve especialmente bem a difusão para partículas com dimensão superior ao comprimento de onda da luz incidente, sendo, no entanto, pouco dependente deste fator, λ^{-X} , com $0,4 < X < 0,5$ [57]. A difusão ocorre especialmente para a frente e, de uma forma sintética, este modelo resulta da solução formal das equações de Maxwell para esferas homogêneas. A solução de Mie para a problemática da difusão é válida para todos as possíveis razões entre diâmetros e comprimentos de onda, embora a técnica resulte numa soma numérica infinita. Na sua formulação original assume-se um material homogêneo, isotrópico e ópticamente linear irradiado por uma infinita onda plana.

Modelo de Henyey-Greenstein – Os modelos mencionados anteriormente, revelam-se incapazes de individualmente explicar o fenómeno de difusão em tecidos biológicos devido à complexidade dos mesmos [57]. Assim, após a análise de alguns resultados experimentais chegou-se à conclusão que o modelo de Henyey-Greenstein se apresenta como o melhor modelo para representar a difusão em tecidos biológicos [75],[76].

Este modelo explica a distribuição angular da luz difusa por partículas pequenas e é descrito pela seguinte função de densidade de probabilidade normalizada:

$$p(\theta) = \frac{1 - g^2}{4\pi(1 + g^2 - 2g\cos(\theta))^{3/2}} \quad (8)$$

O parâmetro g representa o coeficiente de anisotropia e caracteriza a distribuição normalizada, podendo ter valores entre -1 e 1. Estes valores representam o cosseno médio dos ângulos de difusão θ , sendo que quando $g=1$, $\theta=0^\circ$ e corresponde a difusão na direção e no sentido do raio incidente; caso $g=-1$, $\theta=180^\circ$ e corresponde a difusão na direção do raio incidente, mas no sentido oposto a este (para trás). Se g se aproxima de 0, tal corresponde a difusão isotrópica e, portanto, a probabilidade de difusão é igual para qualquer ângulo.

2.3.3 Ordens de magnitude no tecido biológico

Os tecidos biológicos são constituídos por inúmeros componentes com diferentes índices de refração. Por exemplo, a água apresenta um índice de refração de 1,33, os lípidos ~ 1,46 e as proteínas ~1,54, dependendo do tipo e forma da molécula, do comprimento de onda utilizado e também da fonte bibliográfica. Em função da percentagem destes materiais no tecido, o seu índice de refração poderá variar entre 1,36 e 1,55, [77].

"Janela Terapêutica" ou "Janela Óptica"

A absorção de luz em tecidos biológicos ocorre maioritariamente devido à presença de água, hemoglobina (HbO₂) e desoxi-hemoglobina (Hb). A figura 2.12 apresenta o espectro de absorção dos principais constituintes absorvedores da pele humana, onde se verifica que para comprimentos de onda entre 650 e 900 nm os coeficientes de absorção de HbO₂ e Hb são, no mínimo, uma ordem de magnitude maior que em qualquer outra substância, como lípidos, elastina ou água. Para comprimentos de onda ainda mais pequenos, na região do espectro visível (400-700 nm), a absorção de luz por HbO₂ pode inclusivamente ser até duas ordens de magnitude superior. Observa-se também que a água apresenta um comportamento absorvedor mais acentuado para comprimentos de onda acima de 1200 nm e a absorção por lípidos é significativamente menor que por HbO₂ na região do visível e NIR, sendo que a partir dos 1100 nm, quando a absorção de luz pelo sangue é dominado pela água e não pela hemoglobina, a absorção por lípidos aumenta e atinge um pico nos 1210 nm. Os coeficientes de absorção da melanina e elastina mantêm-se sensivelmente constantes entre os 900-1300 nm.

O gráfico da figura 2.12 permite então inferir que existe um intervalo de comprimentos de onda sensivelmente localizado entre os 650 e 950 nm (desde o visível ao *Near-InfraRed*, NIR, a região do espectro infravermelho mais próximo do vermelho visível que vai desde 0,75 – 2,5 μm), onde os valores do coeficiente de absorção da água e das moléculas orgânicas é mais baixo (inferior a 10⁻¹ cm⁻¹). Este intervalo de comprimentos de onda é denominada “Janela Terapêutica” ou “Janela Óptica”, onde o espectro de absorção varia com os estados de oxigenação-desoxigenação da hemoglobina e mioglobina [15] e a penetração de luz nos tecidos é maximizada. A “Janela Óptica” é convencionalmente utilizada na maioria dos estudos de imagiologia com radiação NIR e em aplicações associadas a terapias fotodinâmicas [78], [79].

2.3 INTERAÇÕES DA LUZ EM MEIOS BIOLÓGICOS TÚRBIDOS

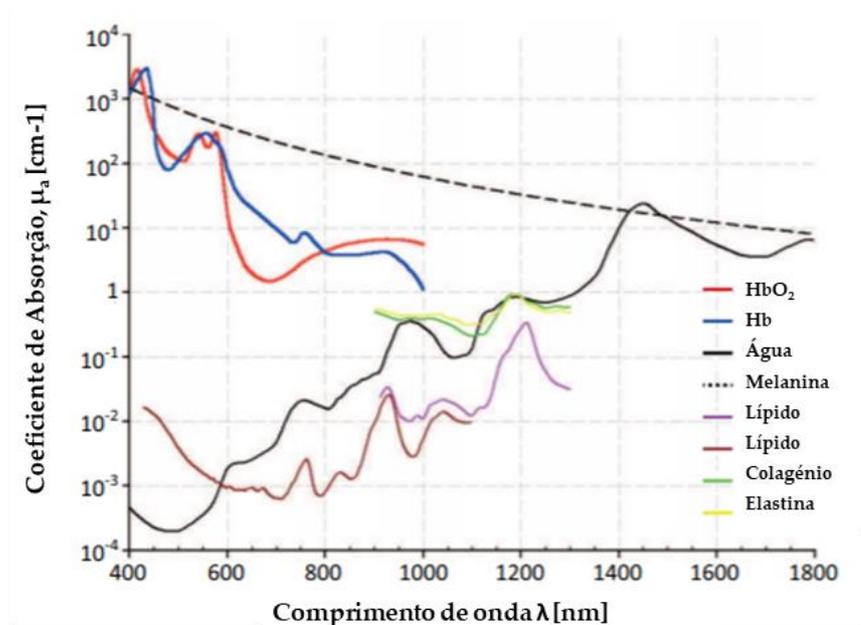


Figura 2.12: Espectro dos coeficientes de absorção dos principais constituintes absorvedores da pele. Janela óptica da pele devido a uma reduzida absorção de radiação infravermelha e NIR entre os 650-950 nm. Adaptado de [63].

Na "Janela Óptica", a luz pode propagar-se até alguns cm de profundidade no interior de meios biológicos sem ser absorvido. No entanto, a imagiologia a profundidades elevadas continua a ser um grande desafio derivado das propriedades de difusão destes meios. Na tabela 2.1, estão condensadas as principais propriedades ópticas dos tecidos biológicos na "Janela Óptica".

Tabela 2.1: Propriedades ópticas do tecido biológico humano para comprimentos de onda entre os 650-950 nm. Valores retirados de [16], [71], [80], [81]. Nota: Estes parâmetros podem variar consoante a fonte bibliográfica e o tipo de tecido considerado, no entanto as ordens de grandeza dos valores aproximados são as mencionadas.

n	Índice de Refração	$\sim 1,36 - 1,5$
μ_a	Coeficiente de absorção	$\sim 10^{-2} \text{ cm}^{-1} - 10 \text{ cm}^{-1}$
μ_s	Coeficiente de <i>scattering</i>	$\sim 50 \text{ cm}^{-1} - 200 \text{ cm}^{-1}$
g	Fator de Anisotropia	$\sim 0,9$
μ'_s	Coeficiente de <i>scattering</i> reduzido	$\sim 10 \text{ cm}^{-1}$

Os demais parâmetros suscetíveis de serem estudados, poderão ser obtidos a partir dos coeficientes da tabela 1 através das relações matemáticas introduzidas no Capítulo 2.3.

2.4 LASER

Um LASER é um instrumento cujo nome surge da abreviação em inglês de “*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*”, que significa Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação. É um aparelho que funciona através de emissão de fótons para estimular/excitar um átomo. Quando o elétron absorve essa energia, passa a ocupar um nível de energia superior. No processo de desexcitação, o elétron ao regressar ao estado fundamental, liberta um fóton da mesma energia desencadeando uma ação em cascata entre as partículas de luz, ou seja, consegue que todas essas partículas tenham o mesmo comportamento e se propaguem numa mesma direção. Existem vários tipos de LASER (sólidos, líquidos, químicos...), no entanto todos apresentam propriedades fundamentais comuns e normalmente são usados para produzir radiação monocromática e coerente na região do infravermelho, luz visível e ultravioleta. Neste subcapítulo irá fazer-se uma descrição dessas propriedades e dos efeitos da interação dos LASERs com os tecidos biológicos.

2.4.1 Propriedades do LASER

A radiação emitida pelos aparelhos LASER apresenta características muito peculiares e que as diferencia das outras fontes de luz, tais como (figura 2.13), [82]:

- **Monocromatismo:** Os feixes de luz emitidos apresentam uma faixa de comprimento de onda muito estreita (idealmente seria um único comprimento de onda bem definido), o que corresponde a uma cor específica. Um feixe laser ao incidir sobre um prisma, verifica-se que o prisma produz a mesma cor, enquanto que a luz branca ao incidir sobre o mesmo objeto, produz todo o espectro de cores;
- **Coerência:** Os feixes de luz são formados por ondas que estão em fase no espaço e no tempo. A coerência espacial é uma medida da correlação da fase da onda luminosa em diferentes pontos na direção transversal à direção de propagação. A coerência temporal significa que a frequência, o comprimento de onda e a velocidade de propagação são constantes;
- **Reduzida divergência (luz colimada):** Esta propriedade está relacionada com o grau de paralelismo dos raios do feixe. Idealmente, num feixe perfeitamente colimado e sem divergência, as trajetórias dos fótons seriam totalmente paralelas e não divergiriam com a distância. No entanto, um feixe totalmente colimado é impossível de criar existindo sempre uma pequena divergência devido ao fenómeno da difração, algo que acontece na maioria dos lasers que apresentam uma divergência inferior a 1 miliradiano e que se mantém praticamente igual independentemente da distância a que se propaga.

- Alta intensidade: a combinação da reduzida divergência, monocromatismo e coerência resulta numa luz laser com elevada luminosidade e permite que o feixe seja focado, proporcionando níveis de irradiância muito elevados.

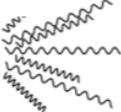
Luz LASER	Outras fontes de luz
Monocromática 	Policromática Luz branca 
Coerente 	Incoerente 
Colimada 	Divergente 

Figura 2.13: Propriedades da luz laser e comparação com outras fontes. Adaptado de [82].

2.4.2 Efeitos da Interação da radiação LASER com os tecidos

Para melhor compreender e apreciar os efeitos causados pela radiação laser aquando a sua interação com os tecidos biológicos, é necessário primeiramente definir os parâmetros característicos da radiação laser:

- Energia: Define-se como a capacidade em produzir trabalho. Exprime-se em joules (J);
- Potência: Se um feixe de luz com energia E , é emitida no intervalo de tempo t , a potência radiante média (também chamada de fluxo) é definida por $P=E/t$ e a sua unidade é o watt (W): $1W=1J/1s$.
- Irradiância (Densidade de potência): É a razão entre a potência útil do LASER (P) e a área coberta pelo feixe emitido (A), tal que:

$$I = \frac{P}{A} \quad (9)$$

As unidades são W/m^2 (ou W/cm^2).

- Fluência: Um feixe laser pode operar de forma descontínua, ou a potência incidente numa dada área variar no tempo. Define-se fluência como a energia total fornecida (E) ao tecido dividida pela área abrangida (A). É, em muitos casos, o parâmetro mais importante em aplicações relacionadas com medicina e as unidades são J/cm².

$$F = \frac{E}{A} \quad (10)$$

As equações (9) e (10), relacionam-se através da expressão:

$$F = I \times T_e \quad (11)$$

Em que T_e corresponde ao tempo de exposição de um tecido a uma fonte de luz com Irradiância, I.

As consequências da interação de um feixe laser com o tecido biológico podem ser avaliados pela irradiância, pelo tempo de interação e pelo coeficiente de absorção do tecido. A figura 2.14 caracteriza os mecanismos que predominam numa interação laser-tecido. O eixo dos YY representa a Irradiância em W/cm² e o eixo do XX, o tempo de exposição em segundos. Podemos verificar que os valores de fluência relevantes para aplicações laser médicas varia entre 1 J/cm² e 1000 J/cm², que correspondem às linhas diagonais a tracejado.

A relação recíproca entre a irradiância e o tempo de exposição, demonstra claramente que os valores de fluência necessários para qualquer tipo de interação é aproximadamente a mesma e situa-se entre as mesmas linhas já referidas, pelo que se conclui que o tempo de exposição se apresenta como o principal parâmetro responsável pela diversidade de mecanismos de interação. De acordo com o gráfico, a escala de tempo pode ser sensivelmente dividida em cinco regiões: tempos de exposição superiores a 1s para interações fotoquímicas, entre 1 μs e menos de um minuto para interações térmicas, entre 1 ns e 1 μs para fotoablação e menos que 1ns de exposição para ablação induzida por plasma e fotodisrupção. A diferença entre as duas últimas interações está relacionada com os diferentes valores de irradiância associados. Cada uma destas interações é seguidamente abordada em detalhe.

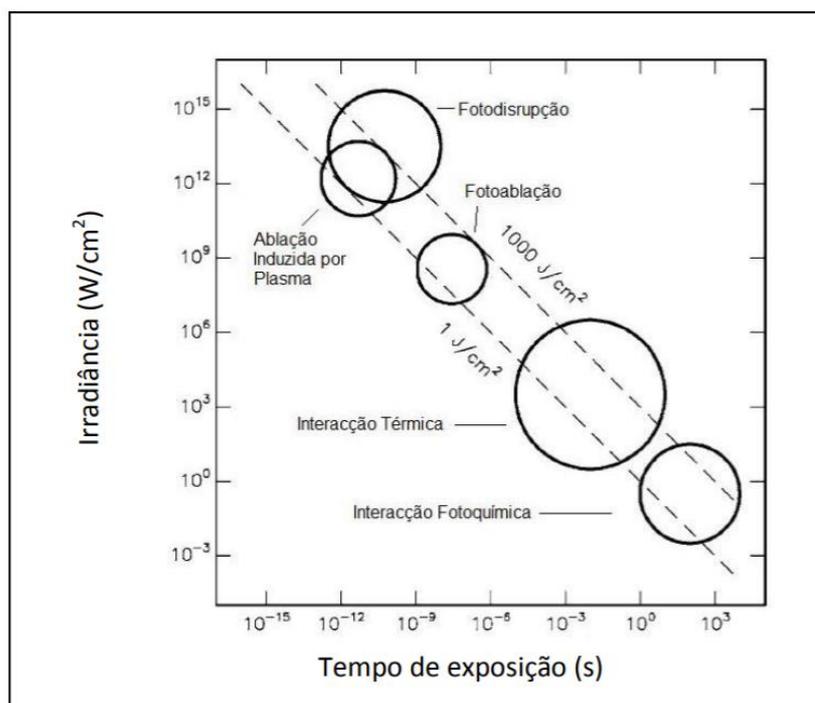


Figura 2.14: Tipos de interação laser-tecido. A partir do gráfico apresentado verifica-se que o tipo de interação da radiação laser depende da duração da interação e dos níveis de irradiância. Por exemplo, a interação fotoquímica predomina para valores de irradiância baixa e elevado tempo de exposição, enquanto que efeitos não lineares ocorrem para valores altos de irradiância num curto período de exposição. Adaptado de [83].

Interação fotoquímica - Este processo tem origem em observações empíricas que demonstram que a luz pode induzir efeitos químicos e reações no interior de macromoléculas ou tecidos. Um dos exemplos mais característicos é a fotossíntese ou a produção de melanina no corpo humano; no ramo da engenharia biomédica, o caso mais estudado deste mecanismo é o tratamento do cancro por terapia fotodinâmica [84], onde o composto HPD (“*hematoporphyrin derivative*”) é um dos muitos agentes fotossensíveis que podem ser incorporados em células malignas. Quando exposto a comprimentos de onda específicos, o composto HPD estimula a produção de singletos de oxigénio, os quais matam as células cancerígenas. Este tipo de interações ocorre em níveis de irradiância baixa (1 W/cm^2) e longos períodos de exposição (acima de 1 segundo).

Interação térmica – Os efeitos térmicos resultam da conversão de energia luminosa, absorvida pelos tecidos, em calor através de um conjunto de processos não radiativos como conversão interna ou relaxações vibracionais [57]. Estas interações são caracterizadas por um conjunto de reações locais que ocorrem quando a temperatura aumenta. Neste tipo de interações vários efeitos poderão ser observados, tais como a coagulação, vaporização,

carbonização e fusão, dependendo do comprimento de onda e do valor da irradiância, pelo que o diferente grau de aquecimento pode infringir danos seletivos e controlados nos tecidos, como por exemplo estimulação nervosa, desnaturação de proteínas, redução da atividade enzimática ou união de vasos sanguíneos [85]. Ocorre para um intervalo de irradiância entre $10\text{-}10^6\text{ W/cm}^2$ e durante um período de tempo entre $1\text{ }\mu\text{s} - 30\text{s}$.

Fotoablação – É o processo pelo qual os vários componentes intracelulares e extracelulares do tecido são fotoquimicamente decompostos por ação de lasers de excímeros que têm a capacidade de efetuar um corte "limpo" sobre os tecidos ao quebrar diretamente as ligações moleculares e evitando danos térmicos apreciáveis nas paredes laterais do corte. Tipicamente são utilizados intensos pulsos ultravioleta entre os $190\text{-}350\text{nm}$ (espectro ultravioleta) e cuja duração varia entre os $10\text{-}20\text{ ns}$, com uma irradiância entre os $10^7 - 10^{10}\text{ W/cm}^2$ [57].

Ablação induzida por plasma – Quando exposto a uma irradiância na ordem dos 10^{11} W/cm^2 , o tecido sofre o efeito do campo elétrico com intensidade próxima dos 10^7 V/cm (consideravelmente maior que a atração de Coulomb entre os elétrons e o núcleo), pelo que ocorre a rutura dielétrica (ou rutura óptica) do tecido, havendo ionização e formação de plasma no volume focal do feixe laser num curto espaço de tempo na ordem do picosegundos. Este plasma absorve radiação ultravioleta, infravermelha e visível e conduz à ablação do tecido irradiado [57].

Fotodisrupção – Este efeito ocorre tendencialmente em tecidos moles que estiveram sob o efeito de elevados níveis de irradiância e que deram origem à formação de plasma. Associado à rutura óptica no interior dos tecidos, é importante ter em consideração as ondas de choque geradas e a consequente ocorrência de cavitação caso o laser esteja focado no interior do tecido e não na sua superfície. Enquanto que a ablação induzida por plasma é confinada espacialmente à região da rutura óptica, o fenómeno da fotodisrupção envolve ondas de choque e bolhas de cavitação que se difundem para o tecido adjacente, destruindo a sua estrutura através de forças mecânicas. A diferença entre a ablação induzida por plasma e a fotodisrupção verifica-se ao nível da irradiância, sendo que para pulsos com a duração de nanosegundos, o efeito das ondas de choque domina sobre a ablação induzida por plasma [57]. Para pulsos mais curtos, na ordem dos 10^{-12} s , os efeitos causados pela ablação induzida por plasma e fotodisrupção são difíceis de distinguir.

2.5 Software utilizado para as simulações

Com o intuito de alcançar o objetivo da problemática em estudo, o projeto foi totalmente desenvolvido em ambiente computacional. Neste subcapítulo são apresentadas as funcionalidades e os princípios gerais de funcionamento do software utilizado para efetuar as simulações.

2.5.1 ZEMAX™

O ZEMAX™ é um software de design ótico bastante utilizado por engenheiros e cientistas para desenho de lentes, projeção de sistemas de iluminação, análise de propagação de feixes LASER ou ainda para simular sistema óticos em áreas tão diversas como sistemas visuais, satélites, espectrómetros e ainda, com interesse particular no ramo da engenharia biomédica, em tomografias computadorizadas e imagem de ressonância magnética.

Este programa permite reproduzir os efeitos de elementos óticos como lentes simples, esféricas ou espelhos, que integram o aparato experimental das técnicas de modelação de frente de onda já referidas. Funciona através de traçado de raios – modela a propagação de raios através de um sistema ótico – e dispõe de dois modos de funcionamento distintos, o modo sequencial e o modo não sequencial.

Modo sequencial

No modo sequencial, os raios são traçados através de uma sequência de superfícies lógica e pré-definida enquanto se propagam do objeto para a imagem, de superfície em superfície. Cada objeto é atingido apenas uma vez, pela ordem (sequência) em que as superfícies estão definidas. Este modo é rápido computacionalmente e francamente útil para o design e otimização de um sistema.

Modo não sequencial

O modo não sequencial proporciona uma alternativa que ultrapassa as restrições do traçado de raios no modo sequencial. Tal como o nome indica, neste modo, o traçado de raios não impõe uma ordem na sequência de superfícies que os raios têm de atingir. Os objetos atingidos pelos raios são determinados exclusivamente pelas suas propriedades físicas, pela sua posição e pela direção de propagação dos raios, sendo que os raios podem atingir qualquer parte do objeto, inclusivamente mais que uma vez, ou nunca serem atingidos. Enquanto que o modo sequencial está limitado à imagiologia e análise de sistemas afocais, o modo não sequencial é útil para analisar luz dispersa e difusa em qualquer sistema

de imagiologia ou ótico. O traçado de raios neste modo é executado de acordo com o método Monte Carlo.

- **Método Monte Carlo** – O modelo de Monte Carlo é um dos métodos estocásticos mais utilizados para simular o transporte de luz em meios túrbidos biológicos como a pele humana sendo também flexível e muito preciso [86],[87]. A modelação de Monte Carlo simula a história completa de um fotão, um caminho que consiste numa sucessão de passos aleatórios que os fotões tomam quando se propagam desde a sua fonte, passo por passo, através de um meio que contemple absorção, reflexão e difusão como a pele. Este método resulta num conjunto de condições que orienta o movimento de um fotão no tecido, sendo as decisões chave o *mean free path* de difusão ou absorção e o ângulo de difusão (permite inferir em que direção o fotão continua o seu movimento depois do evento de *scattering*), [88]. A distância aleatória percorrida antes de um fotão interagir com o tecido é baseada na seleção de um número aleatório gerado por um computador e em função das distribuições de probabilidade descrita pelas propriedades ópticas do meio como o seu índice de refração, o fator de anisotropia ou o coeficiente de atenuação, $\mu_a + \mu_s$, [89]. O peso atribuído ao fotão é reduzido apenas por efeito da absorção à medida que este se propaga, e sempre que ocorre um evento de *scattering* uma nova direção de propagação é escolhida de acordo com a função de fase. Todo este processo é repetido até o fotão sair do meio ou a sua energia for inferior à energia de absorção, o que significa que o fotão terá sido absorvido.

Sendo este um método estatístico, para que sejam produzidos resultados que reflitam uma aproximação precisa da realidade é necessário considerar um elevado número de fotões, o que, aliado a outras questões mais complexas, torna este método muito moroso [90].

2.5.2 MATLAB®

O MATLAB® (MATrix LABoratory) trata-se de um software interativo de alta performance utilizado para desenvolver o cálculo numérico, funcionando as matrizes como o seu elemento básico de informação. Estas matrizes têm a particularidade de não precisarem de dimensionamento, sendo essa a razão pela qual este programa permite a resolução de problemas numéricos de uma forma muito mais célere do que noutras linguagens de programação. O MATLAB® integra análise numérica, cálculo com matrizes, processamento de sinais e construção de gráficos em ambiente de fácil utilização.

Procedimento Experimental

Neste capítulo, o procedimento desenvolvido para a simulação das técnicas de modelação de frente de onda utilizadas é explicado detalhada e individualmente. Inicia com os *Axicons*, seguido pelo Método Iterativo e Método Não Iterativo. Os sistemas ópticos idealizados para este trabalho foram projetados usando o software ZEMAX™ e, de forma a interpretar os resultados dos dois últimos métodos, foi calculado um parâmetro para comparar a convergência dos diferentes algoritmos criados em MATLAB®, o “cérebro” de toda a operação. Depois de recolhidos os dados, estes serão apresentados sob a forma de gráficos de irradiância ou gráficos de pontos (para analisar a convergência dos algoritmos), sendo posteriormente analisados para comparação das diferentes técnicas. No caso dos *Axicons*, foi apenas simulado o seu comportamento em ambiente ZEMAX™ e analisado a sua capacidade de auto reconstrução dos feixes de luz.

As simulações foram realizadas num computador com as seguintes especificações:

- Processador Intel ® Core™ i5 3317U CPU @ 1.70 GHz;
- 4 Gb RAM;
- Sistema Operativo Windows 10 PRO

Foram projetados vários sistemas para cada uma das três abordagens diferentes estudadas que serão apresentadas seguidamente.

3.1 Axicons

A figura 3.1 apresenta um esquema típico de um *Axicon*. *Axicons*, também conhecidos como prismas cónicos, são elementos ópticos que têm simetria rotacional e possuem uma superfície plana e uma outra cónica [91]. Enquanto que lentes convencionais formam um ponto focal, os *Axicons* têm a capacidade de criar uma linha focal ao longo do eixo óptico que, à medida que se afasta a uma distância " l " do *Axicon*, se transforma num padrão em forma de anel. A espessura do anel corresponde a cerca de metade do diâmetro do feixe incidente, Φ , e o diâmetro do anel é representado na figura 3.1 por d e obtido matematicamente através da expressão $d = 2 * l * \tan [\alpha (n-1)]$, com n o índice de refração da lente. O surgimento deste padrão anelar resulta então do facto de um *Axicon* apresentar a particularidade de, a partir de um feixe Gaussiano, gerar um feixe de Bessel (também conhecido como “espigão de luz”) de ordem zero que tem como vantagens o facto de não se difratar e de se auto reconstruir no interior de meios túrbidos, mantendo uma distribuição de intensidade de feixe constante, o que permite a formação de um foco em profundidade. O comprimento do feixe de Bessel, R_0 , depende do ângulo físico (ângulo da superfície cónica com a vertical), α , do *Axicon* e do diâmetro do feixe incidente, Φ .

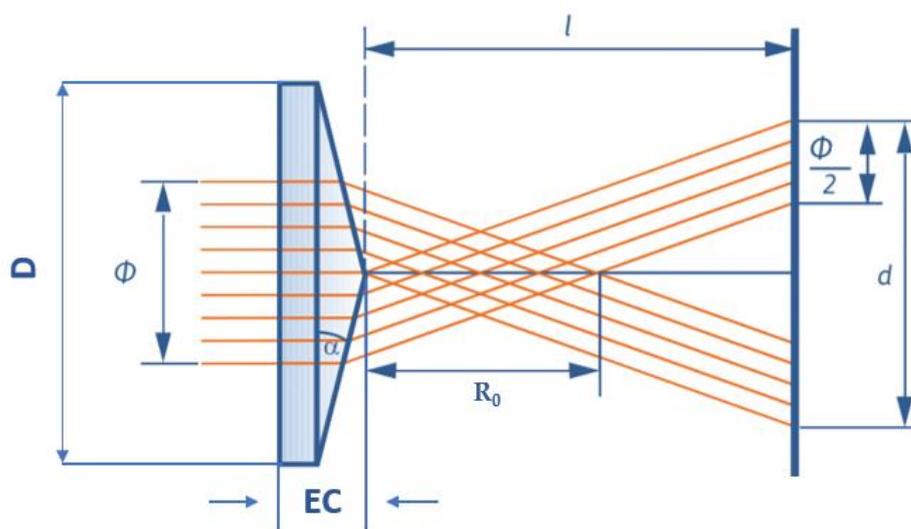


Figura 3.1: Representação esquemática de uma lente do tipo *Axicon*, de diâmetro D , com uma espessura central EC . Adaptado de [92].

3.1.1 Simulação *Axicons* Modo Sequencial e Não Sequencial

Com o objetivo de analisar o resultado da transformação de um feixe Gaussiano a incidir sobre uma lente do tipo *Axicon* (em modo sequencial e não sequencial), procedeu-se à realização de diversas simulações em ZEMAX™ onde são reproduzidas lentes *Axicon* com base em informações recolhidas no *datasheet* do site ThorLabs [93], associado à venda desta gama de produtos. O feixe Gaussiano utilizado apresenta um comprimento de onda de 850 nm (dentro do intervalo de comprimentos de onda facultada pelos fornecedores para o tipo de lentes implementadas), 1W de potência e 7 mm de diâmetro no modo não sequencial para que se observe claramente o feixe com propriedades auto reconstrutivas.

Primeiramente, e de acordo com os valores em graus do ângulo físico, α , recolhidos no site, a partir da equação (12) é calculado a constante cónica, k , para as diferentes lentes (tabela 3.1):

$$k = - \left(\frac{1}{\tan \alpha^2} + 1 \right) \quad (12)$$

Tabela 3.1: Valores calculados para a constante cónica de seis *Axicons* com diferentes ângulos físicos (representados na tabela pela letra Alpha (α)).

Nº <i>Axicon</i>	α (graus)	Constante cónica
1	0,5	-13131,5587
2	1	-3283,1397
3	2	-821,0350
4	5	-131,6460
5	10	-33,1634
6	20	-8,5486

Depois de calculados os valores para a constante cónica, cada um dos seis *Axicons* foi implementado no modo sequencial e não sequencial, com as respetivas dimensões de espessura e comprimento (ver tabela A.1 em Apêndice A), em ambiente ZEMAX™. São apresentadas respetivamente nas figuras 3.2, 3.3 e 3.4, um exemplo de um *Axicon* (com $\alpha = 20^\circ$) no modo sequencial, no modo não sequencial e ainda uma perspetiva 3D onde é possível observar o tipo de lente em estudo com uma aparência semelhante às que são comercializadas.

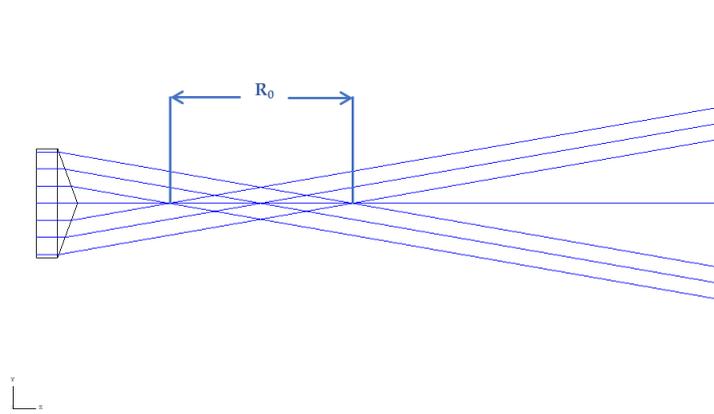


Figura 3.2: Implementação de uma lente *Axicon* com $\alpha = 20^\circ$, no modo sequencial, onde se observa a propriedade do “espigão de luz” de comprimento R_0 .

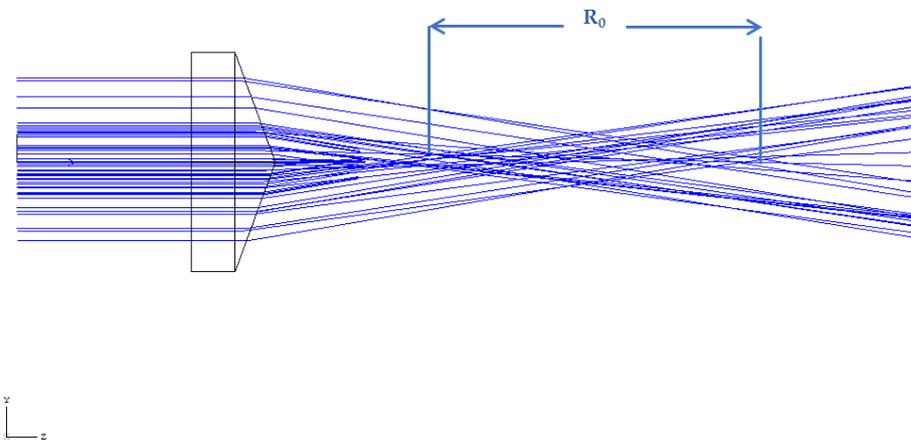


Figura 3.3: Implementação de uma lente *Axicon* com $\alpha = 20^\circ$, no modo não sequencial, onde se observa a propriedade do “espigão de luz” de comprimento R_0 .

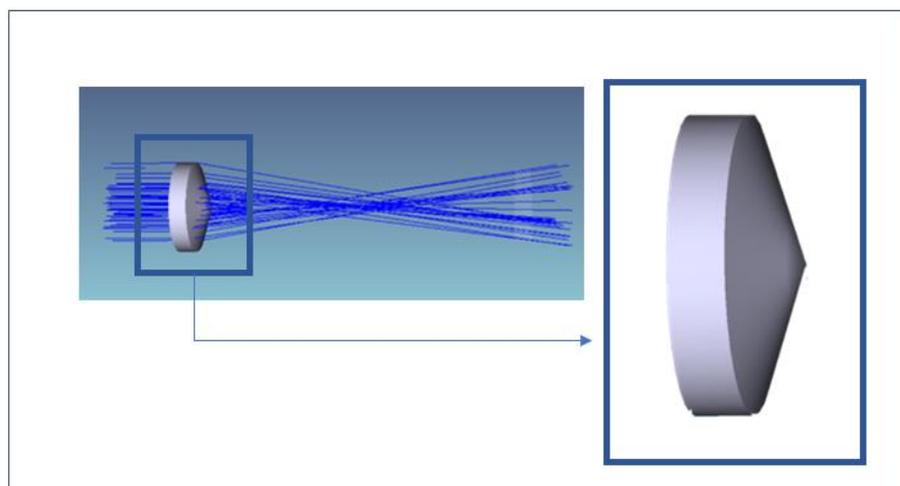


Figura 3.4: Reconstituição 3D de uma lente *Axicon*, com $\alpha = 20^\circ$ para percepção realista da mesma.

3.1.2 Comparação *Axicons* vs. lentes convencionais

Por forma a compreender e avaliar a importância da utilização de lentes do tipo *Axicon* quando comparadas com lentes convencionais na obtenção de imagem no interior de meios biológicos, desenvolveram-se novas simulações no programa ZEMAX™ no modo não sequencial que permite estudar o efeito da difusão.

Assim, recorreu-se a um total de 12 simulações: 6 utilizando lentes *Axicon* e outras 6 utilizando lentes convencionais, reproduzidas do catálogo da Thorlabs, com distâncias focais similares às seis lentes do tipo *Axicon* com valores de $\alpha = 20^\circ, 10^\circ, 5^\circ, 2^\circ, 1^\circ$ e $0,5^\circ$. Para análise, foram estudados pares de cada um dos tipos de lentes com a mesma distância focal de 50 mm, 100 mm, 200 mm, 500 mm, 1000 mm e 2000 mm (tabela 3.2). Importa referir que as especificações das lentes convencionais que foram atendidas aquando a sua escolha, foi a distância focal das lentes e ainda o facto de apresentarem dimensões próximas (nunca inferiores) das dimensões dos *Axicons*.

Tabela 3.2: Informação sobre a distância focal (em mm) das lentes convencionais e do tipo *Axicon* a serem projetadas em ZEMAX™. Cada uma das seis lentes convencionais será comparada com o *Axicon* que apresente a mesma distância focal. A distância focal dos *Axicons* corresponde à distância entre a lente e metade do comprimento do “espelho de luz”, cujo valor é igual no modo sequencial e não sequencial.

Nº Lente Convencional	<i>Axicon</i> (valores de α em graus)	Distância Focal (mm)
1	20	50
2	10	100
3	5	200
4	2	500
5	1	1000
6	0,5	2000

Com o intuito de simular o efeito de propagação da luz no interior de um meio turbido, foi criado um fantoma com características específicas muito próximas daquelas oferecidas por um meio biológico como a pele. Este fantoma consiste num objeto com 100 mm de altura, 100 mm de largura e 30 mm de espessura, com um fator de transmissão de 1, fator de anisotropia de 0,87 e *mean free path* de 0,05 mm. Os valores dos dois últimos parâmetros foram estabelecidos com base na tabela 2.1 apresentada em 2.3.3 e estão de acordo com a bibliografia [80], [94], [95].

CAPÍTULO 3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para comparar o desempenho dos diferentes pares de lentes em sistemas com as mesmas condições, o fantoma foi sempre colocado perto da distância focal da lente em estudo, contendo no seu interior um mesmo detetor quadrangular de 24mm x 24mm com uma resolução de 1000pixéis x 1000pixéis, situado próximo do foco ótico a 10 mm de profundidade.

Como exemplo, as figuras 3.5 e 3.6 representam as simulações de um *Axicon* e de uma lente convencional com uma distância focal de 50 mm, onde se fez incidir um feixe de 750 nm com 7 mm de diâmetro e 1 W de potência.

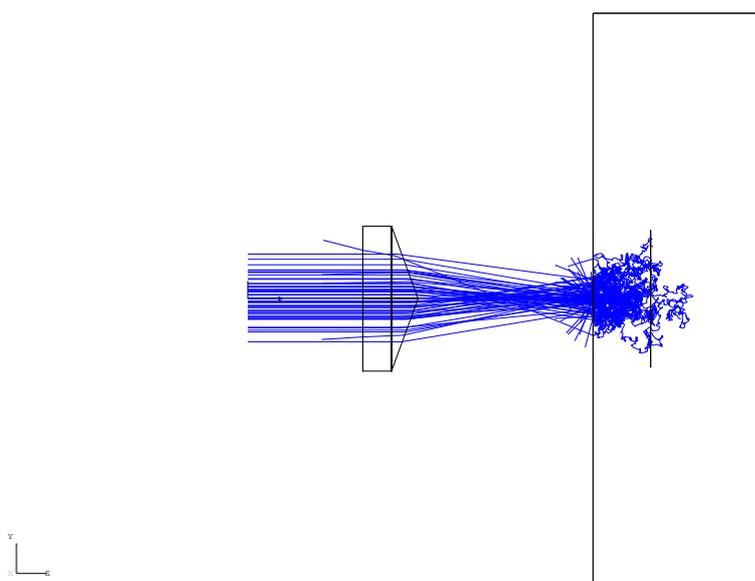


Figura 3.5: Simulação do comportamento de um *Axicon* para focagem de luz em meios túrbidos com uma distância focal de 50 mm.

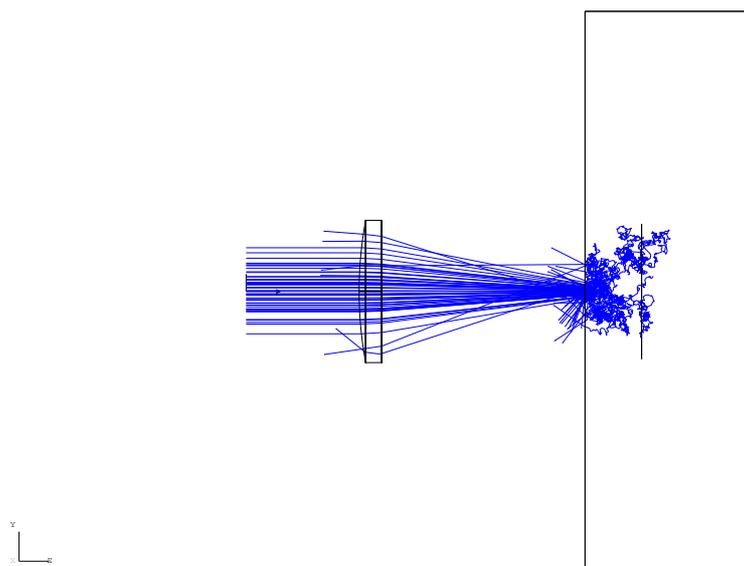


Figura 3.6: Simulação do comportamento de uma Lente convencional para focagem de luz em meios túrbidos com uma distância focal de 50 mm.

3.2 Método Iterativo e Método Não Iterativo

Cada um dos métodos tem como objetivo primordial a focagem de luz em profundidades superiores no interior dos meios túrbidos, sendo para isso necessário recorrer à manipulação da propagação de luz por forma a suprimir os efeitos da difusão causados pelo meio túrbido em estudo. Neste subcapítulo é detalhadamente explicado o raciocínio por detrás das simulações e algoritmos especificamente desenvolvidos para os dois métodos considerados. Começo por introduzir os conceitos comuns às duas técnicas, evoluindo logicamente para a exposição das características particulares das mesmas.

3.2.1 Caracterização dos componentes em ZEMAX™

Nesta secção, são descritos os componentes ópticos comuns utilizados nos sistemas desenvolvidos.

- **Fonte de luz**

No método iterativo foi utilizada uma fonte gaussiana monocromática de 750 nm enquanto que no método não iterativo foi utilizada uma de 808 nm, ambas com um diâmetro de 2 mm. A razão da utilização de feixes de luz com estes comprimentos de onda está relacionada como o facto de estarem compreendidos no intervalo de comprimentos de onda da "Janela Óptica" dos tecidos biológicos.

Para efeitos de simulação e análise estatística é também necessário estabelecer o número de raios emitidos pela fonte de luz, tendo havido um compromisso entre as limitações do *hardware* utilizado e o número de raios mínimo necessário para obter resultados fiáveis pelo método estatístico de Monte Carlo (capítulo 2.5.1). Neste caso, foi definido para a fonte de luz o valor de 100 000 raios (quanto maior o número de raios, maior a aproximação ao perfil de um feixe gaussiano) e ainda uma potência de 1W.

- **Lente convergente**

Tanto no método iterativo como no método não iterativo foram utilizadas lentes convergentes que têm a capacidade de refratar raios paralelos que sobre elas incidem de forma a convergi-los num ponto focal, onde se concentra qualquer raio do feixe incidente. A posição e a distância focal destas lentes variam em função da simulação, sendo que em todos os sistemas os raios focam no fantoma desenvolvido (pele).

- **Fantoma de pele**

O ZEMAX™ dispõe de um extenso catálogo de vários materiais já definidos. No entanto, este catálogo não inclui qualquer meio cujas características se aproximem dos tecidos biológicos, em particular da pele, pelo que foi necessário desenvolver uma estrutura que simulasse as características biológicas deste material. Para tal, foi criado um fantoma que funciona como um meio que possui propriedades ópticas similares às da pele, apresentando as seguintes dimensões: 100 mm de altura, 100 mm de largura e 30 mm de espessura.

Fórmula do índice de refração

A decisão associada à escolha da Fórmula de Conrady para analisar a variação do índice de refração na pele para um intervalo de comprimentos de onda compreendido entre 300 nm e 1600 nm está relacionada com um estudo desenvolvido em que os parâmetros de Conrady para a pele foram calculados [96].

A fórmula de Conrady define-se pela seguinte expressão matemática:

$$n = A + \frac{B}{\lambda} + \frac{C}{\lambda^{3.5}} \quad (13)$$

Em que A, B e C são coeficientes da fórmula específicos para cada material e n é o índice de refração do material para um determinado comprimento de onda, λ . Os valores destes coeficientes são apresentados na tabela 3.3:

Tabela 3.3: Coeficientes da fórmula de Conrady para a pele humana.

A	B	C
1,3549	$1,7899 \times 10$	$- 3,5938 \times 10^6$

De acordo com [96], os coeficientes foram obtidos a partir da equação (13) para comprimentos de onda na unidade de nanómetros (nm).

3.2 MÉTODO ITERATIVO E MÉTODO NÃO ITERATIVO

Com estes coeficientes e utilizando a equação (13), é possível observar a variação do índice de refração da pele em função do comprimento de onda (em nm) através da curva apresentada na figura 3.7, comprovando-se que para comprimentos de onda cada vez maiores o índice de refração diminui e parece tender para um patamar a que corresponde um valor mínimo de n igual a 1,36.

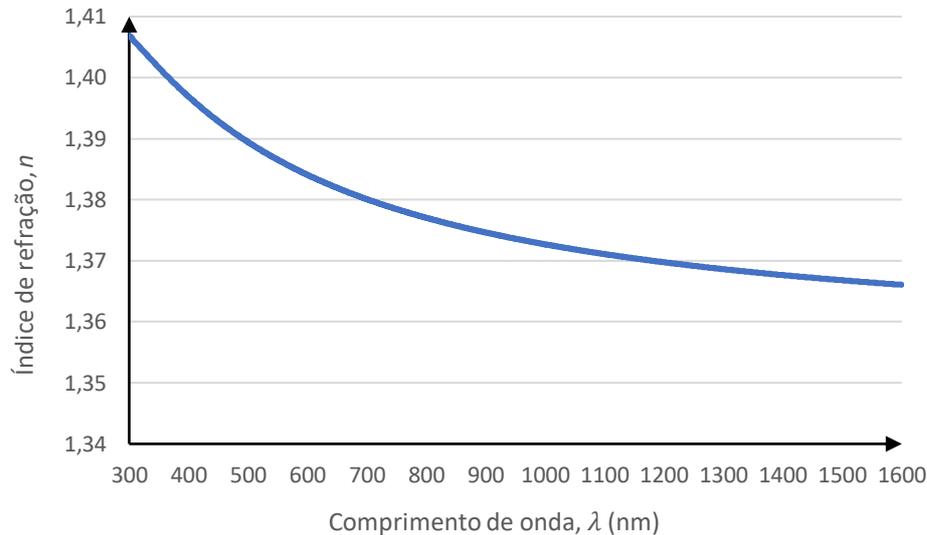


Figura 3.7: Variação do índice de refração da pele para um intervalo de comprimentos de onda entre 300-1600 nm.

Modelo da Difusão

Neste trabalho foi utilizado o modelo de difusão de Henyey-Greenstein (subcapítulo 2.3.2.1), uma vez que é considerado o modelo que obtém resultados mais condizentes com os observados em estudos para tecidos biológicos e nomeadamente aquele que apresenta uma melhor aproximação da função de fase no modelo para a difusão de luz na pele humana [76].

Para caracterizar o processo de difusão em ambiente ZEMAX™, para além do parâmetro g , é necessário considerar:

- O *scattering mean free path*, l_s , que é obtido pelo inverso do coeficiente de *scattering*;
- O ângulo máximo de difusão (α), que pode assumir valores entre $-\alpha$ e α , [97].
- O fator de transmissão, que permite definir a quantidade de energia despendida em cada processo de difusão e que pode variar entre 0 e 1; em que 0 significa a perda total de energia, e 1 é o equivalente a que toda a energia seja conservada no processo, pelo que não ocorrem perdas de energia, [97].

Na tabela 3.4 encontram-se os valores utilizados para os parâmetros que caracterizam o processo de difusão e que foram aplicados ao fantoma de pele.

Tabela 3.4: Tabela resumo dos valores dos parâmetros de difusão utilizados no fantoma de pele.

Mean free path (mm)	α (graus)	g	Transmissão
0,05	90	0,87	1

Tal como havia sido justificado na secção 3.1.2, os valores definidos para o *mean free path* e g , basearam-se na tabela 2.1 apresentada em 2.3.3. O fator de anisotropia foi estimado para um valor próximo de 0,9 e a constante *mean free path* foi definido de acordo com a bibliografia estudada, correspondendo aproximadamente ao inverso do coeficiente de *scattering* para o comprimento de onda utilizado [80], [94], [95], [98]. Admitindo que a difusão na pele ocorre maioritariamente na mesma direção e sentido do raio incidente, foi limitado o ângulo máximo de difusão, α , a 90°. Foi ainda considerado não haver atenuação de energia no processo de difusão para a distância e comprimento de onda considerados, pelo que o parâmetro de transmissão foi definido com valor igual a 1.

- **Detetor**

Em qualquer um dos métodos, com o intuito de possibilitar a análise dos resultados de irradiância no interior do fantoma, foram inseridos detetores quadrados no seu interior com as seguintes propriedades: no método iterativo foi introduzido um detetor com 24 mm de lado e 50pixéis x 50pixéis (0,48 mm/píxel); no método não iterativo utilizaram-se dois detetores com um número de pixéis variável, ambos com 10 mm de lado. O primeiro foi colocado no interior do fantoma (**detetor 1**) e o segundo (**detetor 2**) foi utilizado para recolher informação sobre a coerência da fase da fonte da luz proveniente do interior do meio túrbido (tal será oportunamente explicado no subcapítulo 3.2.3.2), apresentando por isso a particularidade de ter o mesmo número de pixéis que a Grid Sag definida pelo utilizador.

O *software* ZEMAX™ garante a possibilidade de escolher qual a informação a retirar do detetor, sendo que, em ambos os métodos, foi apreciada a informação referente à irradiância coerente e coerência de fase. A primeira é definida como sendo potência coerente por unidade de área. Nesta análise, o ZEMAX™ considera a fase e intensidade de cada raio que chega ao detetor, onde são processadas as partes real e imaginária do campo elétrico, separadamente e considerando a fase de cada raio. No fim do procedimento, a informação proveniente dos raios é somada para se obter a irradiância total de cada píxel. Na coerência

de fase, é feita uma análise que permite obter informações relativamente ao ângulo de fase da amplitude complexa dos raios na irradiância coerente.

Importa referir que no caso do método iterativo, foi objeto de análise o comportamento do algoritmo em diferentes profundidades, nomeadamente a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, posições essas onde o detetor foi colocado. No método não iterativo, foi apenas estudado o mesmo efeito a 5 mm de profundidade, pelo que foi também essa a posição do detetor no interior do fantoma da pele.

- **Grid Sag**

Para o desenvolvimento do projeto, e no caso em particular no que diz respeito à implementação do sistema, é crucial a existência de um componente que seja dotado com a capacidade de modelar um feixe luminoso. Este tipo de objetos que garantem alguma forma de modulação espacial variável a um feixe de luz são conhecidos como Spatial Light Modulator (SLM), tendo sido possível reproduzir o mesmo efeito em ambiente ZEMAX™ através da utilização de uma Grid Sag Surface. Esta estrutura funciona como uma matriz de múltiplos “espelhos” (ou pixéis) de pequenas dimensões cujas posições relativas são orientadas de acordo com uma matriz de pontos gravada num ficheiro do tipo ASCII. **Deste ponto em diante, considere-se os conceitos de “espelhos” e “pixéis” da Grid Sag como nomenclatura equivalente.**

A relação entre a posição dos espelhos, *sag*, e a alteração na fase do feixe, φ , é dada por:

$$sag = \frac{\lambda \times \varphi}{2\pi} \quad (14)$$

Em que (a matriz) *sag* é a posição, em mm, do espelho em relação à posição de equilíbrio, φ corresponde à alteração de fase (matriz de fase) em radianos e λ representa o comprimento de onda, em mm, da radiação incidente. Nos sistemas concebidos, a alteração de configuração da Grid Sag é efetuada a cada iteração, de forma consecutiva e automaticamente, ao longo da execução dos diferentes algoritmos desenvolvidos que serão explicados no subcapítulo 3.2.3.

Tanto no método iterativo como no método não iterativo, esta estrutura apresenta uma dimensão que poderá ser variável, uma vez que os algoritmos criados garantem que o utilizador tem a possibilidade de, sempre que considerar pertinente, definir o número de espelhos (ou pixéis), *N*, bem como o tamanho dos mesmos. No caso particular dos sistemas criados para o método iterativo, a Grid Sag, por defeito, apresenta uma dimensão quadrada

de 10 mm, com 50 pixels x 50 pixels de 0,2 mm cada. Adicionalmente, para testar o comportamento dos algoritmos, em algumas simulações foram utilizadas matrizes de 250 pixels x 250 pixels de 0,04 mm cada. Para o método não iterativo, foram analisados resultados obtidos em sistemas com uma Grid Sag de 10mm x 10mm utilizando matrizes com um número de pixels entre 200-300.

Para atingir o objetivo deste trabalho foi necessário desenvolver diferentes algoritmos que conseguissem encontrar a melhor conformação possível da Grid Sag por forma a promover a concentração do feixe de luz no interior do fantoma de pele criado. Para isso, recorreu-se à linguagem MATLAB® derivado o facto de apresentar uma *toolbox* gratuita que consiste num conjunto de funções na mesma linguagem, a partir das quais é possível controlar externamente (em ambiente MATLAB®) a maioria dos comandos e funções existentes no ZEMAX™.

3.2.2 Parâmetro de comparação utilizado na evolução do algoritmo

Antes de esclarecer o funcionamento dos diferentes algoritmos criados, neste subcapítulo é explicado o parâmetro de comparação utilizado na evolução de todos os algoritmos, nomeadamente o cálculo do raio ponderado do feixe.

- **Raio ponderado**

A utilização deste parâmetro de comparação no presente estudo está relacionada com a pertinência em considerar a importância relativa de cada pixel do detetor no cálculo do raio do feixe. Esta importância foi obtida através do valor de irradiância que cada pixel possui.

Para compreender se um determinado algoritmo está a evoluir no sentido de focar o feixe de luz difuso pelo meio, quando se efetua o cálculo do raio ponderado do feixe, cada pixel deverá ter uma contribuição em função da sua distância ao centroide do detetor e da sua própria intensidade. Por outras palavras, um pixel que apresente um valor de irradiância “I” a uma distância “d” do centroide do detetor, não deverá ter a mesma contribuição que um outro pixel de intensidade “I/2” a uma mesma distância “d” do centroide do detetor.

Assim, este parâmetro é calculado a partir da informação que é recolhida pelo detetor e armazenada em forma de matriz cujas entradas correspondem a valores de irradiância. Primeiramente, obtém-se as coordenadas do centroide do detetor e o valor máximo de irradiância da matriz. De seguida, é feito um varrimento de todos os pixels do detetor e, por cada pixel de irradiância, é calculado o seu peso relativo em relação ao valor máximo de irradiância e ainda a sua distância ao centroide do detetor. Assim, são obtidas duas matrizes:

3.2 MÉTODO ITERATIVO E MÉTODO NÃO ITERATIVO

uma matriz com a irradiância normalizada de todos os pixels e outra com a distância de cada pixel ao centroide. A distância ponderada de cada pixel é então o resultado do produto entre a distância ao centroide e o seu valor de irradiância normalizado. Por fim, para calcular a média da matriz das distâncias ponderadas é excluída a contribuição dos pixels com irradiância igual a 0 (distância ponderada nula), e este resultado corresponde ao raio ponderado pretendido. A figura 3.8 representa o procedimento de cálculo do raio ponderado.

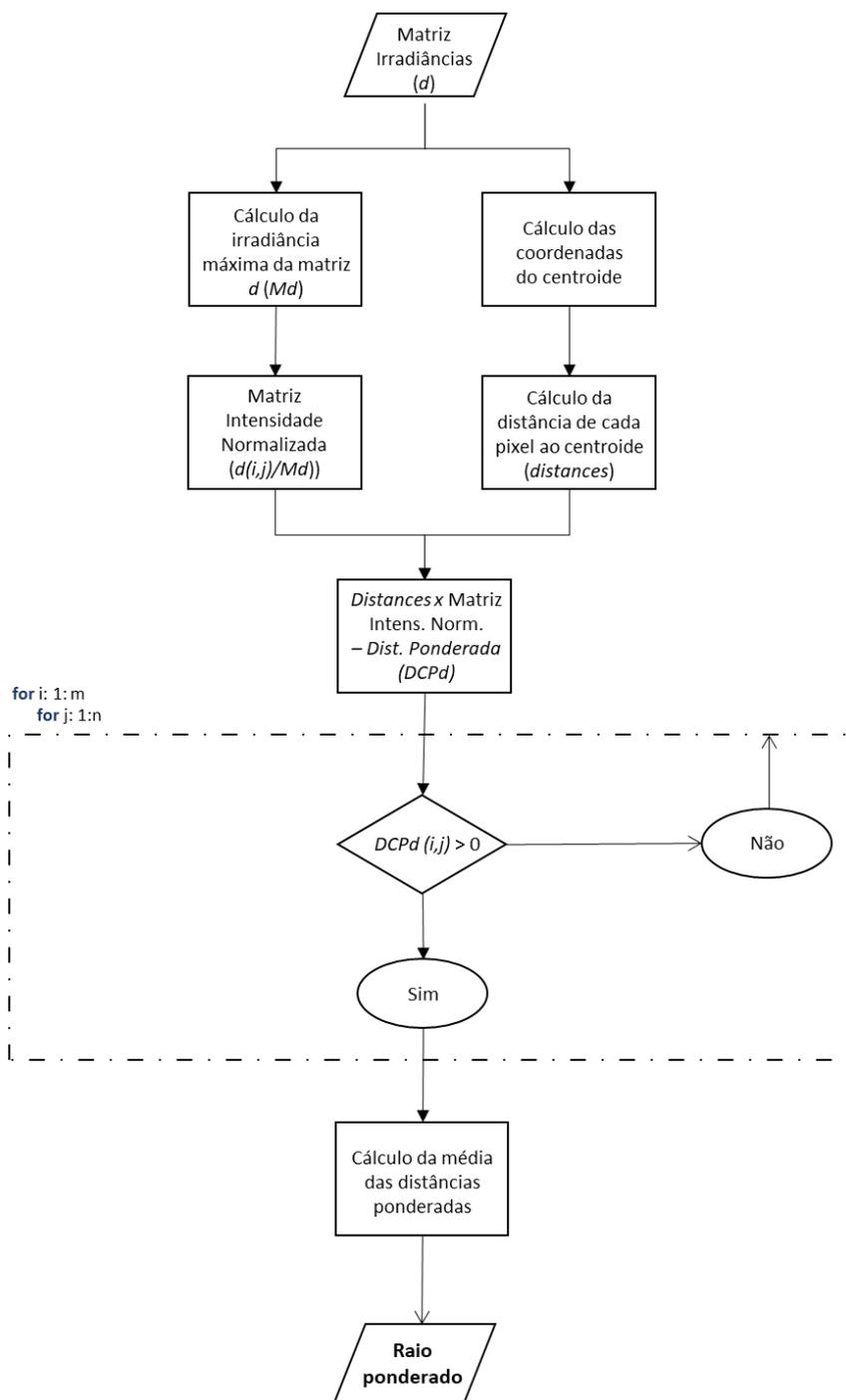


Figura 3.8: Esquema do procedimento do cálculo do raio ponderado.

3.2.3 Funcionamento dos Algoritmos

No total, foram desenvolvidos para este trabalho quatro algoritmos em que se utilizaram diferentes abordagens para a configuração da Grid Sag: duas para o método iterativo e outras duas para o método não iterativo. Os princípios gerais de funcionamento destes algoritmos foram adaptados de [32] e [18], respetivamente, pese embora a sua descrição ser feita de uma forma muito superficial. Como tal, foi imperativo o desenvolvimento destes algoritmos de origem para as simulações em estudo.

A programação dos algoritmos foi criada em MATLAB®, onde foram exploradas as capacidades das funções que fazem parte da já referida *toolbox* de forma a controlar integralmente o funcionamento da simulação em ambiente ZEMAX™. Como tal, todo o procedimento em seguida descrito é feito autonomamente, ficando ao critério do utilizador definir parâmetros de entrada como o número de raios ou as dimensões dos componentes dos sistemas.

A primeira etapa de qualquer um destes algoritmos tem início com a emissão de uma fonte de luz estando a Grid Sag na posição neutra (equivalente a um espelho plano, sem potencial), ou seja, o mesmo que um espelho comum. Começa-se por calcular o raio ponderado deste feixe no detetor (**detetor 1**) a uma determinada profundidade no interior do fantoma, ignorando o efeito de difusão. A seguir, considerando os efeitos da difusão, a fonte de luz é outra vez emitida e o raio ponderado novamente calculado (“raio ponderado inicial”) ainda com a configuração da Grid Sag neutra, ou seja, a sua matriz *sag* não foi modificada (é um conjunto de zeros). O valor do “raio ponderado inicial” funcionará como a referência do algoritmo, ao servir de termo de comparação relativamente ao menor raio ponderado calculado, obtido através da melhor matriz de fase que o algoritmo produziu para a Grid Sag.

Posteriormente, em cada algoritmo, será feita a configuração da Grid Sag de acordo com diferentes abordagens que serão exploradas nas secções seguintes.

Nota: Os conceitos de Grid Sag, matriz Sag e matriz de fase estão mutuamente relacionados pela equação (14) e, por uma questão de simplificação de linguagem, podem assumir-se equivalentes sempre que forem referidos ao longo desta tese.

3.2.3.1 Configuração da Grid Sag no método iterativo

Depois de calculado o “raio ponderado inicial”, começa o ciclo de configuração da Grid Sag. Deste modo, a cada iteração, ocorre a emissão de um feixe de luz de 750 nm e altera-se a posição de cada “espelho” da Grid Sag equivalente a uma alteração de fase entre 0 e 2π . Para isso, são geradas matrizes de fase de acordo com as características definidas pelo utilizador para a matriz Sag, através de duas diferentes abordagens:

Abordagem 1: consiste em gerar aleatoriamente uma matriz de fase com valores compreendidos entre 0 e 2π em cada iteração;

Abordagem 2: a segunda abordagem apresenta-se como uma evolução lógica da primeira, em que, a cada iteração, são criadas matrizes de fase com vários “clusters” (cujo tamanho e número é definido pelo utilizador), com cada “cluster” a ser constituído por um conjunto de pixéis (espelhos) contendo apenas um valor aleatório entre 0 e 2π .

A cada iteração é feita uma análise ao resultado obtido no detetor com base no cálculo do raio ponderado do feixe. Sempre que este parâmetro for inferior ao anterior melhor registado, fica como referência para as comparações seguintes e a configuração da Grid Sag, constituída pela matriz *sag* obtida através da equação (14), que possibilitou esse resultado é guardada. Este processo é repetido até ter sido atingido o número máximo de iterações definido pelo utilizador.

Finalmente, a eficácia de cada algoritmo será avaliada em função do grau de convergência do feixe, bem como o seu tempo de execução. O esquema de funcionamento do algoritmo é apresentado no esquema da figura 3.9.

Importa referir que a matriz Sag com que se principia o sistema é, por defeito, uma matriz de zeros, funcionando a Sag como um espelho neutro. Inicialmente, essa é a “*bestgridsag*” e o valor do raio ponderado inicial calculado corresponde ao primeiro “*raio_melhor*”, iniciando assim o vetor “*raio_melhor(h)*” onde ficam guardados os raios ponderados sempre que se regista uma melhoria ao fim de uma iteração, isto é, uma diminuição do valor do raio ponderado em relação à iteração anterior. O vetor “*raio_melhor(h)*” terá capital importância para avaliar a convergência do algoritmo após a sua execução e será objeto de análise no capítulo 4 sob a forma de gráfico de linhas para cada teste efetuado. O algoritmo termina quando o contador de iterações, “*h*”, for igual ao número de iterações, “*iter*”, definido pelo utilizador.

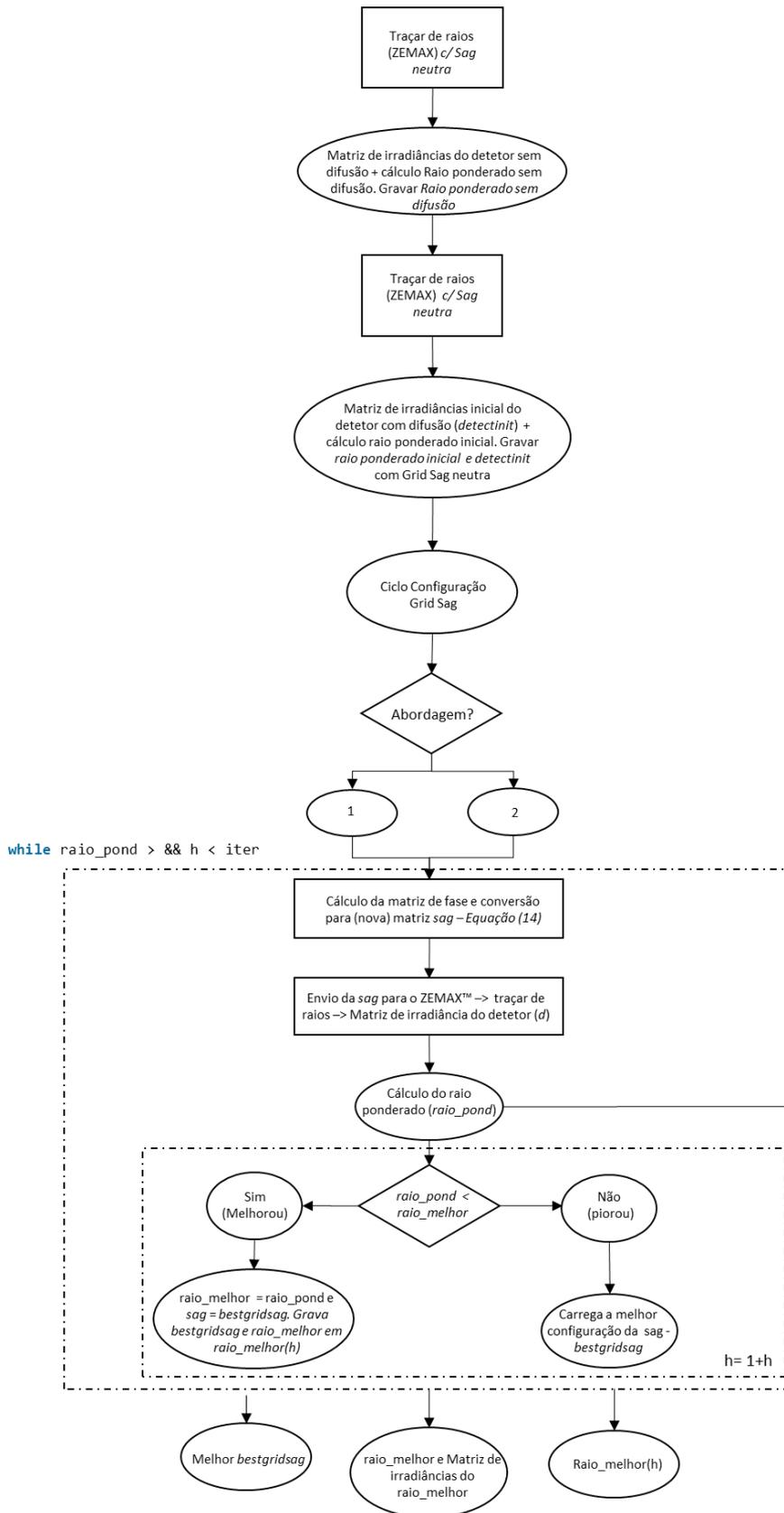


Figura 3.9: Esquema do algoritmo de controlo da Grid Sag para o Método iterativo.

3.2.3.2 Configuração da Grid Sag no método não iterativo

Analogamente ao método iterativo, depois de calculado o “raio ponderado inicial” utilizando, neste caso, um feixe de 808 nm, começa o processo que culmina com a alteração da configuração da Grid Sag que deixa de comportar-se como um espelho neutro.

Para este método, a configuração da Grid Sag foi modificada com base na bibliografia estudada [18]. Para isso, utilizou-se uma fonte de 400 nm (mais energética, dentro do espectro visível) que emite um feixe de luz a partir do interior do fantoma de pele a 5 mm de profundidade. Este feixe, sofre o efeito da difusão à medida que se propaga pelo meio e segue o seu percurso ótico, depois de refletido por um *beam splitter* (componente especialmente desenvolvido para este trabalho e com propriedades específicas para refletir e/ou transmitir os comprimentos de onda utilizados), em direção a um detetor (**detetor 2**). Neste detetor, é recolhida informação referente à sua coerência de fase sob a forma de uma matriz (de fase) que por sua vez é modificada de acordo com duas diferentes abordagens e numa só iteração:

Abordagem 1: consiste em aplicar o conceito de conjugação de fase. No geral, um par de ondas óticas é conjugado em fase se as suas funções complexas são conjugadas em relação aos seus fatores de fase. Assim, de acordo com a bibliografia [44], aplica-se a propriedade de simetria à matriz de fase obtida pelo **detetor 2** que, depois de convertida para a matriz *sag* (equação (14)), será introduzida na Grid Sag. Deste modo, a influência das aberrações causadas pelo meio túrbido é suprimido através da conjugação de fase das frentes de onda (capítulo 1.2.3), pelo que, a configuração adotada pela Grid Sag irá dotar o feixe de 808 nm que sobre ele incide com a capacidade de se adaptar ao meio túrbido (feixe modelado), esperando-se obter um valor de raio ponderado menor comparativamente com a Grid Sag neutra.

Abordagem 2: foi adaptada de um estudo [18] e consiste em, a partir da matriz de fase obtida pelo **detetor 2**, criar um determinado número de “clusters”, e de forma alternada (do tipo “cluster sim”, “cluster não”), manter a fase dos pixéis que compõe o “cluster” ou somar o valor de π à sua fase. Assim, espera-se que o feixe de 808 nm que incide sobre a Grid Sag modificada, seja modelado de forma a obter-se um raio ponderado menor quando comparado com a Grid Sag neutra. O tamanho e número dos “clusters” pode também ser definido pelo utilizador.

A eficácia de cada algoritmo será avaliada em função do grau de convergência do feixe. O esquema de funcionamento do algoritmo é apresentado no esquema da figura 3.10.

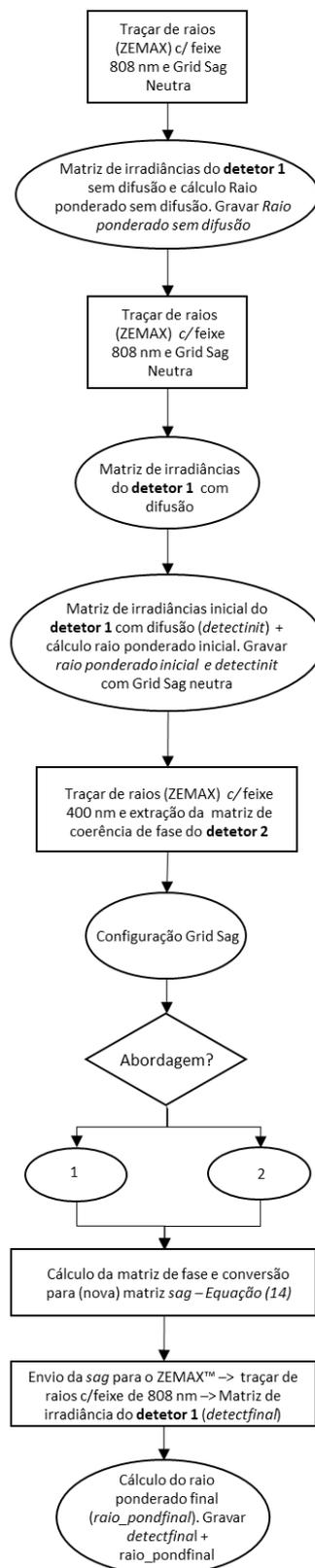


Figura 3.10: Esquema do algoritmo de controlo da Grid Sag para o Método não Iterativo.

3.2.4 Sistemas desenvolvidos

Neste subcapítulo são apresentadas as características específicas de cada um dos sistemas criados para as simulações desenvolvidas.

3.2.4.1 Método iterativo

O sistema representado nas figuras 3.11 (considerando a difusão) e 3.12 (sem considerar a difusão), consiste num feixe LASER idêntico ao definido em 3.2.1., focado no fantoma de pele, com 30 mm de espessura, usando para esse efeito uma lente convergente. Por defeito, a Grid Sag e o detetor apresentam a configuração definida em 3.2.1, sendo que o algoritmo criado permite ao utilizador modificar estes parâmetros. De notar que nos sistemas apresentados não é possível observar o feixe modelado por limitações do *software* e também porque a Grid Sag está, inclusivamente, na posição neutra (espelho refletor plano).

Nas figuras 3.11 e 3.12, o detetor encontra-se a 10 mm de profundidade, no entanto foi também analisado o comportamento dos algoritmos a 5 e a 15 mm de profundidade.

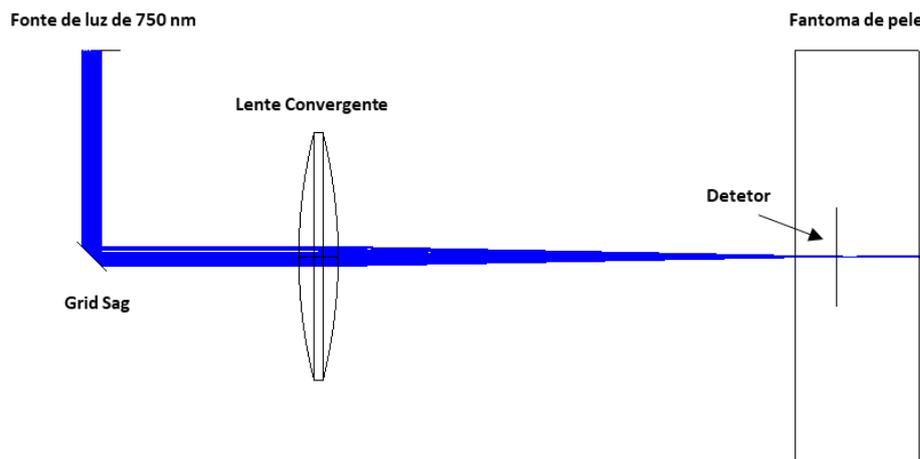


Figura 3.11: Sistema para o método iterativo sem considerar o efeito da difusão.

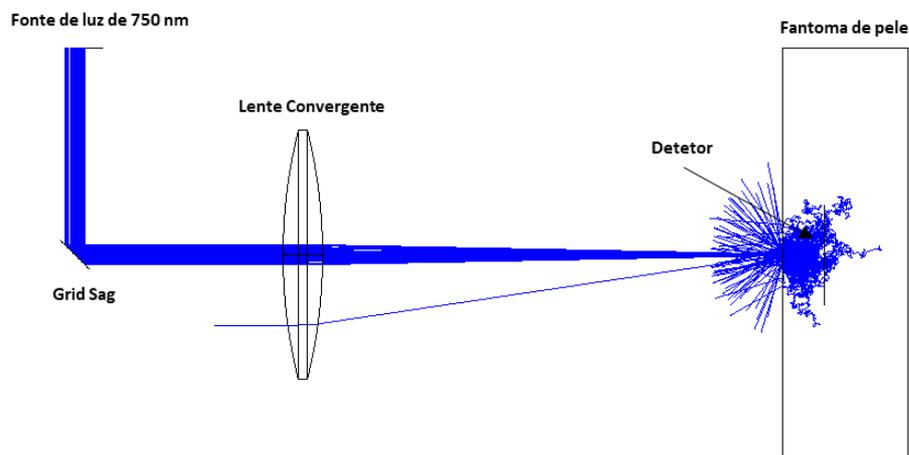


Figura 3.12: Sistema para o método iterativo considerando o efeito da difusão.

3.2.4.2 Método não iterativo

O sistema projetado para o método não iterativo encontra-se ilustrado na figura 3.13, sem considerar a difusão (à esquerda) e considerando a difusão (à direita). Tal como explicado em 3.2.3.2, a partir do *feedback* conferido pelas frentes de onda do feixe de luz de 400 nm vindo do meio túrbido, e analisado pelo **detetor 2** por coerência de fase, é introduzida uma nova matriz que promove alterações na Grid Sag que irão modelar a frente de onda do feixe de 808 nm que sobre ela incide, permitindo uma melhoria do raio ponderado, calculado no **detetor 1**. As propriedades dos componentes referidos foram oportunamente descritas em 3.2.1, sendo que, por uma questão de correlação lógica entre a matriz de coerência de fase obtida pelo **detetor 2** e a matriz de fase utilizada pela Grid Sag, tanto uma estrutura como a outra terão as mesmas dimensões e número de entradas nas respectivas matrizes. O **detetor 2** foi colocado próximo do foco da lente convergente (a 40 mm da lente) para recolher mais informação (mais raios) sobre as frentes de onda do feixe de 400 nm. A origem deste, bem como o **detetor 1**, encontram-se a 5 mm de profundidade no interior do fantoma para que a distância percorrida pelo feixe de 400 nm que sai do meio, seja a mesma da de 808 nm ao penetrar o fantoma até ao **detetor 1**, onde será calculado o novo raio ponderado.

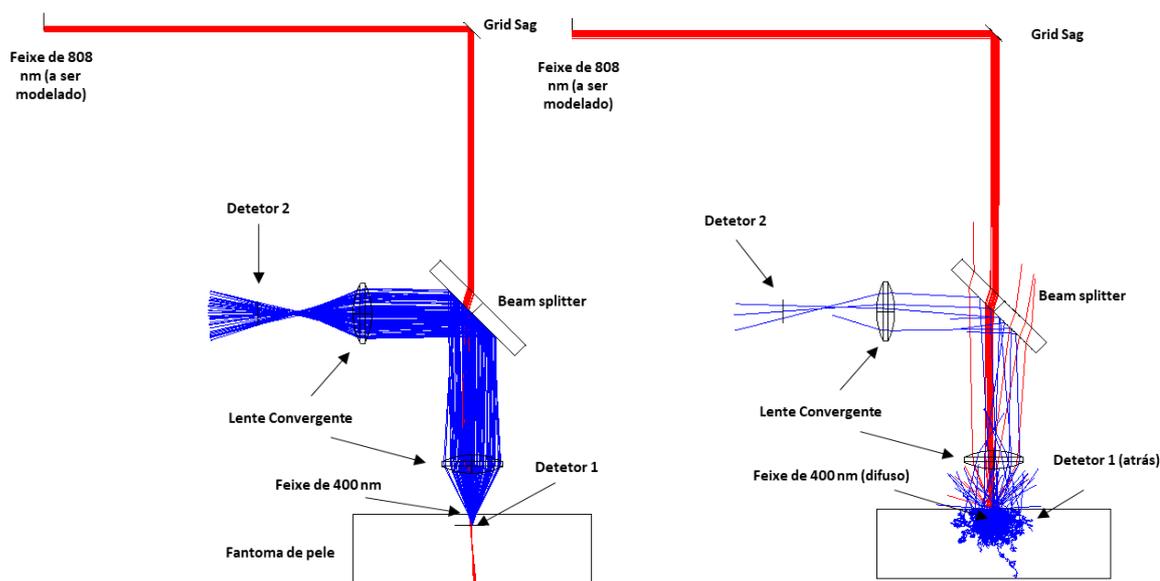


Figura 3.13: Sistemas para o método não iterativo sem considerar o efeito da difusão (à esquerda) e considerando o efeito de difusão (à direita). Notas:

a) Ambos os sistemas apresentam os dois feixes de luz a serem emitidos em simultâneo exclusivamente para efeitos visuais. No entanto, o algoritmo foi desenvolvido para serem emitidos intercaladamente, tal como descrito pelo esquema da figura 3.10, em 3.2.3.2.

b) Foram utilizados apenas 70 raios para ilustrar o efeito da difusão na imagem da figura 3.13. No entanto, para as simulações o traçado de raios foi efetuado com 100 000 raios, pelo que chega um número muito superior de raios ao detetor 2.

Resultados e Discussão

Para avaliar a capacidade das técnicas de modelação de frentes de onda LASER na obtenção de um foco no interior do fantoma de pele criado, foi definido um parâmetro de análise (raio ponderado). Neste capítulo, são apresentados os resultados obtidos do raio ponderado do feixe pelos sistemas projetados para cada uma das técnicas, seguido da sua comparação e discussão onde é analisada a convergência dos algoritmos em diferentes cenários. Relativamente aos *Axicons*, foi avaliado a capacidade do ZEMAX™ em gerar os focos de luz em forma de anel no interior e exterior do fantoma de pele, ao garantir que o feixe de Bessel criado por estas lentes não é afetado pela difusão.

4.1 *Axicons*

Neste subcapítulo são apresentados e discutidos os resultados dos sistemas desenvolvidas para as lentes do tipo *Axicon*.

4.1.1 Simulação *Axicons* Modo Sequencial e Não Sequencial

Inicialmente, começou por estudar-se a capacidade do ZEMAX™ em reproduzir fora do fantoma, no modo sequencial e no modo não sequencial, as características ópticas típicas deste tipo de lentes, nomeadamente o “espigão de luz” (feixe de Bessel) e o padrão em forma de anel que se verifica a uma determinada distância da lente.

Na secção 3.1.1, já havia sido demonstrada a competência do ZEMAX™ em recriar o feixe de Bessel produzido por um *Axicon* no modo sequencial e não sequencial (figuras 3.2, 3.3 e 3.4). Seguidamente é apresentada a figura 4.1, onde fica também demonstrado

que o ZEMAX™ consegue reproduzir outra das propriedades fundamentais deste tipo lentes: o padrão em forma de anel. Os resultados são apresentados através de um *spot diagram* no modo sequencial (MS) e de um gráfico de irradiância coerente no modo não sequencial (MNS), para cada um dos *Axicons* desenvolvidos (ver tabela 3.2).

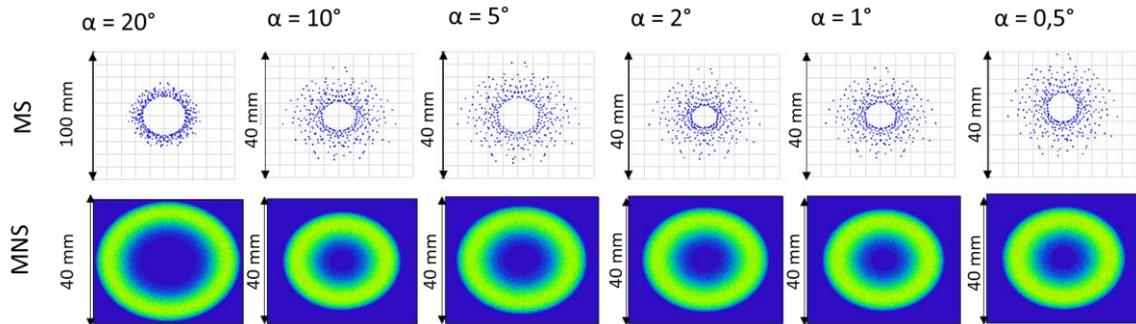


Figura 4.1: Padrões em forma de anel dos diferentes *Axicons* estudados para valores de $\alpha = 20^\circ, 10^\circ, 5^\circ, 2^\circ, 1^\circ$ e $0,5^\circ$, no modo sequencial (MS) em cima, e modo não sequencial (MNS), em baixo. O detector utilizado no MNS tem 40mm x 40mm e 500pixels x 500pixels.

Através da análise da figura 4.1, pode-se concluir que em qualquer uma das simulações, no modo sequencial e não sequencial, foi possível observar o padrão em forma de anel que seria esperado obter, o que comprova a existência de um comportamento similar dos *Axicons* nos dois modos do ZEMAX™ e ainda a capacidade deste *software* em reproduzir o comportamento óptico peculiar deste tipo de lentes cônicas em ambiente livre (não há difusão). Para além disso, é importante referir que não se observam diferenças significativas ao nível da estrutura dos padrões em anel para *Axicons* com valores de α diferentes, sendo que, a título de curiosidade, o *Axicon* com $\alpha = 20^\circ$ surge como o elemento que cria um anel com diâmetro superior (25 mm).

4.1.2 Comparação *Axicons* vs. lentes convencionais

Seguidamente, foi avaliado a capacidade dos *Axicons* em preservar a propriedade do “espigão de luz” através da sua auto reconstrução após a ocorrência de fenómenos de difusão no interior de meios túrbidos, tendo sido analisado o tipo de padrão focal obtido em profundidade. Como termo de comparação foram usadas lentes convencionais, inaptas na formação de focos no interior de meios difusores. A figura 4.2 apresenta os resultados sob a forma de gráficos de irradiância coerente obtidos com os dois tipos de lentes, no modo não sequencial.

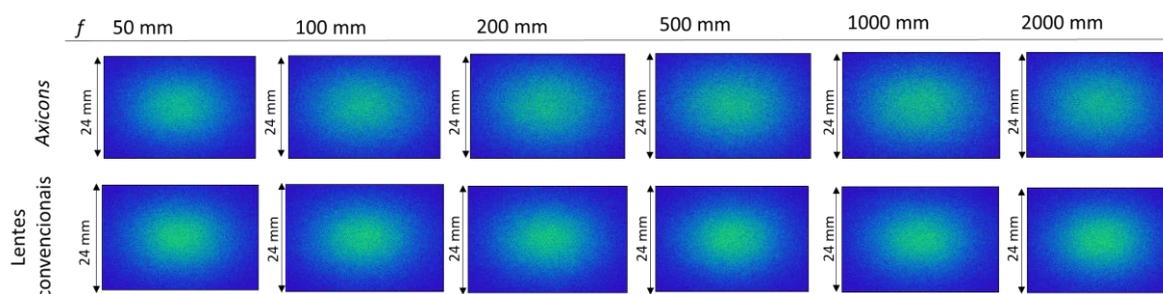


Figura 4.2: Gráficos de irradiância coerente obtidos no modo não sequencial para lentes do tipo *Axicon* (em cima) e para lentes convencionais (em baixo). Foram comparados *Axicons* (com valores de $\alpha = 20^\circ, 10^\circ, 5^\circ, 2^\circ, 1^\circ$ e 0.5°) e lentes convencionais com as mesmas distâncias focais, f (50 mm, 100 mm, 200 mm, 500 mm, 1000 mm e 2000 mm). Como referido em 3.1.2, para obter estes resultados foi utilizado um detetor de 24mm x 24mm e 1000pixéis x 1000pixéis.

Comparando os resultados fornecidos pelo detetor, chega-se à conclusão de que não se observam diferenças substanciais na obtenção de imagem de um objeto quando utilizadas diferentes tipos de lentes convencionais ou do tipo *Axicon*. De facto, não foi possível constatar o esperado efeito auto reconstrutivo e, conseqüentemente, a formação de um foco de luz no detetor no interior do fantoma utilizando qualquer um dos *Axicons* projetados, pelo que se conclui que o feixe de Bessel terá sido inevitavelmente afetado pelos efeitos de difusão promovidos pelo fantoma de pele.

Estes resultados não são corroborados por estudos experimentais que demonstram claramente que *Axicons* apresentam vantagens significativas quando comparadas com lentes convencionais, no que diz respeito à obtenção de imagem no interior de meios heterogéneos [35]. Deste modo, podemos concluir que o modo não sequencial do ZEMAX™ não apresenta resultados conclusivos relativamente à propriedade de auto reconstrução dos feixes de luz ao atravessarem meios túrbidos.

4.2 Método Iterativo

Nesta secção serão apresentados os resultados obtidos para os sistemas envolvendo a modelação do feixe LASER através de um processo iterativo de configuração da Grid Sag, segundo duas diferentes abordagens. Para avaliar a capacidade destas duas abordagens em fazer convergir a luz difusa no interior do fantoma, foi analisado o padrão de convergência do raio ponderado e a sua relação com a profundidade e número de pixéis (“espelhos”) da Grid Sag, o número de iterações do algoritmo ou ainda, para o caso da Abordagem 2, o número de clusters da matriz de fase. Para estas simulações, tal como referido no

subcapítulo 3.2.1, considere-se, por defeito, os respetivos sistemas constituídos por um detetor quadrado padrão de 24mm x 24mm com 50pixéis x 50pixéis (0,48 mm/pixel) para o cálculo do raio ponderado e uma matriz Sag padrão de 10mm x 10mm com 50pixéis x 50pixéis (0,2 mm/pixel).

4.2.1 Resultados Abordagem 1

Inicialmente, começou por estudar-se a capacidade do algoritmo em promover a focagem de luz em diferentes profundidades no interior do fantoma. Para tal, foram efetuados 3 testes, cada um com 300 iterações, onde o raio ponderado foi calculado através da matriz de irradiâncias do detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade. As figuras 4.3, 4.4 e 4.5 apresentam os gráficos de convergência dos algoritmos, para cada um dos 3 testes, nas diferentes profundidades mencionadas. A linha amarela que se observa nestes gráficos representa o perfil da média do raio ponderado dos 3 testes, para cada iteração. O respetivo gráfico do desvio padrão da média calculada encontra-se em anexo (Apêndice C).

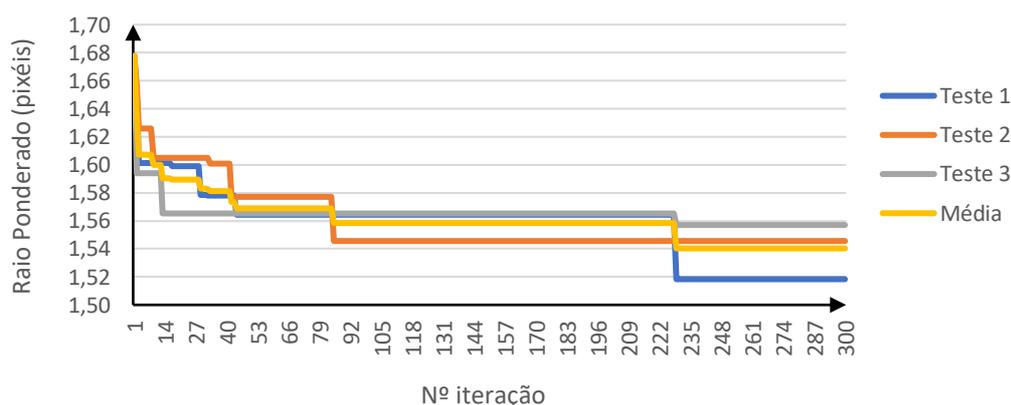


Figura 4.3: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 300 iterações.

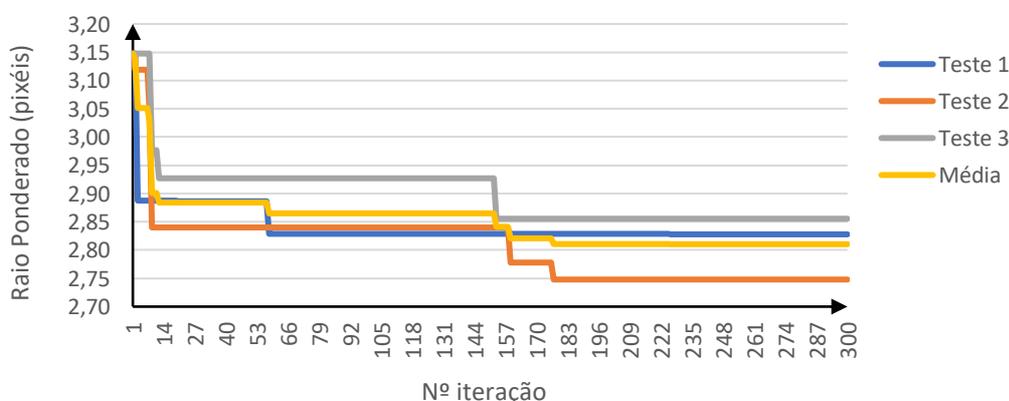


Figura 4.4: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 300 iterações.

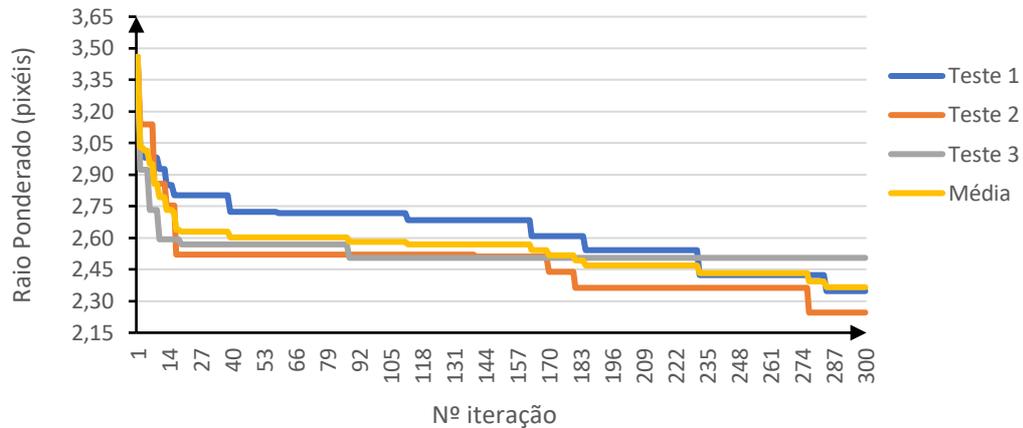


Figura 4.5: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 15 mm de profundidade e 300 iterações.

Através da observação das curvas dos gráficos das figuras 4.3, 4.4 e 4.5, verifica-se um decréscimo do raio ponderado à medida que o número de iterações aumenta pelo que se deduz que a aplicação do algoritmo foi bem sucedida e denota a sua competência.

Constata-se também que em qualquer um dos 3 testes efetuados com o detetor a 15 mm de profundidade no interior do fantoma, as curvas da evolução do raio ponderado apresentam um maior número de depressões (ou “melhorias”), associadas a uma diminuição do valor do raio ponderado depois de aplicado o algoritmo que altera a configuração da Grid Sag. Por outro lado, as curvas que representam a evolução do valor do raio ponderado calculado a 5 e a 10 mm de profundidade (Fig. 4.3 e 4.4) exibem períodos mais constantes (retas horizontais), pese embora os resultados da aplicação do algoritmo testado nestas profundidades tenham sido igualmente satisfatórios (tabela 4.1).

Estas diferenças estão relacionadas com os efeitos de difusão causados pelo fantoma, que serão tanto mais acentuados quanto maior a distância penetrada pela luz e que neste caso corresponde à profundidade do detetor onde é calculado o raio ponderado. De facto, verifica-se que o valor do raio ponderado inicial associado à iteração “1” (obtido com a mesma matriz Sag neutra em qualquer um dos testes realizados) nos gráficos 4.3, 4.4 e 4.5, é mais elevado quando calculado pelo detetor a 15 mm do que para a mesma iteração “1” a 10 mm e a 5 mm de profundidade no interior do fantoma. Deste modo, depreende-se que o algoritmo tem maior dificuldade (são precisas mais iterações) em gerar uma matriz de fase que consiga alterar a configuração da Grid Sag de uma forma tal que permita obter um raio ponderado (bastante) inferior em profundidades onde a difusão é menos intensa (o foco está melhor definido) o que explica um tipo de perfil mais constante das curvas dos gráficos a 5 mm e a 10 mm de profundidade e menos estável a 15 mm de profundidade.

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 4.1, apresenta uma compilação dos resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial (iteração “1”) e melhor raio ponderado em cada um dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, ao fim de 300 iterações. Estes dados estão relacionados com os gráficos 4.3, 4.4 e 4.5 e correspondem ao valor do raio ponderado mais elevado (utilizando a matriz Sag neutra) e mais baixo (utilizando a melhor matriz Sag criada pelo algoritmo), respetivamente. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel tem 0,48 mm (ver secção 4.2). Refira-se que o valor obtido para o raio ponderado sem difusão a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade foi 339,12 μm .

Tabela 4.1: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) para cada um dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade ao fim de 300 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe utilizando esta abordagem) para aferir a % sucesso da mesma. Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

Resultados obtidos			
5 mm	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria
Teste 1	1,68	1,52	9,50 %
Teste 2	1,68	1,55	7,87 %
Teste 3	1,68	1,56	7,19 %
10 mm			
	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria
Teste 1	3,15	2,83	10,16 %
Teste 2	3,15	2,75	12,70 %
Teste 3	3,15	2,86	9,28 %
15 mm			
	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria
Teste 1	3,50	2,35	32,85 %
Teste 2	3,50	2,25	35,77 %
Teste 3	3,50	2,51	28,34 %

Os dados que constam na tabela 4.1 corroboram aquilo que fora referido anteriormente, verificando-se que em qualquer um dos testes, após o processamento do algoritmo, se registou uma diminuição do valor do raio ponderado. Naturalmente, como o efeito da difusão da luz aumenta com a profundidade e há um maior número de aberrações para serem suprimidas, registou-se uma percentagem de melhoria superior em qualquer um dos

testes efetuados com o detetor posicionado a 15 mm, seguido dos testes a 10 mm e finalmente a 5 mm de profundidade. Refira-se que a 5 mm de profundidade, o teste 1 foi aquele que obteve melhores resultados, onde o valor do raio ponderado passou de 1,68 pixéis (806,40 μm) para 1,52 pixéis (729,60 μm), o equivalente a uma diminuição de 9,50%; a 10 mm de profundidade o melhor teste registou uma melhoria de 12,70 %, com um raio ponderado inicial de 3,15 pixéis (1512,00 μm) e após a aplicação do algoritmo de 2,75 pixéis (1320,00 μm); o teste 2 cujo raio ponderado foi calculado a 15 mm de profundidade corresponde globalmente ao teste em que se verificou uma maior percentagem de melhoria, com o raio ponderado inicial de 3,50 pixéis (1680,00 μm) a ser reduzido até 35,77%, para 2,25 pixéis (1080,00 μm).

Visualmente, a figura 4.6 corrobora a informação disponível nos gráficos das figuras 4.3, 4.4 e 4.5 e os dados da tabela 4.1 em cima exibidos, onde é possível comparar o resultado da matriz de irradiâncias normalizadas do detetor obtida depois do traçado de raios com a Grid Sag neutra (1^o iteração), e depois do traçado de raios associado à melhor configuração da Grid Sag modificada, em que se registou o valor mais baixo do raio ponderado nos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade.

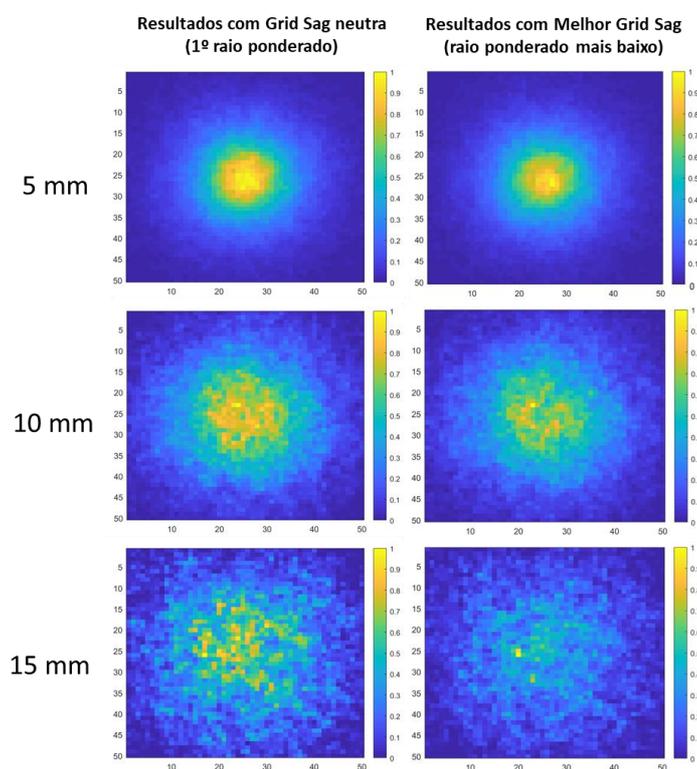


Figura 4.6: Método Iterativo, Abordagem 1 - Matriz de irradiâncias normalizada (Irradiância normalizada vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma. Algoritmo concluído ao fim de 300 iterações. Em anexo (Apêndice B) encontram-se as respetivas matrizes de irradiância não normalizadas e a tabela com os valores de irradiância máxima e mínima.

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a figura 4.6 conclui-se também que o algoritmo foi aplicado com sucesso, visualizando-se uma redução da área focal e concentração de pontos com maior valor de irradiância no detetor em qualquer uma das profundidades, quando comparados os sistemas utilizando uma Grid Sag do tipo espelho sem modelação do feixe (à esquerda), com os sistemas utilizando a melhor Grid Sag (associada à melhor matriz de fase produzida pelo algoritmo (à direita)) com a capacidade de modelar o feixe e permitir a redução do raio ponderado no interior do fantoma. Verifica-se que esta redução foi mais notória a 15 mm de profundidade, tal como havia sido apontado anteriormente na tabela 4.1.

Devido a questões relacionadas com o (excessivo) tempo consumido para a execução dos algoritmos, foi necessário limitar cada teste a 300 iterações. No entanto, para dispor de uma análise estatística mais alargada e estudar as capacidades dos algoritmos a longo prazo, foram efetuados 2 testes com 2000 iterações: um com o detetor a 5 mm, e outro a 10 mm de profundidade. Os resultados adquiridos encontram-se organizados sob a forma de gráficos nas figuras 4.7 e 4.8.

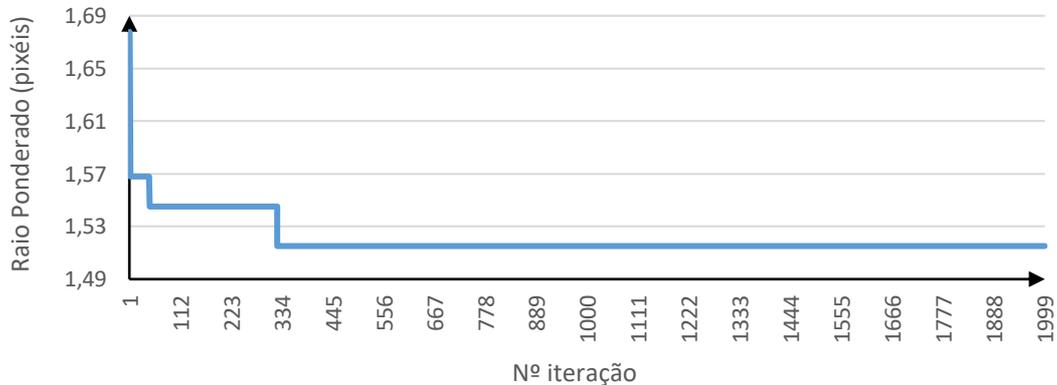


Figura 4.7: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 2000 iterações.

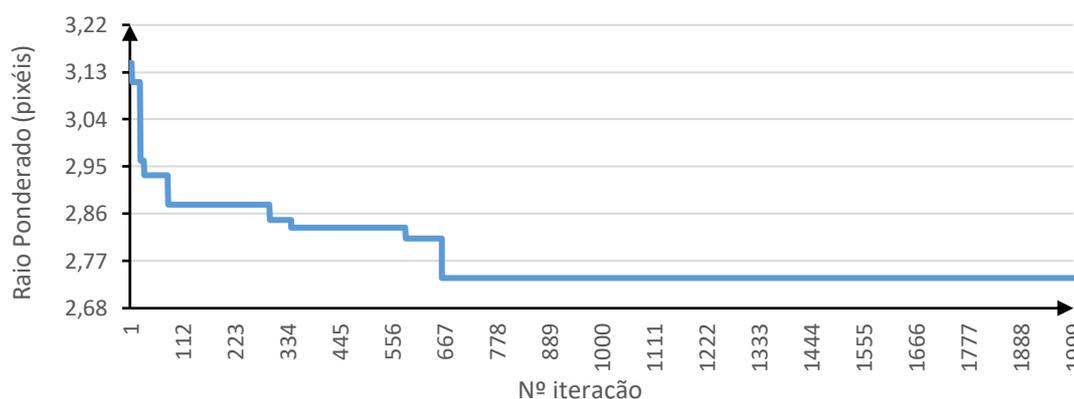


Figura 4.8: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 2000 iterações.

Através da análise dos gráficos das figuras 4.7 e 4.8 verifica-se que, apesar do número de iterações destes novos testes ter aumentado para 2000, o número de raios ponderados calculados poderá, ainda assim, ser uma amostra insuficiente para que se observem novas “melhorias” (reduções do valor do raio ponderado) a longo prazo. De facto, comparando as curvas de evolução do algoritmo dos dois gráficos, observa-se que a 5 mm de profundidade (a partir da iteração 324) a curva estabiliza ainda antes de ter sido executado um quarto do algoritmo (500 iterações), enquanto que a 10 mm de profundidade, a partir da iteração 662, também não se observam quaisquer novas melhorias. Tal poderá ser explicado, como referido anteriormente, pelas diferenças nos efeitos causados pelo fenómeno da difusão, sendo que a 5 mm de profundidade como o raio do feixe é por si baixo, é mais difícil o algoritmo gerar uma matriz de fase que altere a configuração da Grid Sag de uma forma tal que origine um raio ponderado ainda menor, ou seja, para tal acontecer seria necessário um elevado número de iterações algo que implicaria o dispêndio de mais tempo.

A tabela 4.2 reúne os valores obtidos para o raio ponderado inicial e melhor raio ponderado calculados a 5 mm e a 10 mm de profundidade no interior do fantoma, ao fim de 2000 iterações. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel do detetor tem 0,48 mm (ver secção 4.2).

Tabela 4.2: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 5 mm e 10 mm de profundidade ao fim de 2000 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

Resultados obtidos				
Profundidade detetor	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria	Melhor teste 300 iterações (dados tabela 4.1)
5 mm	1,68	1,52	9,69 %	9,50 %
10 mm	3,15	2,74	13,03 %	12,70 %

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a tabela 4.2, podemos verificar que no teste efetuado com o detetor a 5 mm de profundidade, o valor do raio ponderado diminuiu de 1,68 pixéis (806,40 μm) para 1,52 pixéis (729,60 μm), correspondendo a uma melhoria de 9,69 %, enquanto que a 10 mm de profundidade o raio ponderado passou de 3,15 pixéis (1512,00 μm) para 2,74 pixéis (1315,20 μm), o equivalente a uma redução de 13,03%. Comparando estes resultados com os resultados homólogos expressos na tabela 4.1 ao fim de 300 iterações, onde se constata que o melhor raio ponderado calculado a 5 mm e a 10 mm de profundidade resultou numa melhoria de 9,50 % e 12,70%, observa-se que a diferença entre os respetivos testes não chegou a 1%, pelo que se conclui que 2000 iterações não são suficientes para reduzir significativamente o valor do raio ponderado do feixe.

Finalmente, foi ainda explorada a hipótese de o número de espelhos da Grid Sag influenciar a convergência dos algoritmos desenvolvidos. Para isso, foi implementada uma nova Grid Sag quadrada de 10 mm com 250pixéis x 250pixéis, ou seja, 0,04 mm/ “pixel”, e o algoritmo foi testado uma vez, a 10 mm de profundidade, com 300 iterações. Os resultados adquiridos encontram-se organizados sob a forma de gráficos na figura 4.9.

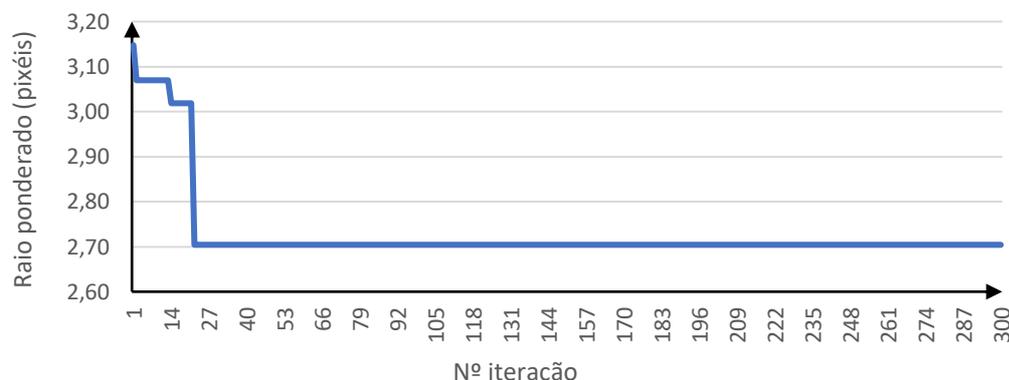


Figura 4.9: Método Iterativo, Abordagem 1 - Gráfico de convergência do algoritmo utilizando uma Grid Sag com 250pixéis x 250pixéis, detetor a 10 mm de profundidade e 300 iterações.

Através da análise da figura 4.9, observa-se que a curva presente no gráfico se mantém constante praticamente desde o início da execução do algoritmo, não se verificando quaisquer reduções no valor do raio ponderado após a iteração 22.

A tabela 4.3 reúne os valores obtidos para o raio ponderado inicial e melhor raio ponderado, calculados a 10 mm de profundidade no interior do fantoma, num sistema em que se utilizou uma Grid Sag de 250pixéis x 250pixéis, com 300 iterações. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel do detetor tem 0,48 mm (ver secção 4.2).

Tabela 4.3: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo), calculados a 10 mm de profundidade num sistema com uma Grid Sag de 250pixéis x 250pixéis, ao fim de 300 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

Resultados obtidos				
Profundidade detetor	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria	Melhor teste 300 iterações (dados tabela 4.1)
10 mm	3,15	2,70	14,09 %	12,70 %

A partir dos dados presentes na tabela 4.3, verifica-se que este teste promoveu uma redução do valor do raio ponderado de 3,15 pixéis (1512, 00 μm) para 2,70 pixéis (1296, 00 μm), o equivalente a uma melhoria de 14,09 %. Este valor é ligeiramente superior ao obtido no melhor teste efetuado à mesma profundidade, para o mesmo número de iterações e utilizando uma matriz Sag padrão de 50pixéis x 50pixéis (12,70%, tabela 4.1). Apesar das boas indicações conferidas por esta vertente da Abordagem 1, seriam necessários efetuar mais testes com um maior número de iterações e (possivelmente) aumentar o número de pixéis da Grid Sag.

4.2.2 Resultados Abordagem 2

O procedimento adotado relativamente à análise da convergência do raio ponderado para a primeira abordagem, foi igualmente reproduzido no estudo do efeito da profundidade do detetor a 5 mm, 10 mm e 15mm de profundidade, para os algoritmos desenvolvidos. Este método apresenta como particularidade a utilização de clusters para alterar a configuração da Grid Sag. Por defeito, sempre que não for referida outra informação, considere-se uma matriz Sag padrão de 10mm x 10mm com 50pixéis x 50pixéis constituída por clusters de 5pixéis x 5pixéis (aglomerados de “espelhos”).

As figuras 4.10, 4.11 e 4.12 apresentam os gráficos de convergência dos raios ponderados em 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, com 300 iterações. A linha amarela que se observa nestes gráficos representa o perfil da média do raio ponderado dos 3 testes, para cada iteração. O respetivo gráfico do desvio padrão da média calculada encontra-se em anexo (Apêndice C).

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

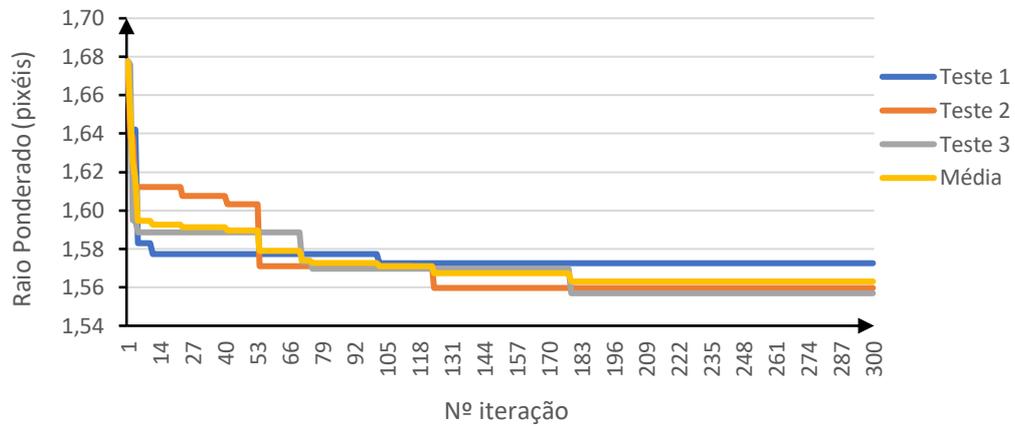


Figura 4.10: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 300 iterações.

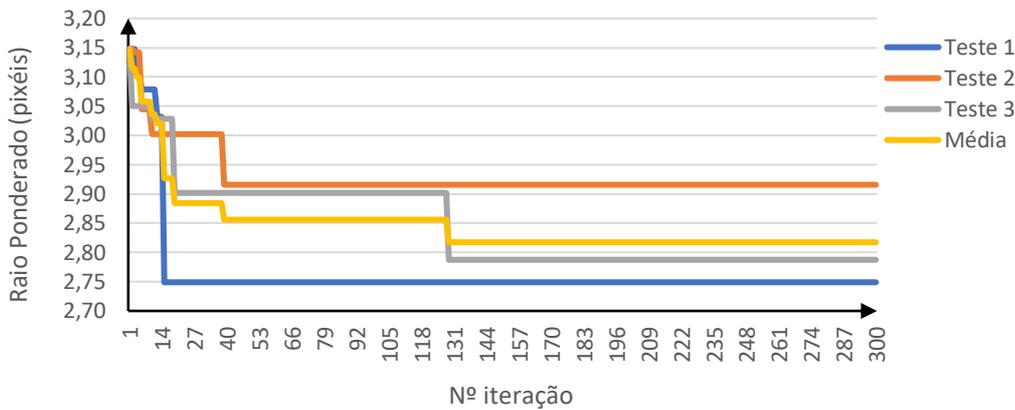


Figura 4.11: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 300 iterações.

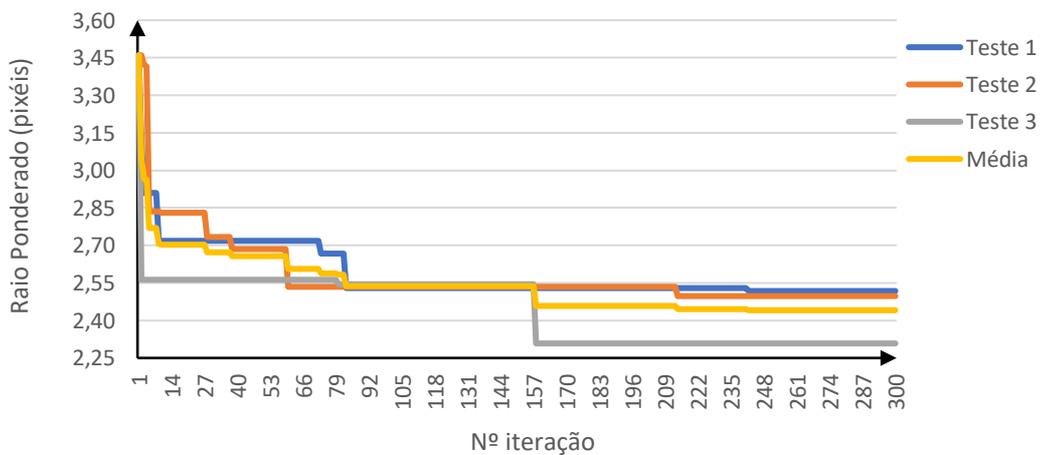


Figura 4.12: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 15 mm de profundidade e 300 iterações.

Através da observação das curvas dos gráficos das figuras 4.10, 4.11 e 4.12, verifica-se um decréscimo do raio ponderado à medida que o número de iterações aumenta, pelo que se demonstra que a aplicação deste novo algoritmo se revelou igualmente produtiva na modelação de fase de frentes de onda para focagem de luz no interior do fantoma de pele criado.

É também possível registar que as curvas referentes a 2 dos 3 testes efetuados com o detetor a 15 mm de profundidade no interior do fantoma (figura 4.12), manifestam a ocorrência de várias diminuições do valor do raio ponderado (“melhorias”) até perto da conclusão da execução do algoritmo (após 300 iterações), com exceção da curva correspondente ao teste 3 em que se verificam duas fortes depressões no gráfico resultado de diminuições abruptas do valor do raio ponderado em iterações consecutivas. Sob outra perspetiva, as linhas que representam a evolução do valor do raio ponderado calculado a 10 mm de profundidade (figura 4.11) exibem igualmente “melhorias”, no entanto demonstram um perfil mais constante, isto é, observam-se períodos de várias iterações seguidas onde não ocorre qualquer diminuição do valor do raio ponderado. Finalmente, as curvas relativas ao gráfico da figura 4.10, não apresentam um perfil tão constante como no gráfico homólogo da figura 4.3 da Abordagem 1, no entanto, as depressões que se evidenciam nestas curvas são o resultado de diminuições muito reduzidas no valor do raio ponderado (inferiores a 2%) calculados a 5 mm de profundidade no interior do meio túrbido. Não obstante as diferenças assinaladas entre as curvas dos gráficos em cima mencionados, os resultados da aplicação do algoritmo para focagem de luz a diferentes profundidades foram igualmente satisfatórios (tabela 4.4).

À semelhança do que foi referido em 4.2.1, as diferenças entre os gráficos poderão ser justificadas com os efeitos de difusão causados pelo fantoma, que serão tão mais importantes quanto maior a distância penetrada pela luz e que neste caso corresponde à profundidade do detetor onde é calculado o raio ponderado. Assim, compreende-se que o algoritmo tenha maior dificuldade em produzir um foco de luz com um raio ponderado (significativamente) menor onde a difusão é menos intensa, uma vez que o foco está melhor definido. No caso das curvas do gráfico 4.10 denotam-se várias depressões, no entanto o algoritmo não consegue promover variações significativas do raio ponderado, tal como acontece nos testes efetuados 10 mm e a 15 mm de profundidade.

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tal como efetuado anteriormente, a tabela 4.4 apresenta uma compilação dos resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial (iteração “1”) e melhor raio ponderado em cada um dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, ao fim de 300 iterações. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel tem 0,48 mm (ver secção 4.2).

Tabela 4.4: Método Iterativo, Abordagem 2: Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) para cada um dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade ao fim de 300 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe utilizando esta abordagem) para aferir a % sucesso da mesma. Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

Resultados obtidos			
5 mm	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria
Teste 1	1,68	1,57	6,27 %
Teste 2	1,68	1,56	7,03 %
Teste 3	1,68	1,56	7,20 %
10 mm	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria
Teste 1	3,15	2,75	12,67 %
Teste 2	3,15	2,92	7,37 %
Teste 3	3,15	2,79	11,45 %
15 mm	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria
Teste 1	3,50	2,52	27,98 %
Teste 2	3,50	2,50	28,56 %
Teste 3	3,50	2,31	33,98 %

Os dados apresentados pela tabela 4.4 confirmam o que fora mencionado, verificando-se que em qualquer um dos testes, após o processamento do algoritmo, se registou uma diminuição do valor do raio ponderado. À imagem do que se sucedeu na Abordagem 1, estes dados refletem também uma percentagem de melhoria superior em qualquer um dos testes efetuados com o detetor posicionado a 15 mm, seguido dos testes a 10 mm e finalmente a 5 mm de profundidade. Refira-se que a 5 mm de profundidade, o teste 3 foi aquele que obteve melhores resultados, onde o valor do raio ponderado passou de 1,68

pixéis (806,40 μm) para aproximadamente 1,56 pixéis (748,80 μm), o equivalente a uma diminuição de 7,20 %; a 10 mm de profundidade o melhor teste registou uma melhoria de 12,67 %, com um raio ponderado inicial de 3,15 pixéis (1512,00 μm) e após a aplicação do algoritmo de cerca de 2,75 pixéis (1320,00 μm); o teste 2 cujo raio ponderado foi calculado a 15 mm de profundidade corresponde globalmente ao teste em que se verificou uma maior percentagem de melhoria, com o raio ponderado inicial de 3,50 pixéis (1680,00 μm) a ser reduzido até 33,98 % para 2,31 pixéis (1108,80 μm).

A figura 4.13 ilustra os resultados das matrizes de irradiâncias normalizadas do detetor adquiridas a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, quando utilizado a Grid Sag neutra (1ª iteração) e com a melhor configuração da Grid Sag modificada de entre os 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade.

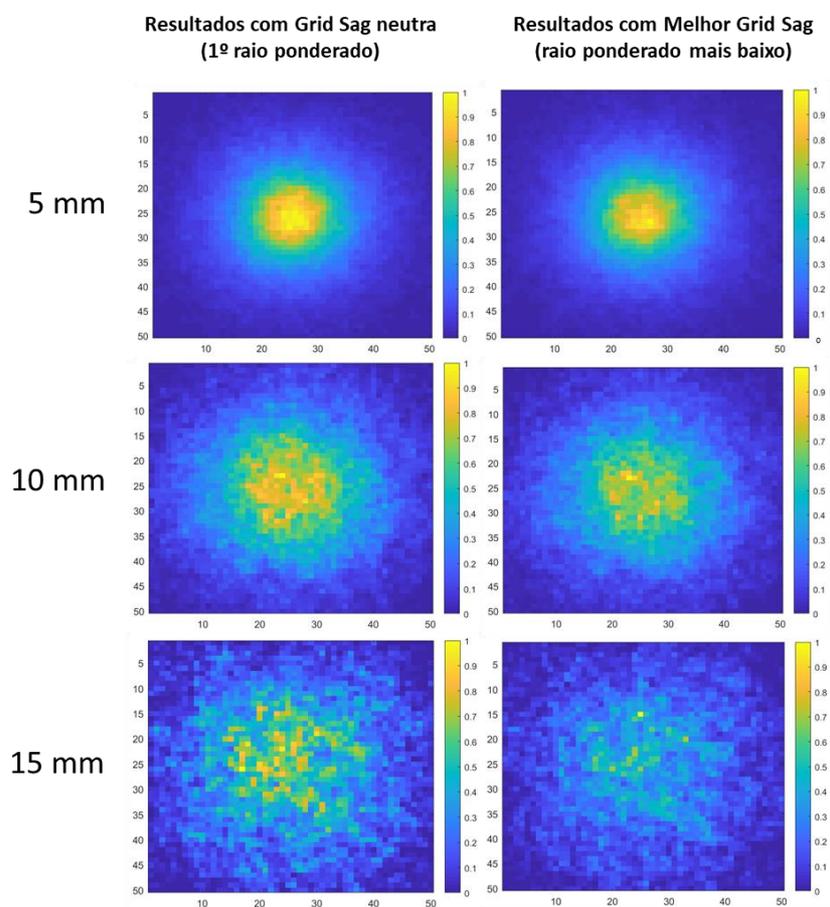


Figura 4.13: Método Iterativo, Abordagem 2 - Matriz de irradiâncias normalizada (Irradiância normalizada vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma. Algoritmo concluído ao fim de 300 iterações. Em anexo (Apêndice B), encontram-se as respetivas matrizes de irradiância não normalizadas e a tabela com os valores de irradiância máxima e mínima.

CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a figura 4.13, observa-se uma redução da área focal e concentração de pontos com maior valor de irradiância no detetor em qualquer uma das profundidades, quando comparados os sistemas utilizando uma Grid Sag do tipo espelho sem modelação do feixe (à esquerda), com os sistemas utilizando a melhor Grid Sag (associada à melhor matriz de fase produzida pelo algoritmo (à direita)). Assim, comprova-se que as configurações da Grid Sag com a capacidade de modelar o feixe proporcionaram a formação de um foco de luz mais concentrado, isto é, com um diâmetro mais reduzido no interior do fantoma. Verifica-se também que esta redução foi mais notória a 15 mm de profundidade, tal como pode ser confirmado pela tabela 4.4.

À semelhança da primeira abordagem, são agora apresentados os gráficos de convergência dos algoritmos com 2000 iterações, tendo o detetor sido situado a 5 mm (figura 4.14) e a 10 mm (figura 4.15) de profundidade no interior do fantoma.

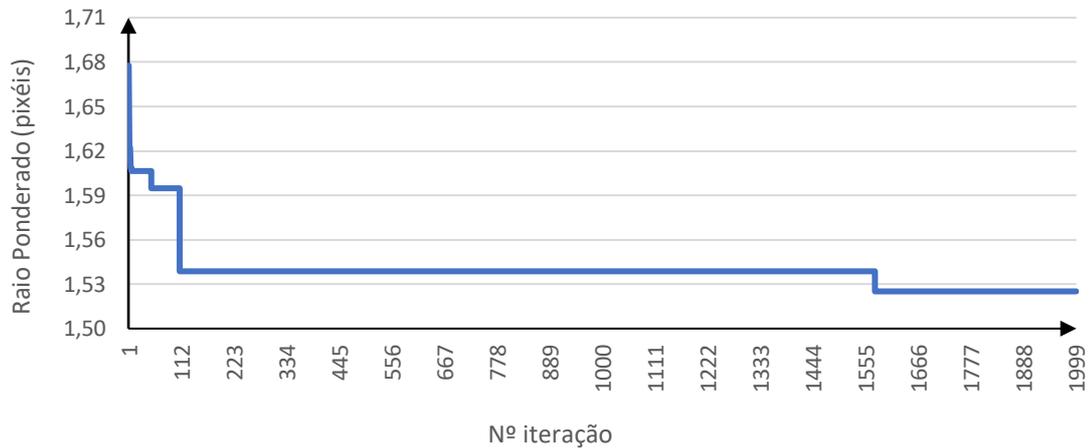


Figura 4.14: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e 2000 iterações.

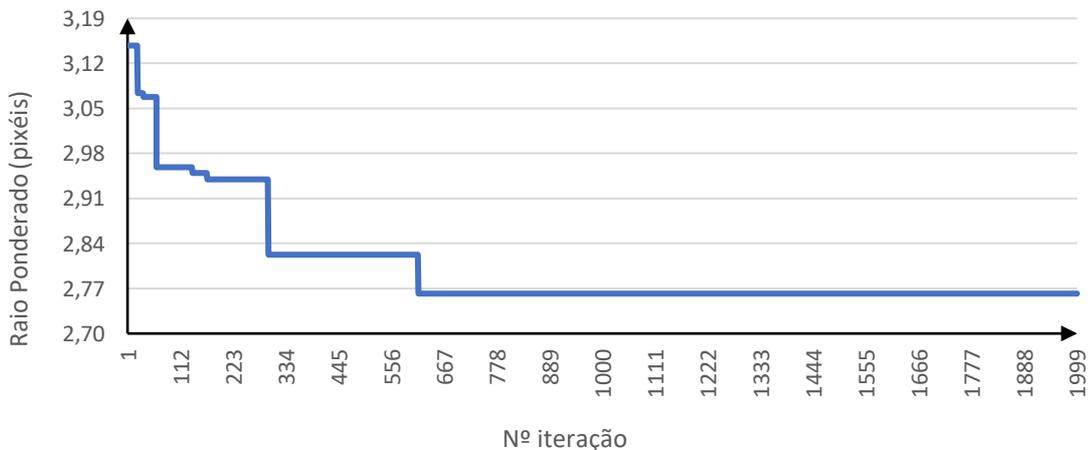


Figura 4.15: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e 2000 iterações.

Através da observação dos gráficos das figuras 4.14 e 4.15 é possível verificar que depois de ultrapassadas 300 iterações, em ambos os gráficos, apenas por uma vez se registou uma redução muito ligeira do valor do raio ponderado. De facto, a 5 mm de profundidade constatou-se uma redução do raio ponderado inferior a 1 % na iteração 1576, ao passo que a 10 mm de profundidade o mesmo evento ocorreu mais cedo aquando o processamento do algoritmo (iteração 613) e foi de cerca de 2 %. Em ambos os casos, reduções acentuadas do valor do raio ponderado durante a fase inicial de execução do algoritmo dificultaram a sua tarefa em gerar uma matriz de fase que alterasse a configuração da Grid Sag de uma forma tal que originasse um raio ponderado (significativamente) menor.

A tabela 4.5 reúne os valores obtidos para o raio ponderado inicial e melhor raio ponderado calculados a 5 mm e a 10 mm de profundidade no interior do fantoma, ao fim de 2000 iterações. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel do detetor tem 0,48 mm (ver secção 4.2).

Tabela 4.5: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 5 mm e 10 mm de profundidade ao fim de 2000 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

Resultados obtidos				
Profundidade detetor	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria	Melhor teste 300 iterações (dados tabela 4.4)
5 mm	1,68	1,52	9,69 %	7,20 %
10 mm	3,15	2,76	12,32 %	12,67 %

De acordo com a tabela 4.5, verifica-se que no teste efetuado com o detetor a 5 mm de profundidade, o valor do raio ponderado diminuiu de 1,68 pixéis (806,40 μm) para 1,52 pixéis (729,60 μm), correspondendo a uma melhoria de 9,69 %, enquanto que a 10 mm de profundidade o raio ponderado passou de 3,15 pixéis (1512,00 μm) para 2,76 pixéis (1332,48 μm), o equivalente a uma redução de 12,32 %. Estes resultados não diferem muito daqueles obtidos no melhor teste com 300 iterações (tabela 4.4) a 5 mm e a 10 mm de profundidade, onde se registou uma melhoria de 7,20 % (diferença inferior a 3% face ao teste com 2000 iterações) e 12,67 % (aproximadamente igual).

À imagem do que havia sido previsto na Abordagem 1, seria interessante correr este algoritmo com um número consideravelmente superior de iterações o que implicaria o consumo de mais tempo.

Seguidamente, é analisada a relação entre o tamanho (número de pixéis) dos clusters que formam a matriz Sag e o número total de pixéis que esta apresenta. Deste modo, utilizando a matriz Sag padrão com 50pixéis x 50pixéis, começou por apreciar-se a evolução do raio ponderado ao longo de 300 iterações aumentando o número de pixéis dos clusters para 10pixéis x 10pixéis (ao invés dos 5x5 até então utilizados) com o detetor a 5 mm (figura 4.16) e a 10 mm (figura 4.17) de profundidade.

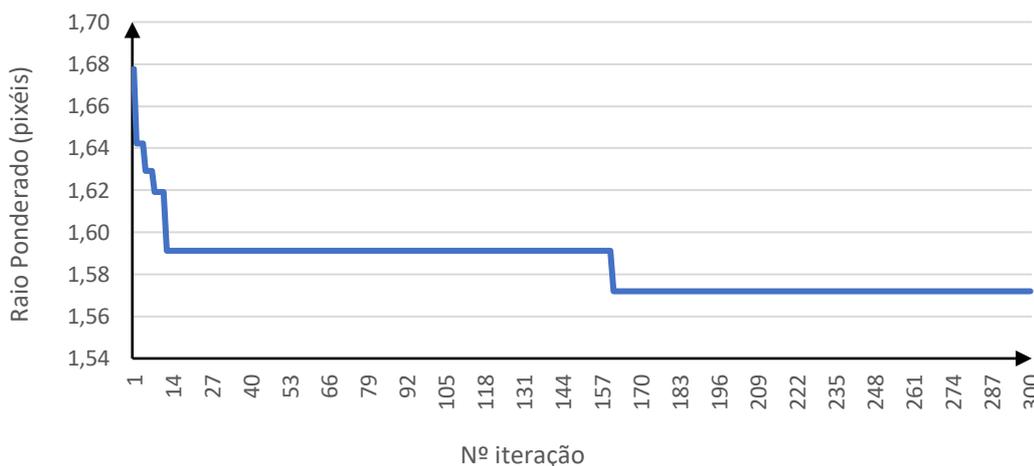


Figura 4.16: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 5 mm de profundidade e dimensão dos clusters de 10pixéis x 10pixéis. Algoritmo processado com 300 iterações.

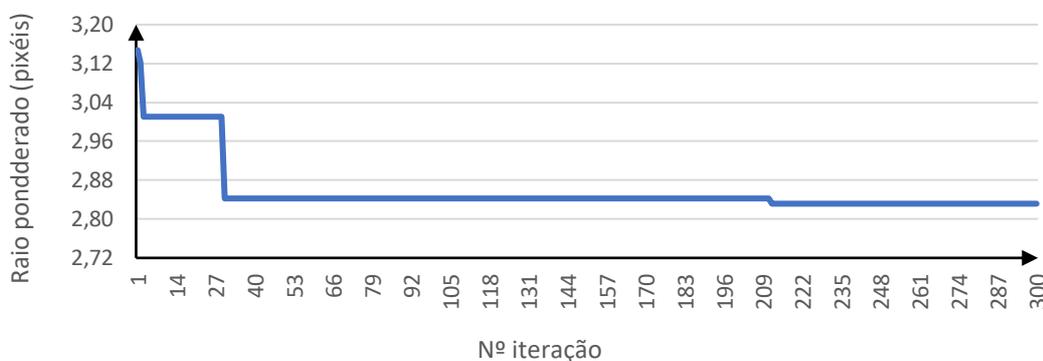


Figura 4.17: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade e dimensão dos clusters de 10pixéis x 10pixéis. Algoritmo processado com 300 iterações.

As curvas presentes nos gráficos das figuras 4.16 e 4.17 permitem observar que a maioria das iterações em que ocorreu uma diminuição do valor do raio ponderado (“melhorias”) se registaram numa fase inicial da execução do algoritmo (primeiras 30 iterações). Posteriormente, as curvas apresentam um perfil aproximadamente constante com exceção

da ocorrência de uma “melhoria” na iteração 161 (inferior a 2%) e na iteração 212 (inferior a 2%) calculadas, respetivamente, com o detetor a 5 mm e 10 mm de profundidade.

A tabela 4.6 reúne os valores obtidos para o raio ponderado inicial e melhor raio ponderado calculados a 5mm e 10 mm de profundidade no interior do fantoma, num sistema com as condições anteriormente especificadas, ao fim de 300 iterações. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel do detetor tem 0,48 mm (ver secção 4.2).

Tabela 4.6: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 5 e 10 mm de profundidade e utilizando uma Grid Sag de 50pixels x 50pixels constituída por clusters de 10pixels x 10pixels, ao fim de 300 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

Resultados obtidos				
Profundidade detetor	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria	Melhor teste Grid Sag Padrão (dados tabela 4.4)
5 mm	1,68	1,57	6,30 %	7,20 %
10 mm	3,15	2,83	10,04 %	12,67 %

A partir dos dados presentes na tabela 4.6, verifica-se que o teste efetuado a 5 mm de profundidade promoveu uma redução do valor do raio ponderado de 1,68 pixéis (806,40 μm) para 1,57 pixéis (753,60 μm), o equivalente a uma melhoria de 6,30 %, enquanto que no teste com o detetor posicionado a 10 mm, se verificou uma redução do raio ponderado de 3,15 pixéis (1512,00 μm) para 2,83 pixéis (1358,40 μm), correspondendo a uma melhoria de 10,04 %. Estes resultados são inferiores àquele obtidos no melhor teste efetuado a 5 mm (7,20 %) e 10 mm (12,67 %) de profundidade com 300 iterações, recorrendo a um sistema em que se utilizou uma matriz Sag padrão com clusters de 5pixels x 5pixels.

Por conseguinte, a opção tomada em aumentar o tamanho dos clusters numa matriz Sag com igual número total de pixéis não parece viável, uma vez que testes efetuados com condições diferentes de execução obtiveram valores menores para o raio ponderado após modelação do feixe.

Para concluir a extensa análise a esta segunda abordagem iterativa, construiu-se uma nova matriz Sag de 10mm x 10mm constituída por 250pixels x 250pixels (0,04 mm/pixel). Com o auxílio deste componente foram efetuados vários novos testes onde se estudou, invariavelmente, a convergência do algoritmo com o detetor posicionado a 10 mm de profundidade no interior do fantoma, alterando o número de pixéis dos clusters da matriz Sag entre 5x5 (teste 1), 10x10 (teste 2) e 25x25 (teste 3) pixéis. Os resultados são apresentados na figura 4.18.

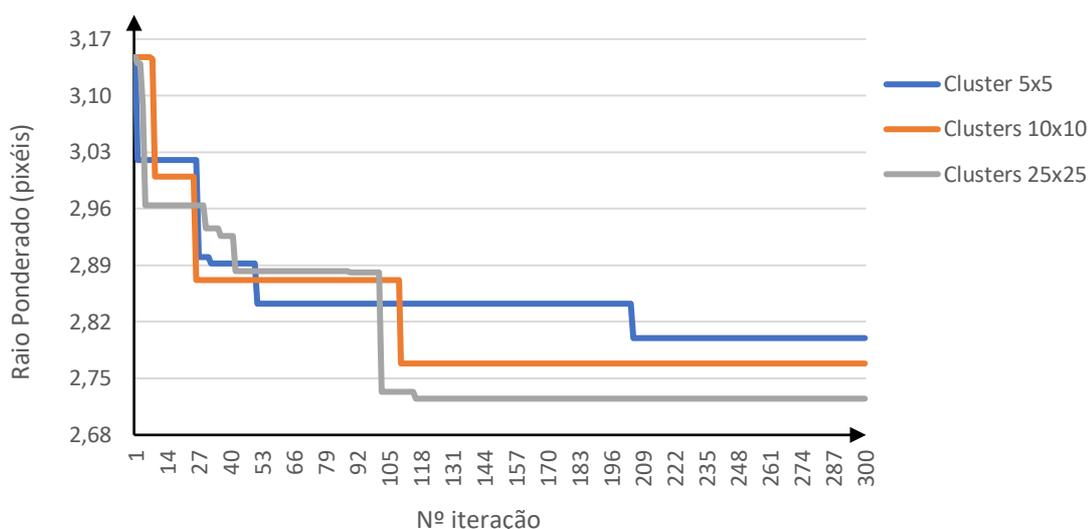


Figura 4.18: Método Iterativo, Abordagem 2 - Gráfico de convergência do algoritmo com detetor a 10 mm de profundidade, Grid Sag de 250 pixels x 250 pixels e tamanho de clusters da matriz sag: 5x5, 10x10 e 25x25 pixels. Algoritmo processado com 300 iterações.

Através da análise do gráfico da figura 4.18, observa-se que as curvas de evolução dos algoritmos utilizando matrizes com clusters de diferentes dimensões apresentam um perfil algo similar, verificando-se que até ter decorrido a primeira metade do algoritmo (150 iterações) a maior parte das “melhorias” (diminuições do valor do raio ponderado) já ocorreram (com exceção da curva azul em que se denota uma diminuição do raio ponderado inferior a 1% na iteração 205), pelo que, até ao fim da execução do algoritmo as curvas possuem um perfil constante. Para além disso, é possível constatar que aumentando o tamanho (em número de pixels) dos clusters que compõe a matriz Sag, o valor mínimo do raio ponderado da curva associada é menor, pelo que a percentagem de melhoria será maior, tal como descrito pela tabela 4.7.

A tabela 4.7 reúne os valores obtidos para o raio ponderado inicial e melhor raio ponderado calculados a 10 mm de profundidade no interior do fantoma, em 3 sistemas cujas condições se encontram anteriormente definidas. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel do detetor tem 0,48 mm (ver secção 4.2).

Tabela 4.7: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado inicial e melhor raio ponderado (mais baixo) calculados a 10 mm de profundidade e utilizando uma Grid Sag de 250pixéis x 250pixéis constituída por clusters de 5x5, 10x10 e 25x25 pixéis, ao fim de 300 iterações. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 0,48 mm.

10 mm	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Melhor Raio Ponderado (Pixéis)	% Melhoria	Melhor teste (dados tabela 4.4 e 4.6)
Cluster 5x5	3,15	2,80	11,05 %	12,67 %
Cluster 10x10	3,15	2,77	12,05 %	10,04 %
Cluster 25x25	3,15	2,72	13,43 %	-

De acordo com os dados presentes na tabela 4.7, verifica-se que a utilização de clusters de 5pixéis x 5pixéis promoveu uma redução do valor do raio ponderado de 3,15 pixéis (1512,00 μm) para 2,80 pixéis (1344,00 μm), o equivalente a uma melhoria de 11,05 %. Este resultado é inferior à percentagem obtida no melhor teste nas mesmas condições, mas utilizando uma Grid Sag padrão de 50pixéis x 50pixéis composta por clusters de 5pixéis x 5pixéis, onde se registou uma melhoria de 12,67 % (tabela 4.4)). No segundo teste efetuado, recorrendo a clusters de 10pixéis x 10pixéis, obteve-se uma redução do raio ponderado de 3,15 pixéis (1512,00 μm) para 2,77 pixéis (1329,60 μm), correspondendo a uma melhoria de 12,05 %. Este é um valor ligeiramente superior àquele obtido no teste efetuado a 10 mm de profundidade em que se utilizou uma Grid Sag de 50pixéis x 50pixéis com clusters de 10pixéis x 10pixéis, tendo-se verificado uma % de melhoria de 10,04 % (tabela 4.5).

Finalmente, para esta segunda abordagem iterativa, a utilização de clusters de 25pixéis x 25pixéis representa a situação onde se obteve uma percentagem de melhoria superior (13,43 %) relativamente a qualquer um dos testes efetuados com o detetor a 10 mm de profundidade e em que o valor do raio ponderado inicial de 3,15 pixéis (1512,00 μm) se reduz para 2,72 pixéis (1305,6 μm).

Apesar destes resultados sugerirem boas indicações relativamente à possibilidade de utilização de uma Grid Sag com um maior número de pixéis, seria pertinente a realização de mais testes, preferencialmente com um número superior de iterações.

4.2.3 Discussão

Para possibilitar a modelação de frentes de onda de um feixe de luz de forma iterativa, foram desenvolvidas duas abordagens/algoritmos para alterar a configuração da Grid Sag

de modo a diminuir o valor do raio ponderado do feixe em profundidade no interior do fantoma de pele. Cada uma destas abordagens começou por ser avaliada em 3 testes com 300 iterações a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, tendo-se verificado que a Abordagem 1 não só apresentou as maiores reduções no valor do raio ponderado, como também obteve uma percentagem de melhoria média superior em relação à Abordagem 2 em qualquer profundidade (ver tabela D.1, apêndice D).

Seguidamente, foram efetuados dois testes com 2000 iterações; um a 5 mm e outro a 10 mm de profundidade, tendo-se igualmente concluído que a Abordagem 1 apresentou resultados iguais ou superiores em relação à segunda abordagem.

Posteriormente, foram testadas adaptações específicas das abordagens a variações de parâmetros como o número de pixéis da matriz sag ou o número de pixéis dos clusters da mesma matriz. Aqui, a Abordagem 2 apresentou o seu melhor resultado em testes efetuados a 10 mm de profundidade, recorrendo a um sistema utilizando uma matriz de 250pixéis x 250pixéis constituída por clusters de 25pixéis x 25pixéis.

No cômputo geral, a Abordagem 1 apresenta-se como o melhor algoritmo uma vez que obteve os melhores resultados percentuais e absolutos no que diz respeito à diminuição do valor do raio ponderado calculado nas diferentes profundidades estudadas. Todavia, é necessário testar estes algoritmos um maior número de vezes e com um superior número de iterações, apesar de acreditarmos na fiabilidade dos resultados e na possibilidade dos algoritmos se tornarem uma ferramenta de estudo para investigadores. Em anexo encontra-se uma tabela de resultados comparativa (Apêndice D).

4.3 Método Não Iterativo

Nesta secção são igualmente apresentados os resultados obtidos para os sistemas envolvendo a modelação do feixe LASER através de um processo não iterativo de configuração da Grid Sag, segundo duas diferentes abordagens. Para estudar a eficácia deste método, foi também analisado a convergência do raio ponderado e a sua relação com o número de pixéis (espelhos) da Grid Sag e resolução dos detetores. Relativamente à Abordagem 2, verificou-se que é possível dotar a configuração da Grid Sag de uma forma tal que permita diminuir o valor do raio ponderado. Para estas simulações, considere-se por defeito, os respetivos sistemas constituídos por dois detetores quadrados padrão de 10mm x 10mm constituídos por 300pixéis x 300pixéis (1/30 mm/pixel) e uma Grid Sag composta por uma matriz de 300pixéis x 300pixéis. Refira-se que o valor obtido para o raio ponderado sem difusão a 5 mm de profundidade foi de 40,00 μm .

4.3.1 Resultados Abordagem 1

No que se refere à primeira abordagem não iterativa, que consistiu no método de conjugação de fase de frentes de onda do feixe de luz, foi estudado a relação entre o número de pixels da Grid Sag (e, conseqüentemente, do **detetor 2**) e o número de pixels do **detetor 1** inserido no interior do fantoma, onde é calculado o raio ponderado (ver figura 3.13, subcapítulo 3.2.4.2). Assim, foram efetuados 9 testes com combinações entre 3 detetores e 3 Grid Sag diferentes constituídas por 200x200, 250x250 e 300x300 pixels e de dimensão 10mm x 10mm. Na tabela 4.8 estão compilados os resultados obtidos.

Tabela 4.8: Método Não Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado calculados a 5 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo, para um total de 9 testes com combinações onde se utilizaram 3 detetores e 3 Grid Sag diferentes constituídas por 200x200, 250x250 e 300x300 pixels. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais.

	Raio Ponderado Inicial (Pixels)	Raio Ponderado após algoritmo (Pixels)	% Melhoria
Detetor 1 200pixels x 200pixels 1 pixel = 1/20 mm			
Grid Sag 200x200	15,07	14,58	3,24 %
Grid Sag 250x250	15,07	14,55	3,46 %
Grid Sag 300x300	15,07	13,76	8,68 %
Detetor 1 250pixels x 250pixels 1 pixel = 1/25 mm			
Grid Sag 200x200	16,40	15,65	4,60 %
Grid Sag 250x250	16,40	14,10	14,05 %
Grid Sag 300x300	16,40	15,74	4,03 %
Detetor 1 300pixels x 300pixels 1 pixel = 1/30 mm			
Grid Sag 200x200	17,91	15,71	12,30 %
Grid Sag 250x250	17,91	15,94	11,02 %
Grid Sag 300x300	17,91	14,15	21,01 %

Efetuando uma análise aos dados descritos na tabela 4.8, observa-se que em qualquer um dos 9 testes efetuados a aplicação deste algoritmo permitiu a diminuição do valor do raio ponderado e conseqüente melhoria na focagem de luz a 5 mm de profundidade no interior do fantoma, pelo que o objetivo primário foi alcançado. No entanto, os resultados são inconclusivos no que diz respeito à ocorrência de um padrão que indicasse, por exemplo, que aumentando o número de pixels da Grid Sag se verificaria uma redução mais acentuada no valor do raio ponderado antes e depois da aplicação do algoritmo. Esta hipótese

seria suportada pelo facto de, quanto maior a resolução da Grid Sag (resultado de um número de pixéis superior por unidade de área), maior a informação contida num pixel (ou espelho) sobre a fase das frentes de onda do feixe que saíram do meio túrbido, pelo que, teoricamente, os efeitos de difusão causados pelo fantoma seria suprimidos em maior percentagem após a aplicação do algoritmo, tendo sido essa a razão que levou à utilização de várias Grid Sag com um número de pixéis muito superior ao número de pixéis das Grid Sag utilizadas no método iterativo.

De entre os resultados obtidos para o valor do raio ponderado após a execução do algoritmo, aqueles que serão mais relevantes do ponto de vista do objetivo deste estudo, ocorreram em testes que envolveram a utilização de um **detetor (1)** de 300pixéis x 300pixéis, dotado de uma elevada resolução. Nos 3 testes efetuados com este **detetor 1**, a hipótese anteriormente referida esteve perto de ser concretizada, tendo-se inclusivamente verificado que o sistema que utilizou uma Grid Sag de 300pixéis x 300 pixéis obteve uma melhoria de 21,01% o que se traduziu numa diminuição no valor do raio ponderado de 17,91 pixéis (597,00 μm) para 14,15 pixéis (471,67 μm). Esta percentagem de melhoria representa um valor bastante considerável, tendo em conta que está a ser avaliada a capacidade de reconstrução de frentes de onda até 5 mm de profundidade, e que a melhor percentagem de melhoria que se conseguiu obter no método iterativo em qualquer uma das abordagens desenvolvidas foi de 9,69 % (tabela 4.1 – secção 4.2.1)

Visualmente, encontra-se em anexo (apêndice E) a figura que ilustra o melhor resultado presente na tabela 4.8 sob a forma de matrizes de irradiância normalizadas e não normalizadas, obtidas pelo **detetor 1** antes e depois de aplicado o algoritmo.

4.3.2 Resultados Abordagem 2

Para esta segunda abordagem não iterativa foi igualmente confirmada a capacidade do algoritmo desenvolvido em modelar o feixe de luz permitindo a diminuição do valor do raio ponderado. Assim, este sistema produziu os resultados presentes na tabela 4.9 quando utilizada uma Grid Sag neutra e depois da aplicação do algoritmo com a Grid Sag configurada e o feixe modelado. O **detetor 1** padrão utilizado para calcular o valor do raio ponderado, foi posicionado a 5 mm de profundidade no interior do fantoma. As unidades destes valores estão em “pixel”, sendo que cada pixel do detetor tem 1/30 mm (ver secção 4.3).

Tabela 4.9: Método Não Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor do raio ponderado calculados a 5 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo, utilizando uma Grid Sag de 300pixéis x 300pixéis. Foi ainda calculado a % Melhoria entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais e 1 pixel = 1/30 mm.

Resultados obtidos			
Profundidade detetor	Raio Ponderado Inicial (Pixéis)	Raio Ponderado após algoritmo (Pixéis)	% Melhoria
5 mm	17,91	14,14	21,06 %

A partir dos dados da tabela 4.9, podemos observar que ocorreu uma redução do valor do raio ponderado inicial de 17,91 pixéis (597,00 μm) para 14,14 pixéis (471,33 μm), equivalente a 21,06 %.

Em anexo (Apêndice E) são apresentadas as matrizes de irradiância normalizadas e não normalizadas obtidas pelo detetor 1 antes e depois de aplicado o algoritmo.

4.3.3 Discussão

Os dois algoritmos não iterativos desenvolvidos para modelação de feixes de luz apresentam resultados promissores para estudos futuros, uma vez que o sistema foi implementado em ambiente ZEMAX™, e a programação em MATLAB® está também otimizada e pronta para ser aplicada. No entanto, os testes efetuados foram apenas preliminares e em número reduzido para produzir conclusões válidas sobre padrões ou influências de certas variáveis no cálculo do raio ponderado do feixe. Os algoritmos desenvolvidos deverão ser testados noutras profundidades e num número superior de vezes, recorrendo a sistemas cujos componentes apresentem propriedades distintas entre diferentes testes (como o número de pixéis dos detetores e da matriz Sag...).

Para além disso, apesar de terem sido registadas melhorias (algumas delas consideráveis) do raio ponderado após modelação do feixe utilizando o sistema montado em ZEMAX™, este poderá ainda ser melhorado. Uma sugestão que poderia aumentar ainda mais a eficiência do processo reduzindo o valor do raio ponderado, seria utilizar um feixe de luz com um número superior de raios (10 milhões, por exemplo, e não 100 000, como foram utilizados) de modo a que o número de raios de luz que sai do fantoma e atinge o detetor, onde a informação sobre a sua fase é analisada, seja superior, proporcionando assim uma maior quantidade de informação para o algoritmo processar e, conseqüentemente, gerar frentes de onda melhor modeladas e adaptadas ao meio que irão atravessar. Outra hipótese

que poderá conduzir a uma melhoria dos resultados será testar qual a posição ideal para colocar as lentes convergentes do sistema (figura 3.13, secção 3.2.4.2) de modo a que os raios que saem difusos do interior do fantoma, em direções completamente aleatórias, sejam captados por essas lentes que têm a capacidade de os fazer convergir em direção aos detetores, onde será processada a informação útil que trazem consigo.

Conclusão

5.1 Conclusão

A maior contribuição deste trabalho foi o desenvolvimento de diferentes abordagens e respetivos sistemas para promover a focagem (concentração) de luz no interior de tecidos biológicos, como a pele humana.

Começou por ser estudado a capacidade auto reconstrutiva dos feixes de Bessel, originados por lentes do tipo *Axicon*, na formação de um foco de luz com um padrão anelar no interior do fantoma. Este primeiro método não obteve os resultados desejados devido a limitações do *software* ZEMAX™ que não demonstra capacidade em reproduzir o efeito que seria expectável.

Em seguida, utilizando programação em linguagem MATLAB®, foram desenvolvidos quatro novos algoritmos para modelar as frentes de onda de um feixe de luz. Estes algoritmos consistem em modificar a configuração de um espelho deformável (Grid Sag) através da produção de matrizes de fase segundo um método iterativo e não iterativo para que as frentes de onda do feixe, ao incidirem sobre a Grid Sag, alterem a sua fase e consigam melhor adaptar-se às características do meio túrbido, favorecendo a formação de um foco concentrado de luz em profundidade. Adicionalmente, um conjunto de testes foi efetuado para cada algoritmo para efeitos de otimização, avaliação da convergência do raio ponderado do feixe (parâmetro de comparação) e comparação de resultados.

Em face dos resultados obtidos, demonstrou-se, em primeiro lugar, que a formação de vários simuladores funcionais em ZEMAX™ foi alcançada. Após uma análise dos resultados, verifica-se que ao utilizar um feixe de luz modelado por uma Grid Sag modificada, quando comparado com um feixe de luz refletido por um espelho simples (Grid Sag

neutra), é possível obter reduções consideráveis do raio ponderado do feixe, contrariando assim o efeito da difusão causado pelo fantoma de pele.

A possibilidade de concentrar a luz numa área reduzida apresenta-se como uma vantagem em técnicas que impliquem uma irradiação muito seletiva de uma área alvo, pelo que estes resultados poderão ser úteis para estimar com maior grau de precisão qual a potência do feixe de luz necessária para se obter nessa área alvo a irradiância desejada, e evitando por conseguinte, com que a área circundante seja sujeita a níveis de radiação indesejados.

Como exemplo, considere-se um qualquer procedimento que necessite de irradiar com 100 W/cm^2 uma área circular com $300 \mu\text{m}$ de raio a cerca de 5 mm de profundidade num meio biológico. Admita-se também que este é um sistema perfeito onde toda a potência incidente atinge o detetor. Caso não haja um sistema que controle a modelação do feixe e o melhor raio que se consegue obter sem modelação for, por exemplo, $500 \mu\text{m}$, é preciso utilizar uma fonte com cerca de 785 mW para irradiar a área pretendida com a irradiância desejada, não esquecendo o prejuízo sobre as células saudáveis na área circundante. Na eventualidade deste mesmo procedimento usufruir de um sistema que permita a modelação não iterativa do feixe (por exemplo), e desse modo consiga atingir uma área 20 % menor (equivalente a $400 \mu\text{m}$) que aquela obtida pelo sistema não modelado a potência da fonte utilizada seria de cerca de 502 mW. Tal acarretaria diversos benefícios tais como evitar gastos desnecessários em fontes mais potentes para além de minimizar os efeitos secundários em células saudáveis por delimitação da área alvo.

5.2 Trabalho futuro

Dada a natureza experimental deste trabalho, existe muito espaço para o seu desenvolvimento e melhoria sendo que os algoritmos implementados poderão, inclusivamente, ser adaptados noutros contextos.

Primeiramente, o número de testes efetuados com os algoritmos deverá aumentar e serem processados com um maior número de iterações, tendo sido estas uma das principais limitações no trabalho desenvolvido. De facto, cada teste corrido no método iterativo com 300 e 2000 iterações demorou, em média, cerca de 2 horas e 30 minutos e 14 horas, respetivamente. Já os testes no método não iterativo, rondaram um tempo médio de execução próximo dos 40 minutos. Com estes dados, naturalmente se compreende que a velocidade de execução dos algoritmos de configuração da Grid Sag, apesar de eficazes na obtenção de resultados, é bastante lenta, pelo que o número de iterações em cada teste foi

condicionado por limitações do *hardware* do computador e pelo tempo disponível para a execução das mesmas.

Adicionalmente, como o modelo de Monte Carlo é o processo de simulação de propagação de luz utilizado em ZEMAX™ e tem um carácter aleatório, seria benéfico a introdução de um algoritmo *deep learning* capaz de compreender a informação estatística associada ao movimento dos fotões no interior do meio túrbido, e conectar esses dados para otimização dos algoritmos já desenvolvidos, resultando num processo de reconstrução de frentes de onda bastante mais seletiva da qual se preveem resultados ainda mais produtivos.

Finalmente, os sistemas de simulação desenvolvidos poderão também vir a ser muito úteis em trabalhos futuros relacionados com esta área, sendo uma alternativa economicamente viável em relação a dispendiosas montagens laboratoriais para estudos preliminares.

No futuro, pretende-se que os sistemas projetados sejam aplicados em situações de montagem experimental real utilizando amostras de tecido biológico para testes de aplicações médicas, como no tratamento de cancros.

Bibliografia

- [1] L. A. Torre, R. L. Siegel, E. M. Ward, and A. Jemal, "Global cancer incidence and mortality rates and trends - An update," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 25, no. 1, pp. 16–27, 2016.
- [2] K. D. Miller *et al.*, "Cancer treatment and survivorship statistics, 2016," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 66, no. 4, pp. 271–289, 2016.
- [3] K. Block *et al.*, "A Broad-spectrum Integrative Prevention Design for Cancer Prevention and Therapy," *Semin. Cancer Biol.*, vol. 35, no. Suppl, pp. S276–S304, 2015.
- [4] R. Baskar, K. A. Lee, R. Yeo, and K. W. Yeoh, "Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions," *Int. J. Med. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 193–199, 2012.
- [5] A. K. Mitra *et al.*, "Novel delivery approaches for cancer therapeutics," *J. Control. Release*, vol. 219, pp. 248–268, Dec. 2015.
- [6] H. Hirschberg and S. J. Madsen, "Cell Mediated Photothermal Therapy of Brain Tumors," *J. Neuroimmune Pharmacol.*, vol. 12, no. 1, pp. 99–106, Mar. 2017.
- [7] I. M. Vellekoop, A. Lagendijk, and A. P. Mosk, "Exploiting disorder for perfect focusing," *Nat. Photonics*, vol. 4, no. 5, pp. 320–322, 2010.
- [8] F. Stuker, J. Ripoll, and M. Rudin, "Fluorescence molecular tomography: Principles and potential for pharmaceutical research," *Pharmaceutics*, vol. 3, no. 2, pp. 229–274, 2011.
- [9] D. B. Conkey, A. M. Caravaca-Aguirre, and R. Piestun, "High-speed scattering medium characterization with application to focusing light through turbid media," *Opt. Express*, vol. 20, no. 2, p. 1733, 2012.
- [10] I. M. Vellekoop, "Controlling the propagation of light in disordered scattering media," 2008.
- [11] A. X. Cong, H. Shen, W. Cong, and G. Wang, "Improving the accuracy of the diffusion model in highly absorbing media," *Int. J. Biomed. Imaging*, vol. 2007, 2007.
- [12] K. Wang, Q. Wang, Q. Luo, and X. Yang, "Fluorescence molecular tomography in the second near-infrared window," *Opt. Express*, 2015.
- [13] B. Zhu and A. Godavarty, "Near-Infrared Fluorescence-Enhanced Optical Tomography," vol. 2016, 2016.
- [14] J. G. Fujimoto, C. Pitris, S. A. Boppart, and M. E. Brezinski, "Optical coherence tomography: An emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy," *Neoplasia*, vol. 2, no. 1–2, pp. 9–25, 2000.

- [15] Y. Hoshi and Y. Yamada, “Overview of diffuse optical tomography and its clinical applications,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 9, p. 091312, 2016.
- [16] A. H. Hielscher *et al.*, “Near-infrared diffuse optical tomography,” *Dis. Markers*, vol. 18, no. 5–6, pp. 313–337, 2002.
- [17] D. P. Popescu *et al.*, “Optical coherence tomography: Fundamental principles, instrumental designs and biomedical applications,” *Biophys. Rev.*, vol. 3, no. 3, pp. 155–169, 2011.
- [18] Y. M. Wang, B. Judkewitz, C. A. Dimarzio, and C. Yang, “Deep-tissue focal fluorescence imaging with digitally time-reversed ultrasound-encoded light,” *Nat. Commun.*, vol. 3, no. May, p. 928, 2012.
- [19] M. Nixon *et al.*, “Real-time wavefront shaping through scattering media by all-optical feedback,” *Nat. Photonics*, no. October, pp. 1–6, 2013.
- [20] N. Devaney *et al.*, “Correction of ocular and atmospheric wavefronts: A comparison of the performance of various deformable mirrors,” *Appl. Opt.*, vol. 47, no. 35, pp. 6550–6562, 2008.
- [21] and A. P. M. E.G. van Putten, A. Lagendijk, “Optimal Concentration of Light in Turbid Materials,” *Org. Biomol. Chem.*, 2010.
- [22] T. S. Tkaczyk, “Phase Contrast,” *F. Guid. to Microsc.*, vol. 121, no. 3141, pp. 66–68, 2010.
- [23] V. Chhaniwal, A. S. G. Singh, R. A. Leitgeb, B. Javidi, and A. Anand, “Quantitative phase-contrast imaging with compact digital holographic microscope employing Lloyd’s mirror,” *Opt. Lett.*, 2012.
- [24] K. R. Lee *et al.*, “Quantitative phase imaging techniques for the study of cell pathophysiology: From principles to applications,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 13, no. 4, pp. 4170–4191, 2013.
- [25] D. Kim, S. Lee, M. Lee, J. Oh, S.-A. Yang, and Y. Park, “Refractive index as an intrinsic imaging contrast for 3-D label-free live cell imaging,” *bioRxiv*, no. Koss 1989, p. 106328, 2017.
- [26] L. V. W. Xiao Xu, Honglin Liu, “Time-reversed ultrasonically encoded optical focusing into scattering media,” vol. 5, no. 3, pp. 1–8, 2011.
- [27] S. Rotter, P. Ambichl, and F. Libisch, “Generating particlelike scattering states in wave transport,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 106, no. 12, 2011.
- [28] O. Phase, C. For, T. Suppression, and I. N. B. Samples, “Optical Phase Conjugation for Turbidity Suppression in Biological Samples,” *Nat. Photonics*, vol. 2, no. 2, pp. 110–115, 2009.
- [29] E. G. Van Putten, “Focussing of light inside turbid media,” 2007.
- [30] I. M. Vellekoop and A. P. Mosk, “Universal optimal transmission of light through disordered materials,” no. 1, pp. 1–4, 2008.
- [31] A. G. Smart, “Time reversal produces optical focusing in scattering media,” vol. 64, no. 3, 2011.

- [32] I. M. Vellekoop and A. P. Mosk, “Phase control algorithms for focusing light through turbid media,” *Opt. Commun.*, vol. 281, no. 11, pp. 3071–3080, 2008.
- [33] J. Ježek, T. Cizmar, V. Nedela, and P. Zemánek, “Formation of long and thin polymer fiber using nondiffracting beam,” *Opt. Express*, vol. 14, no. 19, p. 8506, 2006.
- [34] F. O. Fahrbach and A. Rohrbach, “A line scanned light-sheet microscope with phase shaped self-reconstructing beams,” *Opt. Express*, vol. 18, no. 23, p. 24229, 2010.
- [35] F. O. Fahrbach, P. Simon, and A. Rohrbach, “Microscopy with self-reconstructing beams,” *Nat. Photonics*, vol. 4, no. 11, pp. 780–785, 2010.
- [36] I. M. Vellekoop and A. P. Mosk, “Focusing coherent light through opaque strongly scattering media,” *Opt. Lett.*, vol. 32, no. 16, p. 2309, 2007.
- [37] T. Chaigne, O. Katz, A. C. Boccara, M. Fink, E. Bossy, and S. Gigan, “Controlling light in scattering media non-invasively using the photoacoustic transmission matrix,” *Nat. Photonics*, 2014.
- [38] S. M. Popoff, G. Lerosey, M. Fink, A. C. Boccara, and S. Gigan, “Controlling light through optical disordered media: Transmission matrix approach,” *New J. Phys.*, 2011.
- [39] I. Vellekoop and A. Mosk, “Focusing of light by random scattering,” p. 5, 2006.
- [40] Y. Guan, O. Katz, E. Small, J. Zhou, and Y. Silberberg, “Polarization control of multiply scattered light through random media by wavefront shaping,” *Opt. Lett.*, 2012.
- [41] E. Small, O. Katz, Y. Guan, and Y. Silberberg, “Spectral control of broadband light through random media by wavefront shaping,” *Opt. Lett.*, 2012.
- [42] H. Yu, K. Lee, and Y. Park, “Ultrahigh enhancement of light focusing through disordered media controlled by mega-pixel modes,” *Opt. Express*, 2017.
- [43] Z. Yu, H. Li, and P. Lai, “Wavefront shaping and its application to enhance photoacoustic imaging,” *Appl. Sci.*, vol. 7, no. 12, 2017.
- [44] G. S. He, “Optical phase conjugation: Principles, techniques, and applications,” *Progress in Quantum Electronics*. 2002.
- [45] H. Yu *et al.*, “Recent advances in wavefront shaping techniques for biomedical applications,” *Current Applied Physics*. 2015.
- [46] S. H. Tseng and C. Yang, “2-D PSTD Simulation of optical phase conjugation for turbidity suppression,” *Opt. Express*, 2007.
- [47] Y. Pu and D. Psaltis, “Seeing through turbidity with harmonic holography [Invited],” *Appl. Opt.*, 2013.
- [48] B. R. Masters, “Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues,” *J. Biomed. Opt.*, 2012.
- [49] Y. Liu, C. Ma, Y. Shen, J. Shi, and L. V. Wang, “Focusing light inside dynamic scattering media with millisecond digital optical phase conjugation,” *Optica*, 2017.

- [50] D. Wang, E. H. Zhou, J. Brake, H. Ruan, M. Jang, and C. Yang, “Focusing through dynamic tissue with millisecond digital optical phase conjugation,” *Optica*, 2015.
- [51] I. M. Vellekoop, M. Cui, and C. Yang, “Digital optical phase conjugation of fluorescence in turbid tissue,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 101, no. 8, pp. 8–12, 2012.
- [52] M. Cui, K. Si, and R. Fiolka, “Fluorescence microscopy beyond the ballistic regime by ultrasound pulse guided digital phase conjugation.pdf.”
- [53] X. Yang, C. Hsieh, Y. Pu, and D. Psaltis, “Three-dimensional scanning microscopy through thin turbid media,” vol. 20, no. 3, pp. 2500–2506, 2012.
- [54] C.-L. Hsieh, Y. Pu, R. Grange, and D. Psaltis, “Digital phase conjugation of second harmonic radiation emitted by nanoparticles in turbid media,” *Opt. Express*, 2010.
- [55] M. Tziraki, R. Jones, P. M. W. French, M. R. Melloch, and D. D. Nolte, “Photorefractive holography for imaging through turbid media using low coherence light,” *Appl. Phys. B*, vol. 70, no. 1, pp. 151–154, 2000.
- [56] A. Kumar and V. Dangi, “Electromagnetic Spectrum and Its Impact on Human Life,” *Int. J. All Res. Educ. Sci. Methods*, 2016.
- [57] R. R. Birge, “Introduction to Biophotonics . By Paras N Prasad. Hoboken (New Jersey): Wiley- Interscience . \$99.95. xvii + 593 p + 8 pl; ill.; index. ISBN: 0–471–28770–9. 2003. ,” *Q. Rev. Biol.*, 2004.
- [58] J. Manuel, T. Pereira, A. Da, and N. Da, “Jorge Manuel Torres Pereira IST, 2002.”
- [59] J. Güémez and M. Fiolhais, “Relativistic description of the photoelectric effect,” *Am. J. Phys.*, 2018.
- [60] “Mosby’s medical dictionary,” *Choice Rev. Online*, 2010.
- [61] Y. Y. Masayuki Yagi, “Glycative stress and anti-aging: 7. Glycative stress and skin aging,” *Glycative Stress Res.*, 2018.
- [62] A. Kierszenbaum and L. Tres, “Histología y biología celular,” in *Introducción a la anatomía patológica 3 ed*, 2012.
- [63] T. Chaigne, “Control of scattered coherent light and photoacoustic imaging : toward light focusing in deep tissue and enhanced , sub-acoustic resolution photoacoustic imaging,” 2016.
- [64] M. Li, “Developing a technique for combining light and ultrasound for deep tissue imaging,” no. May, 2018.
- [65] F. Vasefi, P. K. Y. Chan, B. Kaminska, G. H. Chapman, and N. Pfeiffer, “An Optical Imaging Technique Using Deep Illumination in the Angular Domain,” *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, vol. 13, no. 6, pp. 1610–1620, 2007.
- [66] G. Satat, “Imaging Through Scattering,” no. 2013, 2015.
- [67] A. Vogel and V. Venugopalan, “Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues,” *Chemical Reviews*. 2003.
- [68] M. A. Ansari, M. Erfanzadeh, Z. Hosseini, and E. Mohajerani, “Diffuse optical tomography: Image reconstruction and verification,” *J. Lasers Med. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 13–18, 2014.

- [69] L. V. Wang and Hsin-I Wu, *Biomedical Optics: Principles and Imaging*. 2012.
- [70] V. V. Tuchin, “Light scattering study of tissues,” *Uspekhi Fizicheskikh Nauk*. 1997.
- [71] S. L. Jacques, “Optical properties of biological tissues: A review,” *Physics in Medicine and Biology*. 2013.
- [72] D. E. L. U. Pierre and E. T. Marie, “Acousto-optic and photoacoustic imaging of scattering media using wavefront adaptive holography techniques in NdYO4 Baptiste Jayet To cite this version : Sujet de la thèse : Acousto-optic and photoacoustic imaging of scattering media using wavefront adapt,” 2015.
- [73] MaximIntegrated, “Understanding Penetration Depth Vs. Wavelength for Biosensor Applications,” pp. 1–10.
- [74] E. Berrocal, D. L. Sedarsky, M. E. Paciaroni, I. V Meglinski, and M. A. Linne, “Laser light scattering in turbid media Part I : Experimental and simulated results for the spatial intensity distribution,” vol. 15, no. 17, pp. 159–170, 2007.
- [75] K. W. Calabro and I. J. Bigio, “Influence of the phase function in generalized diffuse reflectance models: review of current formalisms and novel observations,” *J. Biomed. Opt.*, 2014.
- [76] T. Lister, P. A. Wright, and P. H. Chappell, “Optical properties of human skin,” *J. Biomed. Opt.*, 2012.
- [77] I. M. Berke, J. P. Miola, M. A. David, M. K. Smith, and C. Price, “Seeing through musculoskeletal tissues: Improving in situ imaging of bone and the lacunar canalicular system through optical clearing,” *PLoS One*, 2016.
- [78] M. R. Hamblin and T. N. Demidova, “Mechanisms of low level light therapy,” in *Mechanisms for Low-Light Therapy*, 2006.
- [79] L. A. Sordillo, Y. Pu, S. Pratavieira, Y. Budansky, and R. R. Alfano, “Deep optical imaging of tissue using the second and third near-infrared spectral windows,” *J. Biomed. Opt.*, 2014.
- [80] J. L. Sandell and T. C. Zhu, “A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT,” *J. Biophotonics*, 2011.
- [81] W. F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch, “A Review of the Optical Properties of Biological Tissues,” *IEEE J. Quantum Electron.*, 1990.
- [82] I. B. Allemann and J. Kaufman, “Laser principles,” *Current Problems in Dermatology*. 2011.
- [83] F. Reza, K. A.M., A. Farzaneh, and T. Nikoo, “Laser in Orthodontics,” in *Principles in Contemporary Orthodontics*, 2011.
- [84] M. H. Niemz, J. Langer, and M. H. Niemz, *Laser-tissue interactions: fundamentals and applications*. 2007.
- [85] C. Raulin and S. Karsai, *Laser and IPL technology in dermatology and aesthetic medicine*. 2011.
- [86] R. Eze and S. Kumar, “Laser transport through thin scattering layers,” *Appl. Opt.*,

2010.

- [87] C. Ash, M. Dubec, K. Donne, and T. Bashford, "Effect of wavelength and beam width on penetration in light-tissue interaction using computational methods," *Lasers Med. Sci.*, 2017.
- [88] S. L. Jacques and L. Wang, "Monte Carlo Modeling of Light Transport in Tissues," in *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, 1995.
- [89] S. L. Jacques, "Monte Carlo modeling of light transport in tissue (Steady state and time of flight)," in *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, 2011.
- [90] L. Wang and S. Jacques, "Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues in standard C," *Univ. Texas*, 1992.
- [91] Y. Wang, S. Yan, A. T. Friberg, D. Kuebel, and T. D. Visser, "Electromagnetic diffraction theory of refractive axicon lenses," *J. Opt. Soc. Am. A*, 2017.
- [92] "File:Erzeugen von Besselstrahlen durch ein Axicon.png - Wikimedia Commons." [Online]. Available: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Erzeugen_von_Besselstrahlen_durch_ein_Axicon.png. [Accessed: 21-Sep-2019].
- [93] "Axicons." [Online]. Available: https://www.thorlabs.de/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=4277. [Accessed: 20-Sep-2019].
- [94] M. A. Ansari and E. Mohajerani, "Mechanisms of laser-tissue interaction: I. Optical properties of tissue," *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 2011.
- [95] M. Venkataram, A. Venkataram, and J. Venkataram, "Tumescent Local Anesthesia," in *ACS(I) Textbook of Cutaneous and Aesthetic Surgery (2 Volumes)*, 2018.
- [96] H. Ding, J. Q. Lu, W. A. Wooden, P. J. Kragel, and X. H. Hu, "Refractive indices of human skin tissues at eight wavelengths and estimated dispersion relations between 300 and 1600 nm," *Phys. Med. Biol.*, 2006.
- [97] O. D. Program and U. Manual, "ZEMAX ® Optical Design Program User ' s Manual," *Interface*, 2010.
- [98] V. V. Tuchin, "Polarized light interaction with tissues," *J. Biomed. Opt.*, 2016.

***Axicons*****A.1 Tabela Informativa *Axicons***

A tabela A.1 apresenta a compilação das dimensões dos seis Axicons reproduzidos em ZEMAX™ em modo sequencial e não sequencial. Valores retirados de [93].

Tabela A.1: Dimensões dos seis *Axicons* implementados em ZEMAX™.

Nº Axicon	α (graus)	Ângulo Cônico ($180^\circ - 2\alpha$)	Constante cônica	Diâmetro (mm)	Espessura (mm)
1	0,5	179	-13131,5587	25,4	5,1
2	1	178	-3283,1397	25,4	5,2
3	2	176	-821,0350	25,4	5,4
4	5	170	-131,6460	25,4	6,1
5	10	160	-33,1634	25,4	7,2
6	20	140	-8,5486	25,4	9,6



Método Iterativo

As figuras B.1 e B.2 ilustram os resultados referentes às matrizes de irradiância não normalizadas obtidas pelos detetores a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, segundo as duas diferentes Abordagens.

B.1 Matriz de Irradiâncias Não Normalizada - Abordagem 1

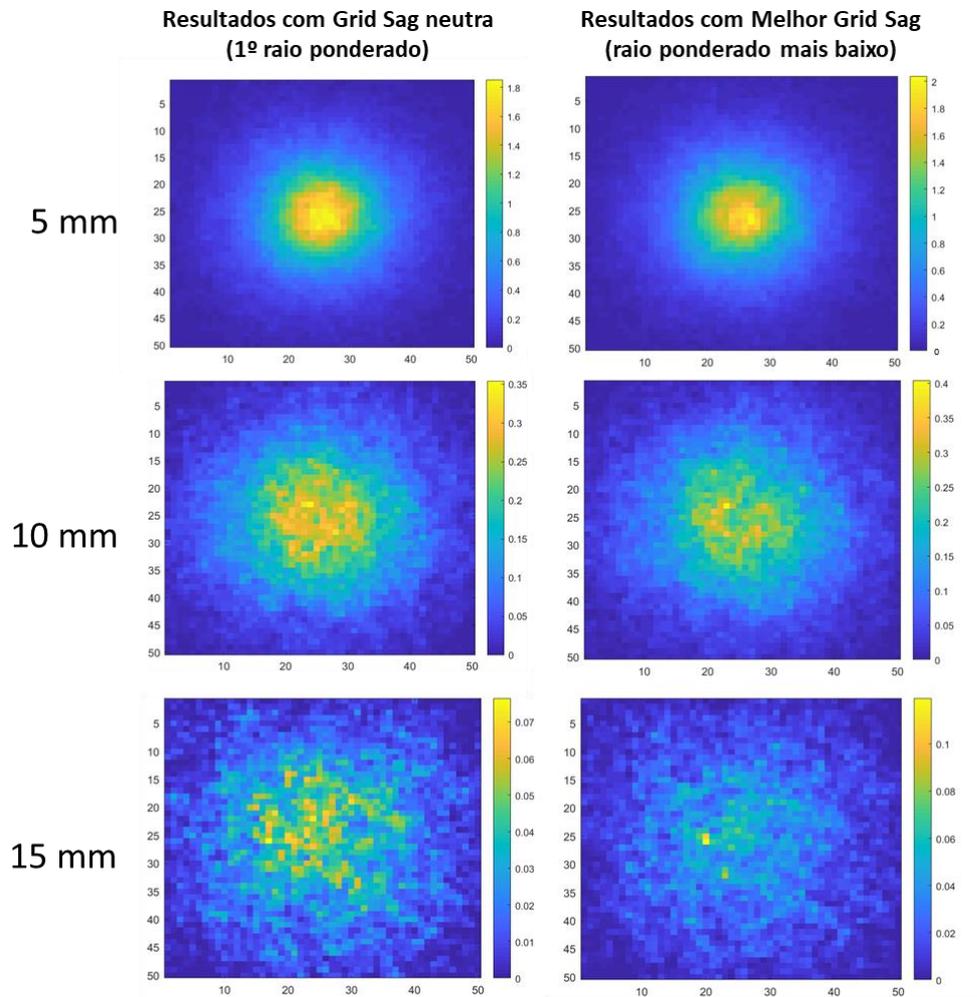


Figura B.1: Método Iterativo, Abordagem 1 - Matriz de irradiâncias não normalizada (Irradiância não normalizada (W/cm^2) vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma. Algoritmo concluído ao fim de 300 iterações.

A tabela seguinte (tabela B.1) resume os valores de irradiância máximas adquiridos pelo detetor com a Grid Sag neutra (“irradiância máxima inicial”) e após a aplicação do algoritmo com a melhor Grid Sag gerada de entre os 3 testes efetuados (“irradiância máxima após algoritmo”), para cada uma das diferentes profundidades estudadas.

Tabela B.1: Método Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag. Foi ainda calculado a % de Aumento do valor da irradiância entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais.

Resultados obtidos			
Profundidade detetor	Irradiância máxima Inicial (W/cm²)	Irradiância máxima após algoritmo (W/cm²)	% Aumento
5 mm	1,85	2,04	10,27 %
10 mm	0,35	0,40	14,28 %
15 mm	0,07	0,12	71,43 %

Através da análise dos dados da tabela B.1, verifica-se que houve de facto uma concentração do feixe após aplicação do algoritmo, comprovado por um aumento do valor de irradiância máxima obtido pelo detetor.

B.2 Matriz de Irradiâncias Não Normalizada - Abordagem 2

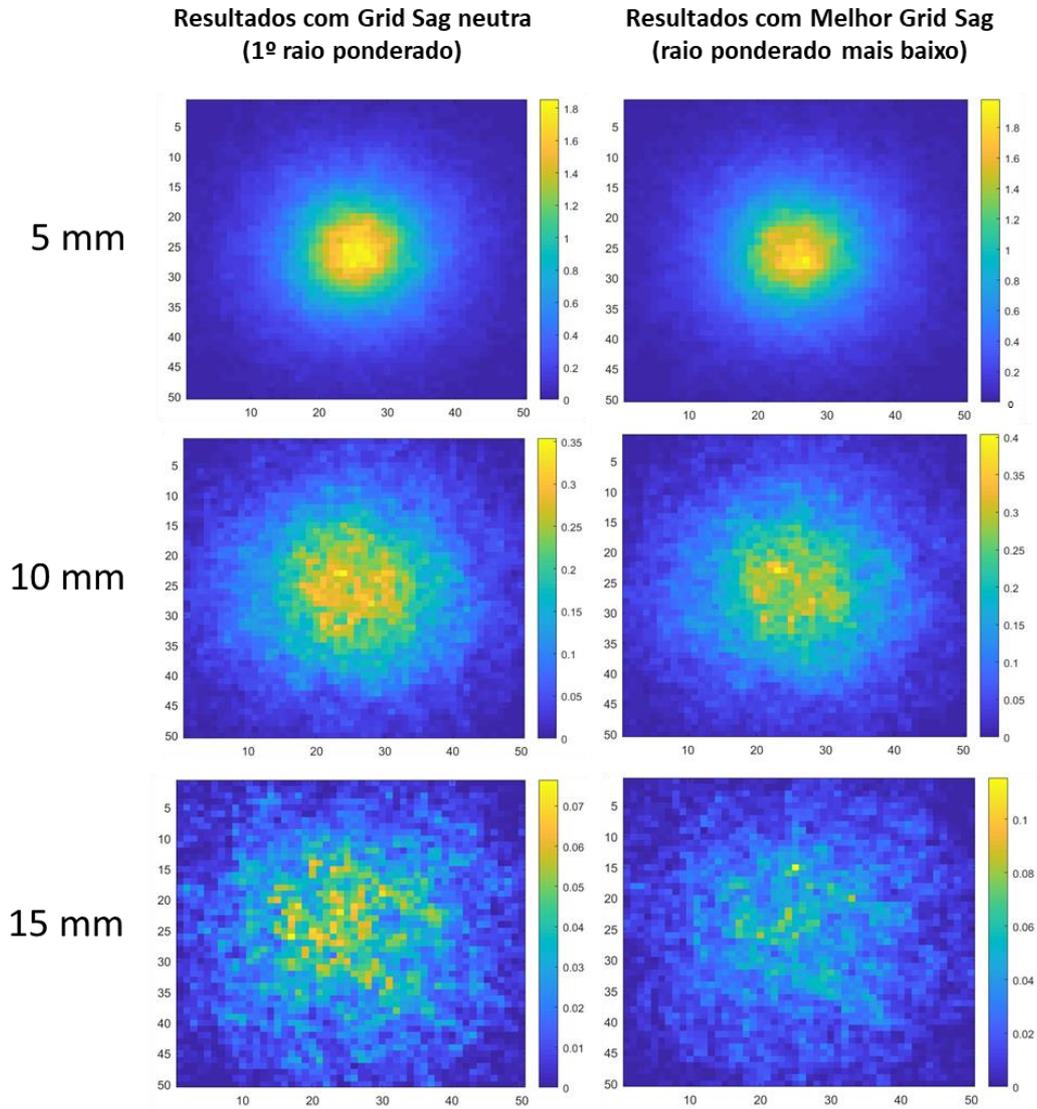


Figura B.2: Método Iterativo, Abordagem 2 - Matriz de irradiâncias não normalizada (Irradiância não normalizada (W/cm^2) vs. Nº Pixéis) obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade no interior do fantoma. Algoritmo concluído ao fim de 300 iterações.

À semelhança do que foi efetuado para a Abordagem 1 é apresentado seguidamente a tabela B.2 com os dados da irradiância máxima obtida com a Grid Sag neutra e com a melhor Grid Sag gerada pelo algoritmo.

Tabela B.2: Método Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag. Foi ainda calculado a % de Aumento do valor da irradiância entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais.

Resultados obtidos			
Profundidade detetor	Irradiância máxima Inicial (W/cm ²)	Irradiância máxima após algoritmo (W/cm ²)	% Aumento
5 mm	1,85	1,98	7,00 %
10 mm	0,35	0,40	14,28 %
15 mm	0,07	0,12	71,43 %

Os dados presentes na tabela B.2 sugerem que houve uma concentração do feixe após a aplicação do algoritmo, comprovado por um aumento do valor de irradiância máxima obtido pelo detetor, à semelhança do que havia acontecido na primeira abordagem.

Derivado o facto de os valores associados ao “melhor raio ponderado” (e, logicamente, correlacionados com o “melhor teste”) calculados a 10 mm e 15 mm de profundidade nos testes efetuados para as diferentes abordagens serem muito semelhantes (ver tabela D.1, Apêndice D), compreende-se que os valores de irradiância máxima associados aos mesmos testes sejam também muito próximos em ambas as abordagens.

Seguindo a mesma linha de raciocínio, verifica-se também que quando comparados os resultados dos melhores testes efetuados a 5 mm de profundidade em ambas as abordagens, a Abordagem 1 consegue um aumento percentual superior de irradiância máxima do feixe em relação à Abordagem 2 (10,27 % para 7,00 %), exatamente porque a Abordagem 1, no seu melhor teste, obtém um raio ponderado inferior relativamente àquele obtido pela Abordagem 2 no seu melhor teste.

Para além disso, o valor de irradiância máxima após aplicação do algoritmo verifica-se percentualmente superior à medida que a profundidade do detetor aumenta, algo que está identicamente relacionado com a percentagem de melhoria do raio ponderado, que, tal como analisado anteriormente, aumenta com a profundidade em ambas as abordagens (ver tabela D.1, Apêndice D).



Desvio padrão

Seguidamente são apresentados os gráficos do desvio padrão associados à média dos 3 testes efetuados a 5 mm, 10 mm e 15 mm de profundidade, segundo a Abordagem 1 e Abordagem 2 para o método iterativo.

C.1 Desvio Padrão Abordagem 1

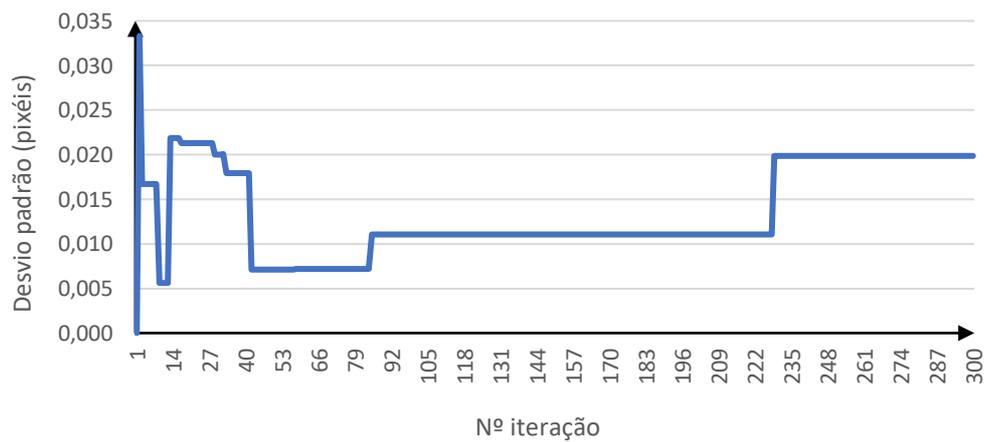


Figura C.1: Abordagem 1 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 5 mm de profundidade.

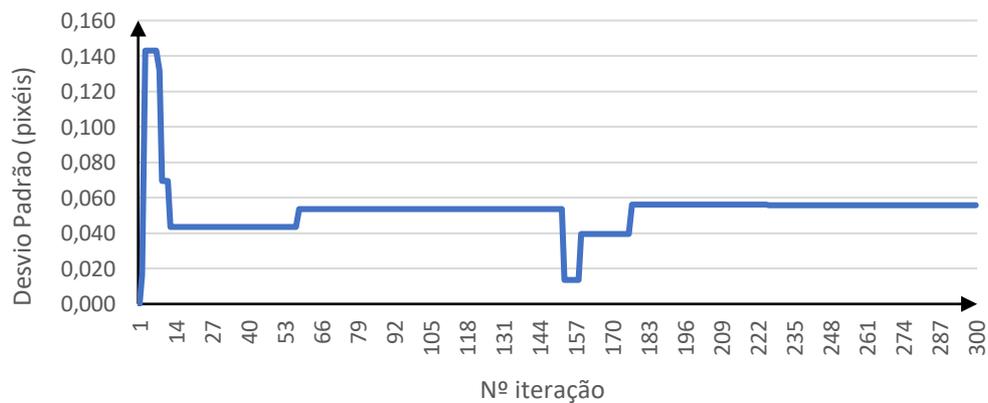


Figura C.2: Abordagem 1 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 10 mm de profundidade.

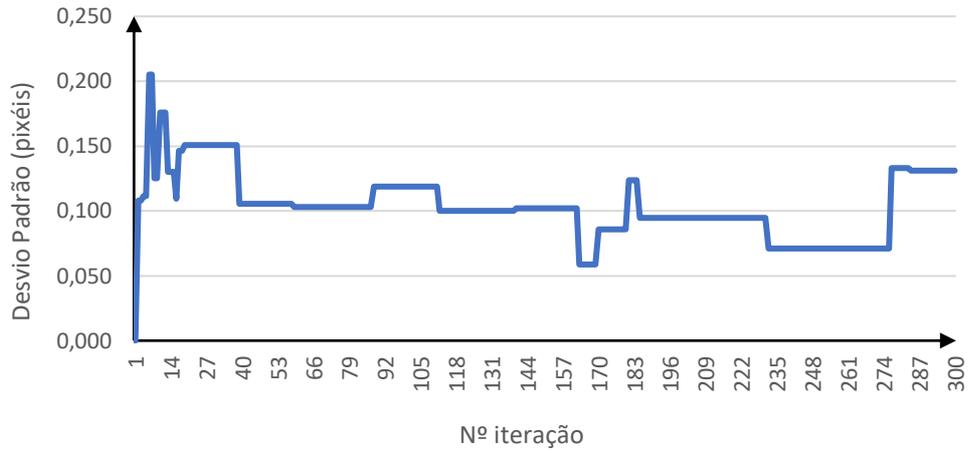


Figura C.3: Abordagem 1 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 15 mm de profundidade.

C.2 Desvio Padrão Abordagem 2

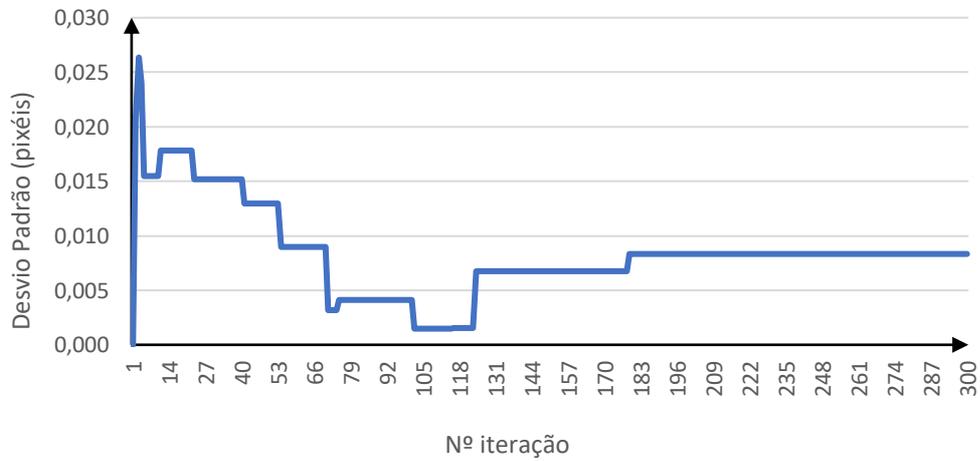


Figura C.4: Abordagem 2 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 5 mm de profundidade.

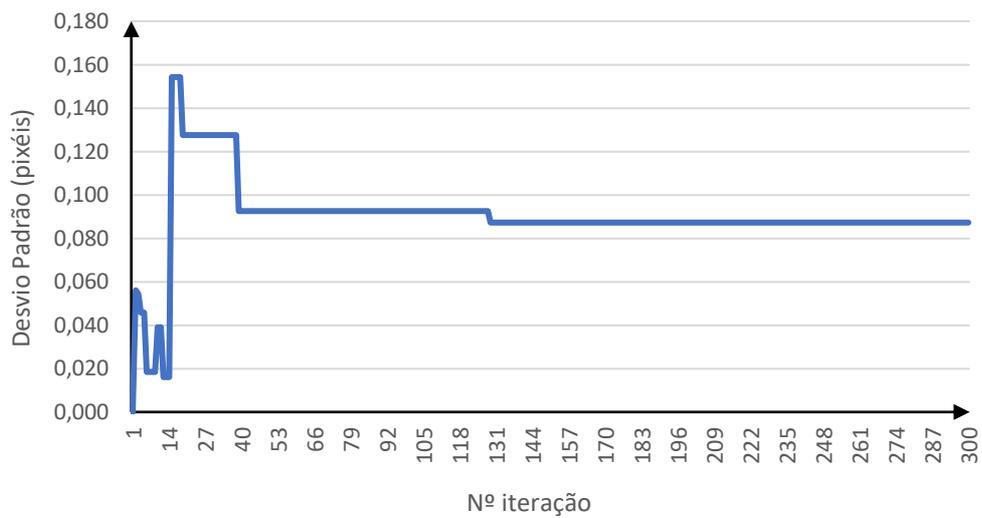


Figura C.5: Abordagem 2 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 10 mm de profundidade.

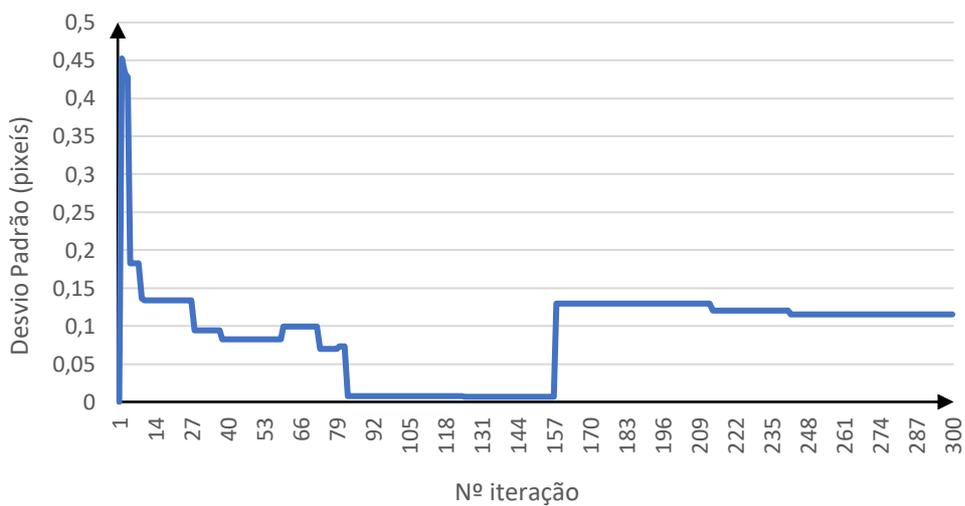


Figura C.6: Abordagem 2 - Desvio Padrão da média do raio ponderado calculado para cada iteração a 15 mm de profundidade.

Apêndice



Método Iterativo - Comparação Abordagens

Tabela D.1: Tabela comparativa dos resultados obtidos para o raio ponderado no método iterativo, segundo a Abordagem 1 e Abordagem 2. Valores retirados das tabelas 4.1 a 4.7. Nota: "Outros testes" refere-se aos dados presentes nas tabelas 4.3 e 4.7 da Abordagem 1 e Abordagem 2, respetivamente.

Teste 300 iterações	Nº testes efetuados	5 mm				10 mm				15mm			
		Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)	Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)	Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)	Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)
Abordagem 1	3	1,54 ± 0,02	9,50 %	8,19 % ± 1,18 %	2,81 ± 0,06	12,70 %	10,72 % ± 1,77 %	2,37 ± 0,13	35,77 %	32,32 % ± 3,74 %			
Abordagem 2	3	1,56 ± 0,01	7,20 %	6,83 % ± 0,50 %	2,82 ± 0,09	12,67 %	10,49 % ± 2,77 %	2,44 ± 0,12	33,98 %	30,17 % ± 3,30 %			
Teste 2000 iterações	Nº testes efetuados	5 mm				10 mm							
		Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)	Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)	Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)			
Abordagem 1	1	1,52	9,69 %	9,69 %	2,74	13,03 %	13,03 %	2,74	13,03 %	13,03 %			
Abordagem 2	1	1,52	9,69 %	9,69 %	2,76	12,32 %	10,04 %	2,76	12,32 %	10,04 %			
Outros testes	Nº testes efetuados	10 mm											
		Média melhor raio ponderado (pixéis)	Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)				Melhor teste (% melhoria)	Média (% melhoria)				
Abordagem 1	1	2,70	14,09 %	14,09 %				14,09 %	14,09 %				
Abordagem 2	1	2,72	13,43 %	13,43 %				13,43 %	13,43 %				



Método Não iterativo

As figuras E.1 e E.2 ilustram os resultados referentes às matrizes de irradiância não normalizadas obtidas pelos detetores a 5 mm de profundidade, segundo as duas diferentes Abordagens.

E.1: Matriz de Irradiâncias Normalizada e Não Normalizada - Abordagem 1

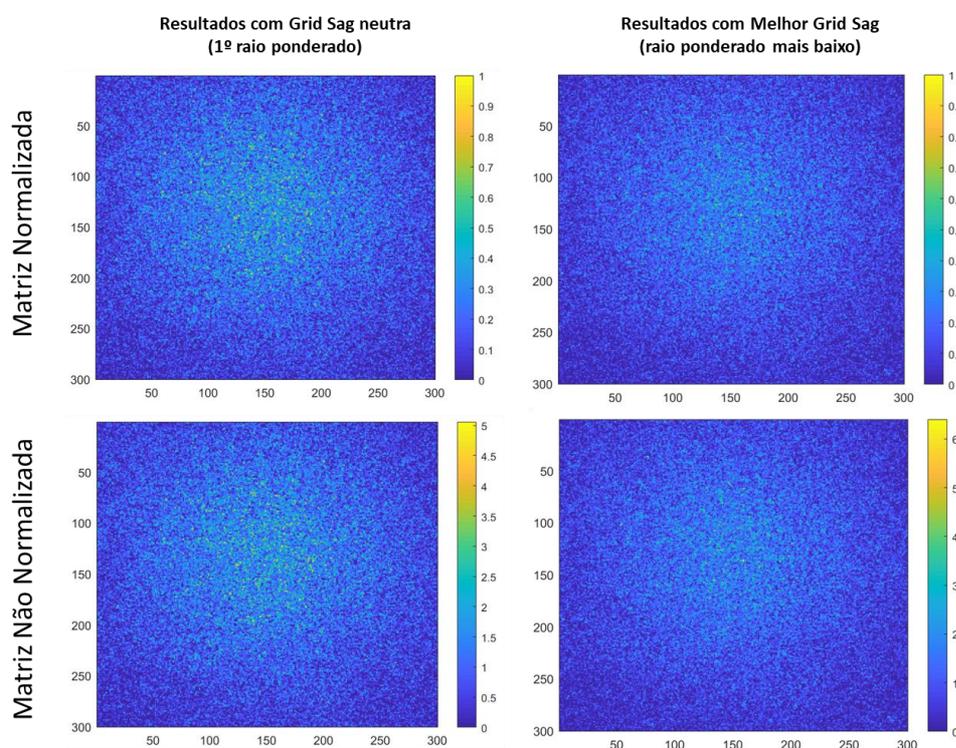


Figura E.1 Método Não Iterativo, Abordagem 1 - Matriz de irradiâncias normalizada e não normalizada (W/cm^2) vs. Nº Pixéis, obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm profundidade no interior do fantoma.

A partir dos valores de irradiância máxima associadas às matrizes da Figura E.1 foi elaborada uma tabela resumo (tabela E.1).

Tabela E.1: Método não Iterativo, Abordagem 1 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag. Foi ainda calculado a % de Aumento do valor da irradiância entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais.

Resultados obtidos			
Profundidade detetor	Irradiância máxima Inicial (W/cm ²)	Irradiância máxima após algoritmo (W/cm ²)	% Aumento
5 mm	5,06	6,40	26,48 %

E.2: Matriz de Irradiâncias Normalizada e Não Normalizada - Abordagem 2

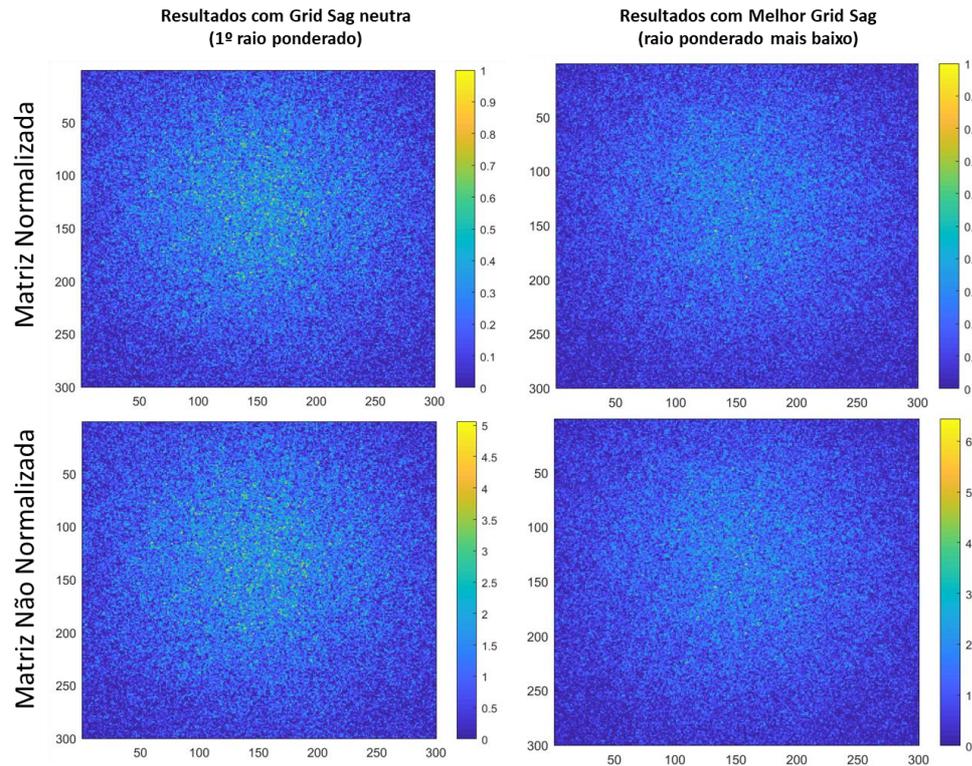


Figura E.2 Método Não Iterativo, Abordagem 2 - Matriz de irradiâncias normalizada e não normalizada (W/cm²) vs. N° Pixéis, obtidas com o sistema utilizando a Grid Sag Neutra (à esquerda) e Melhor Grid Sag (à direita) e adquiridas com o detetor a 5 mm profundidade no interior do fantoma.

A partir dos valores de irradiância máxima associadas às matrizes da Figura E.2 foi elaborada uma tabela resumo (tabela E.2).

Tabela E.2: Método não Iterativo, Abordagem 2 - Resultados obtidos para o valor de irradiância máxima obtido a 5 mm, antes e depois de aplicado o algoritmo com a melhor Grid Sag. Foi ainda calculado a % de Aumento do valor da irradiância entre o início e o fim do algoritmo (após a modelação do feixe). Nota: valores arredondados com duas casas decimais.

Resultados obtidos			
Profundidade detetor	Irradiância máxima Inicial (W/cm²)	Irradiância máxima após algoritmo (W/cm²)	% Aumento
5 mm	5,06	6,45	27,47 %

Os dados fornecidos pelas tabelas E.1 e E.2 permitem chegar à conclusão de que associado a uma diminuição do raio ponderado do feixe, existe também um aumento da concentração do mesmo através do aparecimento de pixéis com um valor de irradiância máxima superior após o feixe ter sido modelado pelo algoritmo.

Em ambas as abordagens e após a aplicação do algoritmo, como a diminuição do raio ponderado foi praticamente igual, a diferença do valor de irradiância máxima é também muito próxima.