

Universidade de São Paulo
Instituto de Física

Validação de Simulação por Monte Carlo da
Interação de LASER Vermelho e Infravermelho
com Emulsão Lipídica para Estudos de
Dosimetria de Luz em Tecidos Biológicos

André Luiz Oliveira Ramos

Orientadora: Prof^a. Dra. Elisabeth Mateus Yoshimura

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de
Física para a obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Elisabeth Mateus Yoshimura (IFUSP)

Prof^a. Dra. Rosângela Itri (IFUSP)

Prof^a. Dra. Martha Simões Ribeiro (IPEN)

São Paulo
2011

FICHA CATALOGRÁFICA
Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Ramos, André Luiz Oliveira

Validação de Simulação por Monte Carlo da Interação do LASER Vermelho e Infravermelho com Emulsão Lipídica para Estudos de Dosimetria de Luz em Tecido Biológico – São Paulo, 2011.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo.
Instituto de Física – Depto. de Física Nuclear

Orientador: Prof^a. Dr^a. Elisabeth Mateus Yoshimura

Área de Concentração: Física Médica

Unitermos: 1. Laser; 2. Monte Carlo; 3. Distribuição de luz em meios espalhadores; 4. Dosimetria.

USP/IF/SBI-032/2011

Dedico este trabalho à Deus, minha Fonte de Amor, Criador das Leis imutáveis.

E ao querido e amado Mestre Jesus, por me ensinar a aplicar a Inteligência que tenho com Amor e Humildade.

**"Science without religion is lame, religion without science is blind."
(Albert Einstein)**

Agradecimentos:

Aos meus pais, Liber e Neli pela dedicação, amor e educação me tornando um ser forte e capaz de superar desafios na vida com serenidade e confiança. Aos meus irmãos pelo apoio fraterno e pela disposição sincera de me ajudar sempre.

À professora doutora Elisabeth Mateus Yoshimura, por sua paciência, retidão de caráter e dedicação ética à ciência, me deu bases sólidas para que eu seja “O Cientista”.

À professora doutora Maria Cristina Chavantes, por ter acreditado em minhas potencialidades múltiplas (e me fazer acreditar nelas), tendo sempre me lembrado de que eu sou instrumento do Criador.

À todos os colegas e amigos do Laboratório de Dosimetria pelo apoio e companheirismo, e aos amigos do Grupo de Laser pela rica troca de experiências.

Aos meus amigos-irmãos Marcelo, Ana Carolina, Márcia, Bruno, Líliam e Nathali pela imensa ajuda que recebi durante o período de Mestrado.

Ao professor Mikiya Muramatsu por disponibilizar o laboratório.

À Lenita, pelo amparo fraterno e a todos os meus amigos da mocidade Francisco de Assis, pelo amor que recebi. Aos meus sobrinhos, pelo carinho e momentos de alegria que me abasteceram de energia para o trabalho.

À querida Mayra Verônica, por compreender minha missão e amorosamente me apoiar, contribuindo significativamente à minha paz e equilíbrio durante a redação da dissertação.

Ao inolvidável e querido professor Eurípedes Barsanulfo e todos os amigos espirituais, por me auxiliarem a cumprir esta etapa de meu planejamento reencarnatório com responsabilidade, alegria, confiança, persistência e esperança de progresso.

Sumário

Resumo	VI
Abstract	VIII
0. Apresentação	1
0.1. Motivação	1
0.2. Objetivos	1
1. Introdução teórica	2
1.1. Terapia Laser de Baixa Intensidade (TLBI)	2
1.1.1. Histórico da TLBI e suas Aplicações na Medicina	3
1.1.2. Importância da dose de luz para resposta tecidual e otimização dos resultados clínicos	5
1.2. Interação da Luz com Tecido Biológico	6
1.2.1. Absorção de Luz em Tecidos Biológicos	7
1.2.2. Espalhamento de Luz em Tecidos Biológicos	8
1.3. O Método de Monte Carlo	13
2. Materiais e Métodos	18
2.1. Simulação de Monte Carlo para o transporte de luz em tecidos	18
2.1.1. Descrição do MCML 1.2.2	18
2.1.2. Importância dos parâmetros ópticos para simulação	22
2.1.3. Parâmetros de entrada da simulação	22
2.1.4. Descrição do programa CONV 1.0	23
2.2. Materiais utilizados para validação das simulações	25
2.2.1. Lipovenos, o simulador de tecidos em fotônica	25
2.2.2. Sistema de aquisição de imagens	26
2.3. Arranjo Experimental	27
2.4. Tratamento de imagens	30
2.5. Procedimento para determinação de incertezas	32

3. Resultados e Discussão	34
3.1. Transmissão de Luz.....	34
3.1.1. Transmissão de luz em camadas de Lipovenos 10% com diâmetro de 12 mm.....	36
3.1.2. Transmissão de luz em camadas de Lipovenos 10% com diâmetro de 26 mm.....	44
3.1.3. Influência do comprimento de onda do laser e do diâmetro de Lipovenos 10% na transmissão de luz.....	50
3.2. Espalhamento de Luz	56
3.2.1. Espalhamento de luz em Lipovenos 10% com 30 mm de espessura e diâmetro de 12 mm.....	62
3.2.2. Espalhamento de luz em Lipovenos 10% com 30 mm de espessura e diâmetro de 26 mm.....	65
3.2.3. Influência do comprimento de onda do laser e do diâmetro de Lipovenos 10% no espalhamento de luz	69
3.3. Aplicação do Método de Monte Carlo na TLBI	70
4. Conclusão	73
Referências Bibliográficas	75

Resumo:

O conhecimento da dose de luz dentro do tecido biológico pode aprimorar diversos protocolos aplicados para redução da inflamação e da dor, terapia fotodinâmica e regeneração tecidual. O objetivo deste trabalho é calcular a distribuição de luz em Lipovenos 10% (Lp) por simulação de Monte Carlo, realizar medidas experimentais e comparar os resultados da simulação com os resultados experimentais para validar a simulação. O programa MCML 1.2.2 foi escolhido para simular a distribuição de luz vermelha (633 nm) e infravermelha (820 nm) em camadas cilíndricas de 2 a 12 mm e de 30 mm de espessura de Lp com diâmetros de 12 e 26 mm. Para validar a simulação um experimento foi realizado adquirindo imagens com câmera CCD da luz transmitida e da luz espalhada a 90° de cubetas de PMMA (Polimetilmetacrilato) contendo quantidades variáveis de Lp, iluminadas verticalmente com laser de HeNe ou GaAIs. O resultado experimental mostrou que a intensidade máxima de luz transmitida decresce exponencialmente com a espessura da amostra, de maneira similar ao resultado da simulação. A atenuação de luz transmitida foi maior para luz infravermelha e em Lp de diâmetro 12 mm. Curvas gaussianas ajustadas aos resultados experimentais e simulados tiveram larguras de distribuição de luz similares e variando linearmente com a espessura de Lp até espessuras de ao menos 6 mm. Os coeficientes angulares das retas experimentais e simuladas foram compatíveis para luz vermelha em Lp de 26 mm de diâmetro, validando a simulação. Para 633 nm as diferenças entre as larguras experimentais e simuladas foram quase sempre inferiores a 1 mm e no infravermelho as maiores discrepâncias observadas (2,5 mm) foram para Lp de 26 mm de diâmetro, para 820 nm.

As curvas de espalhamento obtidas por simulação de Monte Carlo são semelhantes às experimentais: a intensidade de luz espalhada aumenta até uma profundidade Z_{max} , em seguida decresce exponencialmente. Os valores de Z_{max} e os coeficientes de atenuação

exponencial obtidos por simulação nem sempre foram compatíveis com os experimentais, embora as variações com o tamanho da cubeta e com o comprimento de onda tenham sido equivalentes nos resultados experimentais e simulados. Concluímos que os comportamentos dos resultados de transmissão e espalhamento de luz, da simulação e experimentais são semelhantes.

Abstract:

The knowledge of the dose inside the tissue can improve various protocols applied to reduction of inflammatory processes, pain relief, Photodynamic Therapy (PDT), and tissue regeneration. The aim of this work is to calculate the light distribution in Lipovenos 10% (Lp) by Monte Carlo simulation (MCS), and to do experimental measurements in order to compare both results and to validate the simulation. MCML 1.2.2-2000 code was used to simulate the red (633 nm) and infrared (820 nm) light distribution in cylindrical layers of Lp with thicknesses from 2 to 12 mm and 30 mm, and diameters of 12 and 26 mm. To validate the simulation an experiment has been carried out, using a CCD camera to acquire images of transmitted and 90° scattered light from a PMMA cuvette containing different quantities of Lp, illuminated from the top with He-Ne or GaAlAs lasers. Experimentally, it was observed that the maximum intensity of transmitted light has an exponential behavior with the sample thickness, similar to the simulation result. The attenuation of transmitted light is highest for infrared light and for Lp layers with 12 mm of diameter. Gaussian curves fitted to the experimental and to the MCS results have similar widths and the variation of the width with the Lp thickness is linear at least up to 6 mm thicknesses. As the slope of simulated and experimental results are compatible for red light in Lp layers with 26 mm of diameter, this simulation was validated. For 633 nm the differences between experimental and simulated widths are generally below 1 mm and for infrared light the higher discrepancies (2,5 mm) were observed for Lp with 26 mm of diameter, at 820 nm.

The behavior of the scattering curves obtained by MCS is similar to the experimental results: the light intensity increases until a depth Z_{\max} of Lp, followed by an exponential attenuation. The experimental and simulated Z_{\max} positions and attenuation coefficients are not always compatible. However, their variation with the cuvette size and with the wavelength are the same for experimental and MCS results. We conclude that the

characteristics of transmission and scattering of light are similar for MCS and experimental results.

0. Apresentação

0.1. Motivação

Ao longo das últimas décadas, vem se consolidando a abordagem multidisciplinar no uso de radiações eletromagnéticas em Medicina. Pesquisas e desenvolvimento em Física Médica têm contribuído, cada vez mais, com os profissionais de saúde na busca da solução de problemas e da otimização de resultados clínicos.

Inúmeras são as aplicações da Terapia com Laser de Baixa Intensidade (TLBI) na Medicina, com bons resultados clínicos, no entanto, a dose mais adequada aos tratamentos não está completamente estabelecida e há poucos protocolos consensuais. Conhecer a distribuição de luz interna ao tecido biológico é condição *sine qua non* para otimizar os resultados clínicos da TLBI.

Simulações de Monte Carlo têm contribuído de forma significativa com a dosimetria das radiações ionizantes (radioterapia, braquiterapia). Assim, acredita-se que modelagem computacional seja uma ferramenta importante no cálculo da dose de luz e no auxílio à promoção de melhores resultados clínicos da TLBI.

A principal motivação deste trabalho é aprofundar no entendimento das interações da luz com o tecido biológico para, no futuro, facilitar o processo de cura dos pacientes submetidos à TLBI.

0.2. Objetivos

O objetivo deste trabalho é calcular a distribuição de luz (633 e 820 nm) no líquido espalhador Lipovenos 10% (Lp) por simulação de Monte Carlo, realizar medidas experimentais e comparar os resultados da simulação com os resultados experimentais para validar a simulação.

1. Introdução Teórica

1.1. Terapia Laser de Baixa Intensidade (TLBI)

Em 1917, Albert Einstein postulou os princípios da “Emissão Estimulada de Radiação”. Esta teoria deu bases para que Charles Townes e colaboradores (1954) construíssem o primeiro MASER (*Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) que significa amplificação de microondas por emissão estimulada de radiação. Após esta invenção muitos pesquisadores trabalharam para o desenvolvimento de um análogo óptico do maser. [Chavantes, 2009]

Theodore Harold Maiman, em 1960, construiu o primeiro aparelho LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) utilizando como meio ativo cristal de rubi. A partir de então foram desenvolvidos lasers de inúmeros tipos, características e aplicações.

Com relação à potência de emissão, os lasers de uso médico podem ser classificados [Chavantes, 2009] como:

- Lasers de Alta Potência (LAP) (ou Cirúrgicos) possuem potência luminosa superior a 1 W. No tecido biológico promovem grande aumento da temperatura e são utilizados em cirurgias cardiorrespiratórias, oncológicas, oftálmicas e plásticas, em remoção de tatuagens e depilação.
- Lasers de Baixa Potência (LBP) (ou Terapêuticos) possuem potência luminosa inferior a 1 W e provocam aumento de temperatura desprezível (inferior a 1 °C) no tecido irradiado. No tecido biológico promovem efeitos físico-químicos.

1.1.1. Histórico da TLBI e suas Aplicações na Medicina

Em 1966, Endre Mester, médico húngaro, publicou o primeiro artigo sobre o efeito bioestimulador do Laser em peles de rato. Na mesma década, ele iniciou estudos *in vitro* sobre efeitos da luz em culturas de fibroblastos, e após uma série de estudos em animais que mostraram efeito estimulante no processo de regeneração tecidual. Na década seguinte, Mester e equipe, em Budapeste, deram início aos estudos clínicos com pacientes portadores de feridas crônicas utilizando o laser de He-Ne. Os resultados clínicos foram animadores, comprovando de forma pioneira os efeitos bioestimulantes da TLBI em humanos. A partir de então vários grupos de pesquisadores do mundo iniciaram estudos sobre os possíveis efeitos biológicos do laser de baixa intensidade (LBI). [Chavantes, 2009; Lirani, 2004]

Após estudos *in vitro*, Tina Karu (década de 1990) foi pioneira em descrever o mecanismo da bioestimulação do LBI em níveis molecular e celular. A luz absorvida pela mitocôndria pode levar ao incremento da síntese de ATP (trifosfato de adenosina) celular, devido à absorção de fótons por moléculas fotoceptoras presentes na cadeia respiratória (flavinas, NADH, FAD, citocromos e citocromo C oxidase), figura 1.1, promovendo o aumento da atividade mitocondrial. Este aumento, por sua vez, é caracterizado pelo maior gradiente de prótons da matriz para o espaço intermembranas que intensifica a reentrada de prótons pela ATP-sintase favorecendo a fosforilação oxidativa, maior produção de ATP. [Nicolau et al.,2004; Torres e Marzzoco, 1999]

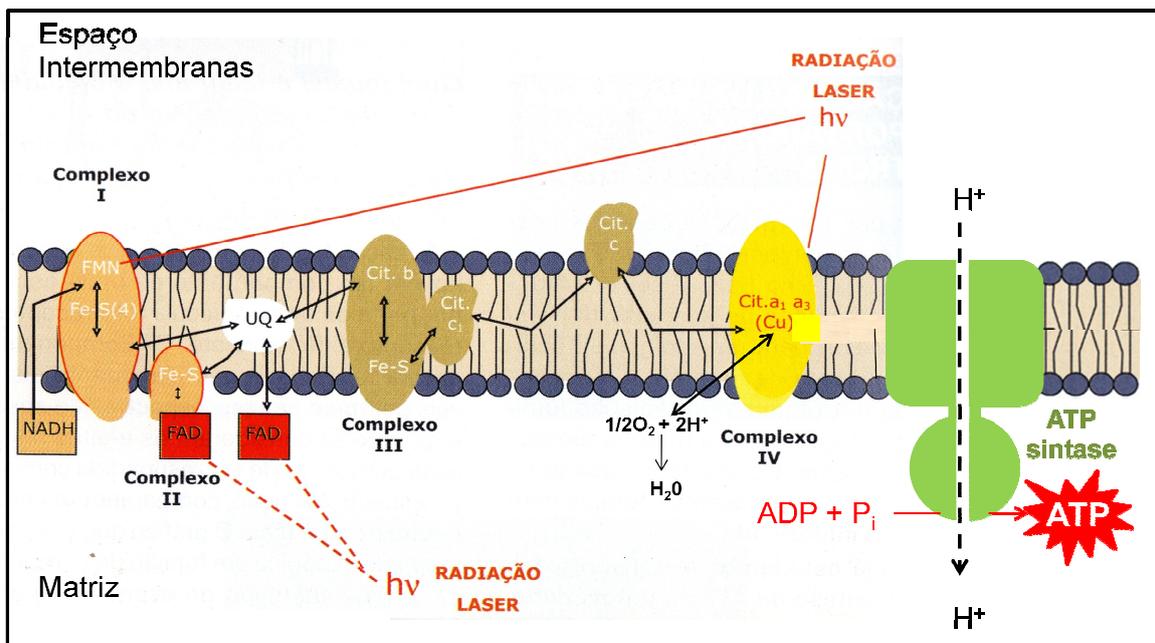


Figura 1.1: Supostos fotoceptores da Cadeia Respiratória. (modificado de “Laser em bio-medicina”, Atheneu, 2009, pag. 94 - Chavantes MC (editora)).

A energia química do ATP é “combustível” dos processos biológicos que consomem energia, podendo ser usada em processos químicos (biossíntese), elétricos (condução de impulsos nervosos), osmóticos (transporte ativo na membrana celular) e tantos outros. O aumento dos níveis de ATP promovido pela ação do LBI em um tecido lesionado favorece a homeostase do mesmo. [Torres e Marzzoco, 2004] Os resultados dos estudos de Karu sinalizam que as células irradiadas podem permanecer com elevado incremento da síntese de ATP, mesmo após aplicação do LBI. [Karu, 1989; Lirani, 2004]

A TLBI pode promover a proliferação de fibroblastos e o aumento da síntese de colágeno, resultando em epitelização, ação antiinflamatória e analgésica, estímulo à angiogênese, modificações no pH celular e alterações no potencial de membrana em neurônios [Jindra et al., 2010; Nicolau et al., 2004].

Inúmeras são as aplicações da TLBI em diversas áreas da Medicina, e também na Fisioterapia, Odontologia e Enfermagem.

1.1.2. Importância da dose de luz para resposta tecidual e otimização dos resultados clínicos

Os efeitos da TLBI estão relacionados com as características da fonte luminosa (comprimento de onda do Laser, potência radiante, tempo de exposição e área do feixe) e também da quantidade de energia absorvida nas células do tecido. Ao ser absorvida, essa energia pode desencadear uma normalização das funções celulares (biomodulação).

Em fototerapia e fotobiologia, a dose [Sloney, 2007] de irradiação é usualmente representada pela grandeza fluência, dada em J/cm^2 . Fluência é definida como o quociente de toda energia radiante incidente na superfície externa de uma esfera, infinitamente pequena, centrada em um ponto de interesse (interno no tecido) pela área circular da seção transversal da esfera (figura 1.2).

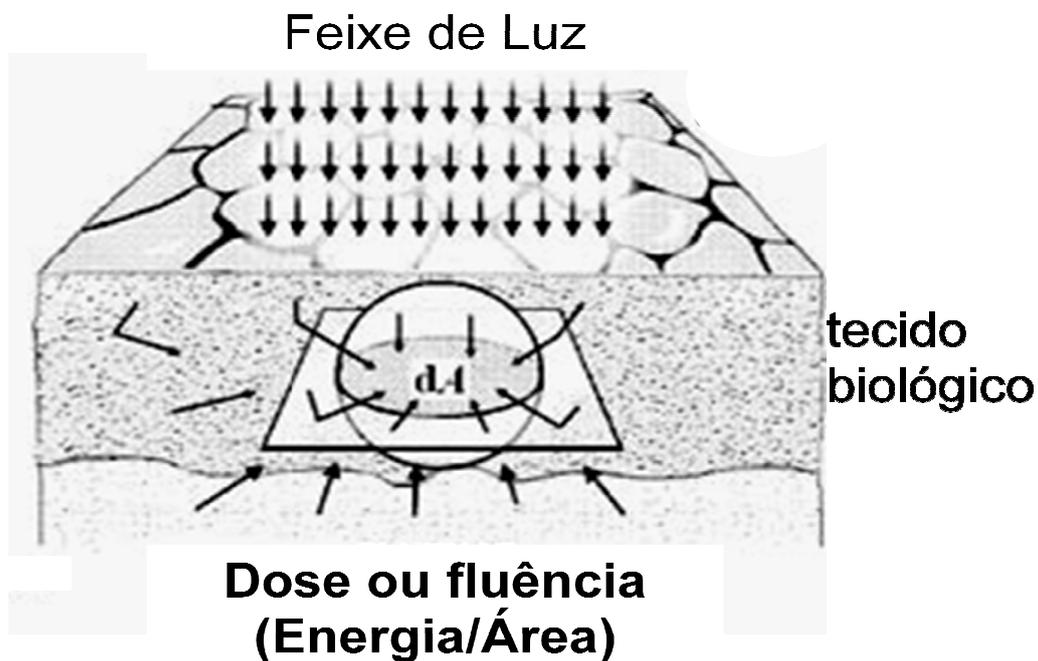


Figura 1.2: Descrição de fluência em tecido biológico a partir de uma fonte de luz incidente, parâmetro utilizado em fototerapia e fotobiologia para representar a dose de irradiação. [Nicolau et al., 2004]

Se a dose for muito baixa (inferior a $0,1 \text{ J/cm}^2$) pode não haver ativação biológica; se intermediária, pode promover bioestimulação (importante nos tratamentos de cicatrização e regeneração tecidual); quando muito elevada (superior a 10 J/cm^2), bioinibição (importante na ação analgésica). [Chavantes, 2009] Inúmeros estudos apresentam recomendações de dose para a TLBI de diversas patologias. Contudo, há poucos protocolos consensuais e com extensa faixa de valores de energia luminosa ou densidade de energia para a maioria das aplicações clínicas. [WALT, 2010] Podemos notar nesses estudos que a dose adequada ao tratamento ainda não está bem estabelecida, tornando-se cada vez mais necessário aprofundar no conhecimento das interações da luz com o tecido.

1.2. Interação da Luz com Tecido Biológico [Niemz, 2004]

A luz, ao penetrar em um meio material, interage com os átomos e moléculas que o constituem podendo sofrer absorção ou espalhamento. O mesmo acontece nos tecidos biológicos: por apresentarem diferentes características histológicas, possuem diferentes propriedades óticas de acordo com seu estado. Com isso, as propriedades de absorção e espalhamento do tecido determinam a penetração da luz no mesmo.

A propriedade de um material absorver luz é caracterizada pelo seu coeficiente de absorção (μ_a) que representa a probabilidade do fóton ser absorvido por unidade de caminho. A característica de espalhamento de luz de um material é quantificada por seu coeficiente de espalhamento (μ_s), que representa a probabilidade do fóton ser espalhado no material por unidade de caminho. Tanto os valores de μ_a como de μ_s são dados em função do comprimento de onda da radiação no meio absorvedor ou espalhador, respectivamente. Em meios turvos, como o tecido biológico, nos quais espalhamento e absorção ocorrem simultaneamente, define-se a probabilidade de interação do fóton por unidade de caminho como sendo:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (1.1)$$

onde μ_t é o coeficiente de atenuação total de um meio dado um comprimento de onda.

1.2.1. Absorção de Luz em Tecidos Biológicos [Niemz, 2004]

Inúmeros fatores podem influenciar a capacidade de um meio absorver radiação eletromagnética, tais como, o comprimento de onda da radiação, a constituição eletrônica atômica e molecular do meio, a temperatura, a concentração das moléculas absorvedoras e espessura da camada absorvedora.

A lei de Lambert-Beer descreve o efeito desses fatores na absorção de luz em meios não espalhadores (límpidos).

$$I(Z) = I_0 e^{-(\mu_a Z)} \quad (1.2)$$

onde Z representa espessura de material absorvedor atravessada pela luz, $I(Z)$ é a intensidade de luz à profundidade Z e I_0 é a intensidade incidente na direção Z .

No tecido biológico o fenômeno de absorção de luz é causado majoritariamente por macromoléculas, em especial as proteínas (absorção no ultravioleta e espectro visível) ou água (maior absorção no infravermelho). Na figura 1.3 podemos visualizar os espectros de absorção da melanina (pigmento natural da pele e do fio de cabelo) e da oxi-hemoglobina (presente no sangue).

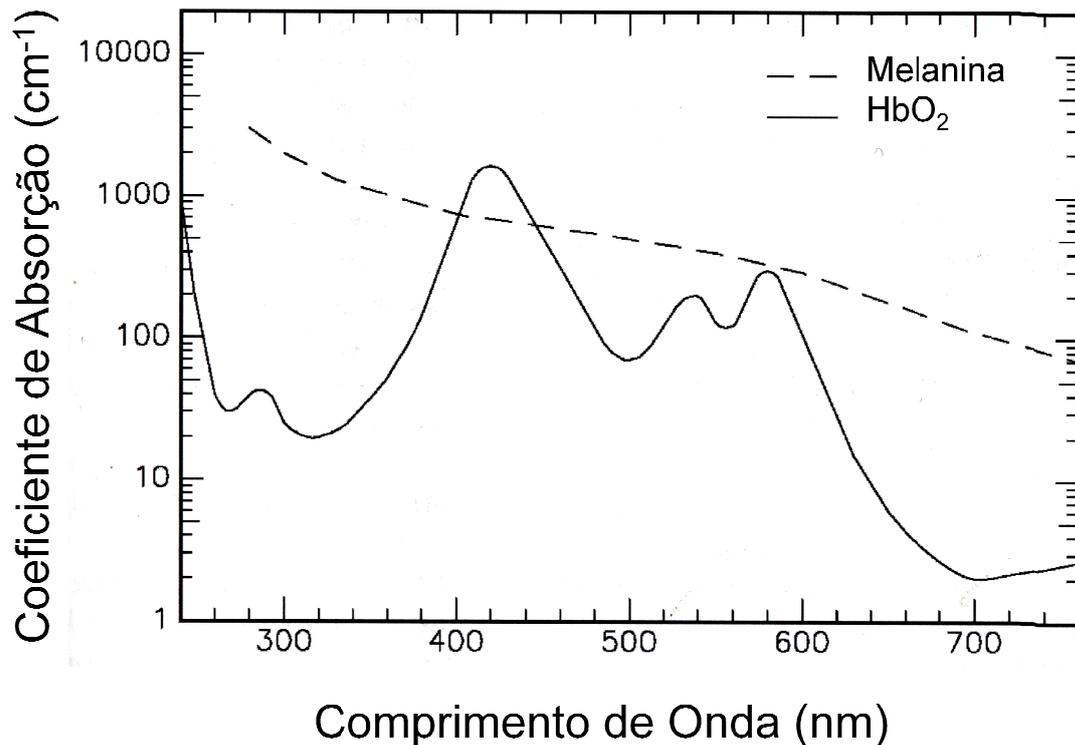


Figura 1.3: Espectros de absorção da melanina e da oxihemoglobina. [Niemz, 2004]

Nota-se na figura 1.3 que a absorção de luz pela melanina é maior na região ultravioleta do espectro, diminuindo com o aumento do comprimento de onda. A hemoglobina apresenta picos de absorção em 280 nm, 420 nm, 540 nm e 580 nm e baixa absorção no vermelho.

A absorção de luz pelo tecido biológico é dependente do comprimento de onda dos fótons incidentes e dos diferentes tipos e concentrações de moléculas absorvedoras presentes no tecido.

1.2.2. Espalhamento de Luz em Tecidos Biológicos [Niemz, 2004]

O espalhamento de luz em um meio ou tecido biológico depende do comprimento de onda da radiação, da concentração e tamanho das partículas espalhadoras e da espessura do meio. A atenuação da intensidade incidente devido o espalhamento é descrita por:

$$I(Z) = I_0 e^{-(\mu_s Z)} \tag{1.3}$$

onde Z representa a espessura do material na direção de incidência da luz, $I(Z)$ é a intensidade a uma profundidade Z , I_0 é a intensidade incidente e μ_s é o coeficiente de espalhamento do meio para um dado comprimento de onda.

Derivando a equação 1.3 em relação a Z , temos:

$$\frac{dI}{dZ} = -\mu_s I_0 e^{-\mu_s Z} \equiv -\mu_s I \quad \text{ou} \quad \frac{dI}{I} = -\mu_s dZ \quad (1.4)$$

é possível deduzir que para uma espessura (a) muito fina do meio espalhador, a intensidade de luz espalhada será proporcional a μ_s e a , e à própria intensidade de luz no local.

$$I_s \sim \mu_s a I \quad (1.5)$$

onde I_s é a intensidade de luz espalhada.

Quando o espalhamento da radiação se dá por partículas de tamanho muito menor que o comprimento de onda da radiação incidente, este tipo de espalhamento é conhecido como Espalhamento Rayleigh. Sendo α o ângulo de espalhamento em relação ao ângulo de incidência ($\alpha = 0$ significa espalhamento frontal), a intensidade de luz espalhada por esse processo varia com o ângulo como se vê na equação (1.6).

$$I_s \sim \frac{1 + (\cos \alpha)^2}{\lambda^4} \cdot \quad (1.6)$$

Este tipo de espalhamento apresenta forte dependência com o comprimento de onda, conforme ilustrado na figura 1.4.

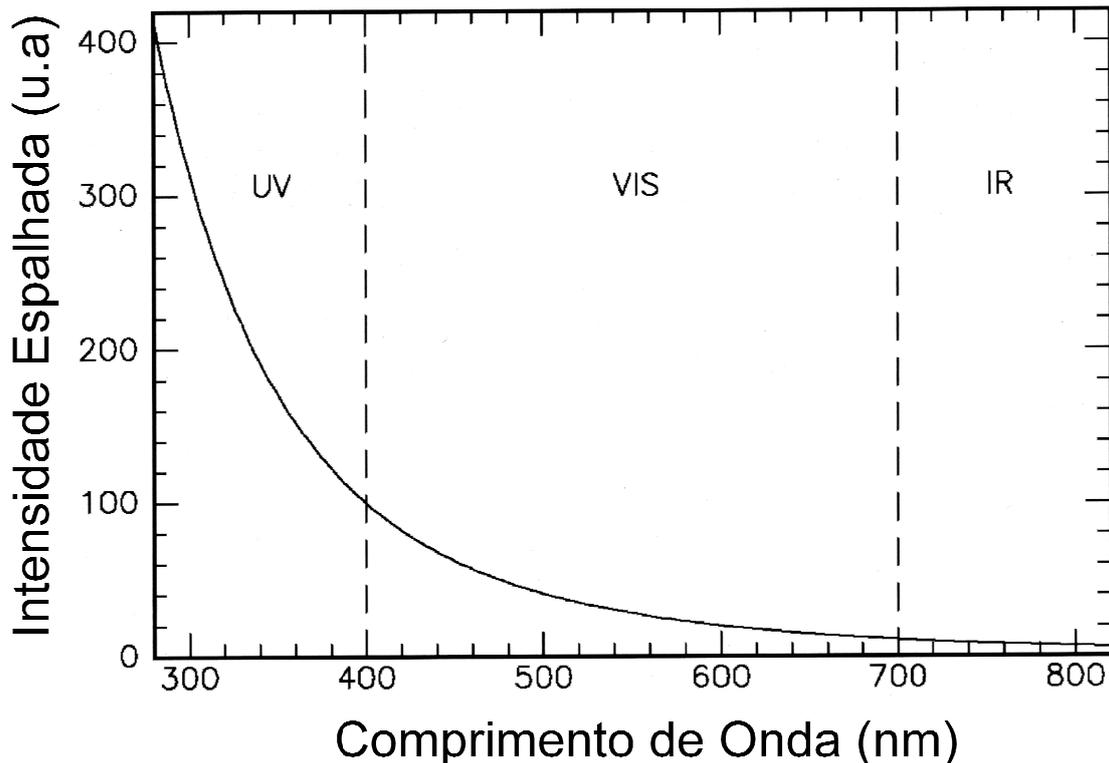


Figura 1.4: Espalhamento Rayleigh em função do comprimento de onda. [Niemz, 2004]

De acordo com a equação 1.6, e como se vê na figura 1.4, na região visível do espectro o espalhamento da luz violeta é acentuadamente maior comparado ao da vermelha. Um exemplo típico de ocorrência deste tipo de espalhamento é o que explica a cor azulada do céu.

Quando o espalhamento da radiação se dá por partículas espalhadoras de tamanho próximo ou superior ao comprimento de onda da radiação incidente, predomina o Espalhamento Mie. Neste caso, o espalhamento ocorre preferencialmente na direção de incidência da radiação e, comparado ao espalhamento Rayleigh, apresenta pouca dependência do comprimento de onda ($\sim \lambda^{-a}$ onde $0,4 \leq a \leq 0,5$). Um exemplo típico de ocorrência deste tipo de espalhamento é o que explica a cor branca das nuvens.

No tecido biológico o espalhamento de luz tem forte dependência do comprimento de onda da radiação, e também predomina ao longo da direção de incidência da radiação

incidente. Para uma melhor compreensão teórica do espalhamento em tecidos biológicos, define-se uma função de probabilidade $p(\alpha)$ de o fóton ser espalhado em um ângulo α , de maneira que, se esta função for independente do ângulo α o espalhamento é isotrópico, caso contrário o espalhamento é anisotrópico. A função $p(\alpha)$ pode ser obtida por ajuste a resultados experimentais.

A medida da anisotropia de espalhamento do tecido é dada por:

$$g = \frac{\int_{4\pi} p(\alpha) \cos \alpha d\Omega}{\int_{4\pi} p(\alpha) d\Omega} \quad (1.7)$$

onde g é o coeficiente de anisotropia, que representa o valor esperado de $\cos \alpha$ para um conjunto grande de espalhamentos, e $p(\alpha)$ é a função de probabilidade do fóton ser espalhado em um ângulo α em relação à direção de incidência; $d\Omega$ é o ângulo sólido.

Quando o espalhamento é puramente frontal $g = 1$; se o espalhamento é isotrópico $g = 0$; em retro-espalhamento $g = -1$.

Inúmeras funções de fase foram propostas teoricamente, dentre elas, a função introduzida por Henyey e Greenstein (1941) apresenta boa concordância com estudos experimentais:

$$p(\alpha) = \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g\cos \alpha)^{3/2}} \quad (1.8)$$

Descrever matematicamente as interações laser-tecido é muito difícil. Utilizar as equações de Maxwell para descrever de forma analítica os fenômenos de absorção e espalhamento de luz é de alta complexidade. [Prah, 1988]

Pela Teoria de Transporte de fótons [Ishimaru, 1968], a radiância ($J(\mathbf{r}, \mathbf{s})$), expressa em $W/cm^2 \cdot sr$, é a intensidade luminosa em uma dada posição (definida pelo vetor posição \mathbf{r}) na

direção \mathbf{s} . Nesta teoria, a radiância no ponto definido diminui devido os processos de absorção e espalhamento e aumenta devido os fótons espalhados de uma direção \mathbf{s}' para a direção \mathbf{s} .

A equação de transporte é dada por:

$$\frac{dJ(\mathbf{r},\mathbf{s})}{ds} = -\mu_t J(\mathbf{r},\mathbf{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\mathbf{s},\mathbf{s}') J(\mathbf{r},\mathbf{s}') d\phi' \quad (1.9)$$

onde μ_t é o coeficiente de atenuação total, $p(\mathbf{s},\mathbf{s}')$ é a função de fase do fóton ser espalhado da direção \mathbf{s}' para \mathbf{s} , e ds é um comprimento infinitesimal do meio.

Uma vez que os fótons espalhados não têm um caminho determinado, a radiância difusa é difícil de ser avaliada, sendo este um fator de complexidade da Teoria de Transporte.

Simulações computacionais utilizando o Método de Monte Carlo (MMC) têm sido muito utilizadas para solucionar a equação de transporte de radiação. Constitui uma abordagem numérica (estatística) da equação de transporte [Niemz, 2004; Prahl,1988] e de fácil implementação.

A teoria da difusão é uma abordagem muito utilizada para compreensão da interação da luz com o tecido biológico. Aplicada para meios nos quais o espalhamento da luz predomina em relação à absorção ($\mu_s \gg \mu_a$), e o fator de anisotropia (g) não é tão próximo da unidade, esta aproximação prevê que a atenuação da intensidade no meio muito longe de fontes externas de luz é descrita por:

$$I(Z) = Ae^{-(\mu_t Z)} + Be^{-(\mu_{eff} Z)} \quad (1.10)$$

onde $\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a[\mu_a + \mu_s(1 - g)]}$ é conhecido como coeficiente de atenuação efetivo e $A + B = I_0$, a intensidade total de luz.

O Método de Monte Carlo

No século XVIII o matemático francês Conde de Buffon, usou uma técnica muito similar ao MMC para determinar o valor de π por meio de um experimento, conhecido como “Agulha de Buffon” [Kunkel, 2003; Lins, 2004]. Em Los Alamos, década de 1940, John von Neumann, Stanislaw Ulam e Enrico Fermi utilizaram um método estatístico para modelagem de difusão de nêutrons, e o denominaram Método de Monte Carlo. Este nome foi dado por eles pela similaridade entre o processo estatístico e os jogos de azar em Monte Carlo, Mônaco. [Metropolis, 1987]

Modelagem computacional vem sendo largamente aplicada nos dias atuais em diversas áreas do conhecimento. Tais métodos fazem a conexão entre os fenômenos experimentais e as previsões da teoria [Coutinho, 1997], conforme esquematizado na figura 1.5.

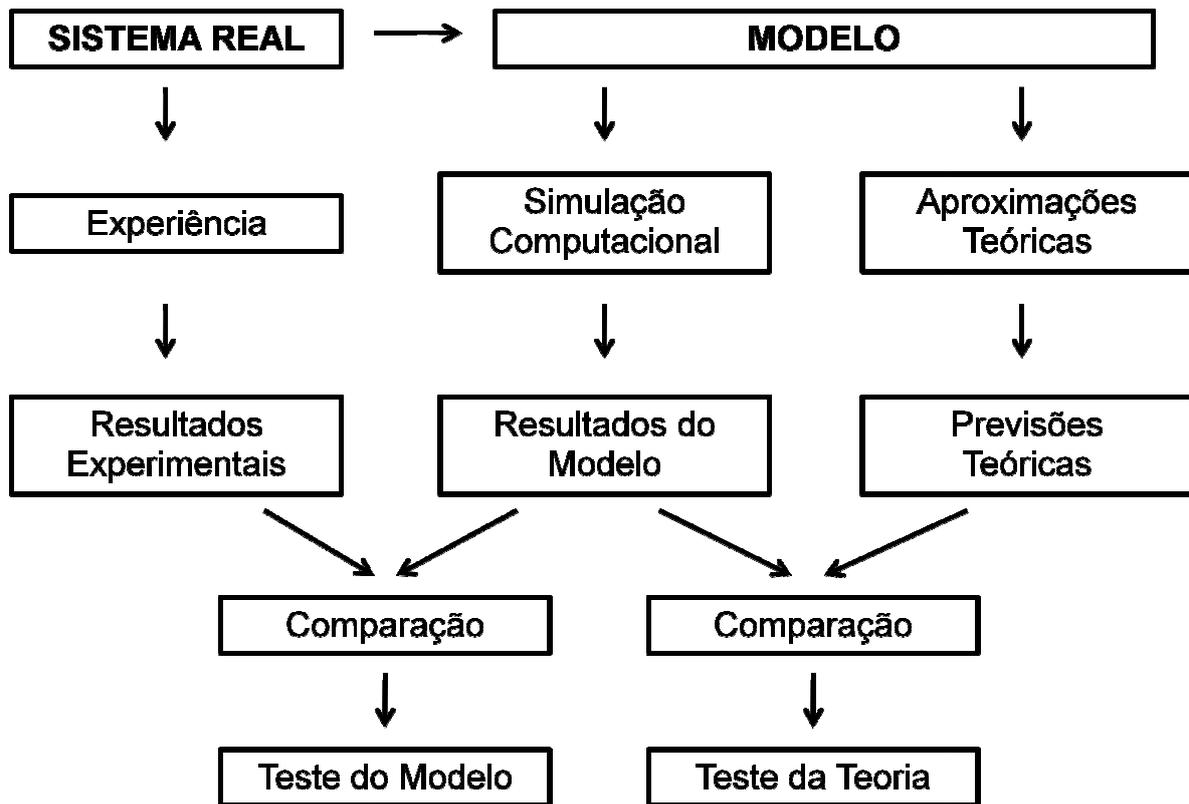


Figura 1.5: Descrição de métodos de avaliação de um fenômeno físico utilizando modelagem computacional. [Coutinho, 1997]

O MMC é um método estocástico utilizado para modelagem de sistemas simples ou complexos. Situações matemáticas nas quais a equação que descreve um fenômeno físico tem solução de difícil determinação analítica se beneficiam da aproximação numérica baseada no MMC.

Uma função densidade de probabilidade é definida no modelo e utiliza-se um gerador de números aleatórios para obter o parâmetro de interesse associado à função, pela repetição do cálculo um número muito grande de vezes.

Na figura 1.6 temos um exemplo da aplicação do MMC no cálculo de área. Suponhamos que se deseja determinar a área A_z da superfície azul. Desenha-se um quadrado de área A , que contenha a figura de interesse. As coordenadas (x,y) dos pontos são escolhidas aleatoriamente num total de N vezes (somente no intervalo entre a e b),

sorteando dois números aleatórios independentes (x e y). Verifica-se a quantidade (n) de pontos pertencentes à superfície azul e determina-se o valor esperado de A_z conforme a seguir:

$$\langle A_z \rangle = A \times \frac{n}{N} \quad (1.11)$$

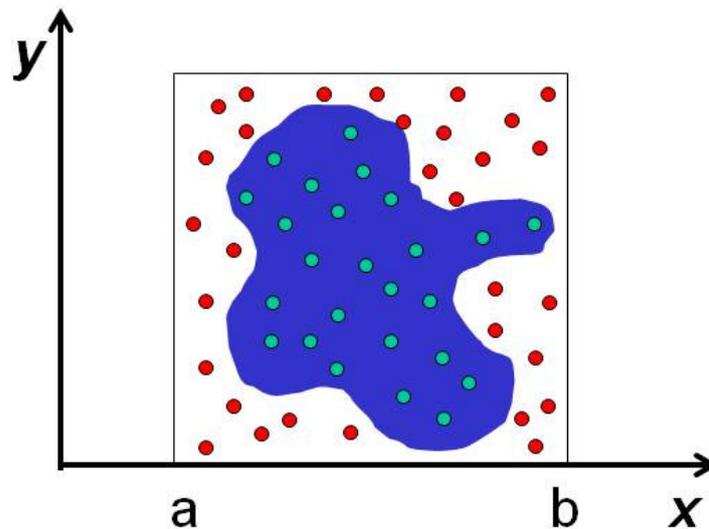


Figura 1.6: Exemplo de uma aplicação do Método de Monte Carlo no cálculo de área.

No exemplo da figura 1.6, quanto maior a quantidade (N) de pontos sorteados o valor esperado de A_z é mais próximo do valor real. No MMC a exatidão dos resultados é proporcional a $1/\sqrt{N}$. Isto implica que, em simulações mais complexas, para se obter boa exatidão, o número de “histórias” deve ser grande, o que implica em maior tempo de processamento computacional. [Niemz, 2004; Wang e Jacques, 1992]

O MMC tem sido utilizado em programas para calcular o transporte de partículas e fótons ionizantes em materiais. É muito frequente o uso de programas tais como MCNP [Booth et al., 2003] e Penelope [Salvat et al., 2003], destinados ao cálculo do transporte de radiação ionizante em tecidos biológicos, com aplicações em planejamento de radioterapia para pacientes oncológicos, e também na otimização de proteção radiológica. O Método de Monte Carlo também pode ser usado para modelar a interação da luz com o tecido

biológico, calculando a distribuição de fótons absorvidos e espalhados no volume de acordo com os parâmetros ópticos do tecido, espessura, intensidade e colimação do feixe incidente. [Wang e Jacques, 1992]

Apesar do MMC ser simples de implementar para modelagem do transporte de luz em tecidos, deve-se propagar grande número de fótons ($\sim 10^6 - 10^9$) [Prahl, 1988] para se obter baixos níveis de incerteza. Com isso a simulação requer tempo elevado de processamento.

Inúmeros estudos apresentam o MMC como ferramenta para compreensão da interação da luz com a matéria. Contudo, há dificuldade em encontrar na literatura estudos que apresentam a validação da simulação de Monte Carlo por comparação aos resultados obtidos por experimentos.

Carbone e colaboradores [Carbone et al., 2010] analisaram a luz transmitida em mistura contendo leite, água destilada e corante (diluição 1:1000) nas proporções 1:3:0,4, preenchendo uma cubeta de 25 x 25 cm com 3 cm de altura, a partir de imagens capturadas por CCD durante incidência de laser de 830 nm. O comportamento dos perfis radiais de intensidade de luz transmitida obtido por simulação de Monte Carlo esteve de acordo com os resultados experimentais.

Valim e colaboradores, utilizando laser pulsado e fotomultiplicadora, realizaram medidas de larguras de distribuição de intensidades de fótons transmitidos, resolvidas no tempo, em emulsão de gordura e compararam com resultados de simulação de Monte Carlo, utilizando o MCML 1.2.2 [Wang e Jacques, 1992] modificado. Houve compatibilidade entre resultados experimentais e simulados [Valim et al., 2010]. A partir de uma fonte de luz (633 nm) colimada incidindo em emulsão lipídica, Flock e colegas realizaram medidas de fluência em função da profundidade da amostra para três diâmetros de feixe, utilizando uma fibra óptica acoplada a fotomultiplicadora. Os resultados foram comparados com

simulação de Monte Carlo, obteve-se concordância entre os resultados da simulação e experimentais, com discrepâncias nos valores absolutos de fluência após normalização dos resultados do modelo e do experimento [Flock et al., 1989].

2. Materiais e métodos

2.1. Simulação de Monte Carlo para o transporte de luz em tecidos

2.1.1. Descrição do MCML 1.2.2 [Wang e Jacques,1992]

Foi utilizado o software MCML 1.2.2-2000 [Wang e Jacques,1992; Wang et al.,1995], o qual realiza simulação de Monte Carlo para transporte de luz em camadas de tecidos. Basicamente, o programa tem como finalidade calcular as posições e quantidades de fótons absorvidos e espalhados no material, dados seus coeficientes de absorção e espalhamento, fator de anisotropia, índice de refração e suas dimensões. O material é irradiado por uma fonte colimada de fótons.

Como a motivação deste programa é calcular a distribuição de energia radiante no tecido, ele não trata as interações fóton-tecido como fenômeno ondulatório, ou seja, desconsidera a fase e polarização da onda. A aproximação utilizada é que, como os fótons provenientes de um feixe coerente e polarizado sofrem múltiplos espalhamentos no interior de maior parte dos tecidos, após primeira interação fase e polarização tornam-se rapidamente aleatórias. Assim a informação sobre a polarização contribuiria pouco para o cálculo do transporte de energia.

É simulado o lançamento de um pacote de fótons perpendicularmente à superfície do tecido, correspondendo a um feixe estreito, arbitrariamente colimado. Visando melhorar a eficiência da simulação, o programa apresenta uma técnica de redução de variância, permitindo que a simulação propague muitos fótons ao longo de um caminho específico, simultaneamente. A cada pacote de fótons lançados é atribuído um peso estatístico, P , de uma unidade. O peso do fóton é atenuado cada vez que interage com o tecido (absorção) até sua história ser terminada.

Nesta simulação o fóton se propaga em três dimensões no tecido. Utiliza-se um sistema de coordenadas cilíndricas para registrar a posição de absorção dos fótons (r, Z), onde r e Z são as coordenadas radial e axial (eixo Z que corresponde à direção de incidência dos fótons), respectivamente, conforme ilustrado na figura 2.1. Como as camadas de tecido são homogêneas e perpendiculares ao eixo Z , existe uma simetria em torno do mesmo, e as coordenadas (r, Z) são suficientes para o registro final de fótons no tecido. No entanto, as interações de fótons são adequadamente simuladas em todo o volume durante a execução do programa.

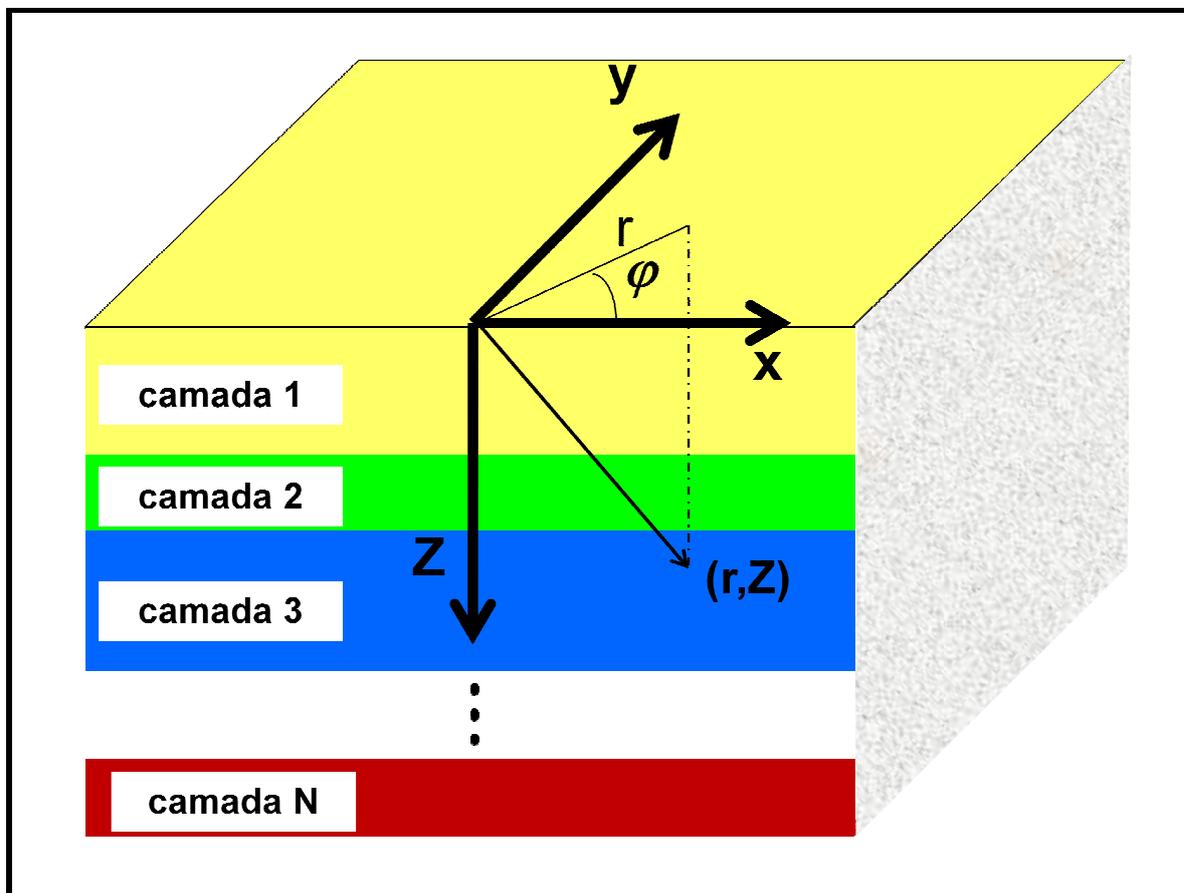


Figura 2.1: Representação do sistema de coordenadas posicionado em camadas de tecido simulado no MCML 1.2.2.

A simulação apresenta um sistema de rede bidimensional nas direções Z e r , onde cada elemento é formado por segmento de linhas dZ e dr . O número total de elementos é dado por Nz e Nr , nas direções Z e r respectivamente.

O MCML pode simular o transporte de luz em camadas de tecido infinitamente largas. Com ele não é possível modelar a geometria real de um órgão, mas sim as camadas de tecido que o constituem ao longo da direção Z , limitando as laterais. O usuário pode estabelecer os limites de interesse da geometria do tecido para o cálculo da distribuição de luz, definindo a extensão do sistema de redes, na direção radial.

Com isso, os fótons que escapam do limite lateral estabelecido no sistema de redes do tecido têm sua história terminada, o programa não simula uma eventual reflexão interna de fótons espalhados na borda lateral do tecido, os efeitos de borda são limitados.

As grandezas físicas simuladas são transmitância, refletância, energia absorvida e fluência. A transmitância e a refletância são calculadas a partir da contagem dos fótons que atravessam o material e que retornam ao plano incidente, respectivamente. A reflexão especular é obtida aleatoriamente por sorteio da equação de Fresnell, pois a mesma corresponde à probabilidade do fóton ser refletido sem interagir com o tecido.

O programa registra a história dos fótons que entram no tecido simulado. A extensão d do passo de cada fóton no tecido é calculada pela amostragem da distribuição de probabilidade do livre caminho médio do fóton (d):

$$d = -\frac{\ln(n)}{\mu_t}, \quad (2.1)$$

onde n é o número aleatório, μ_t é o coeficiente de atenuação total e d é a distância entre duas interações fóton-tecido em seqüência.

Ao final de cada passo d , os fótons sofrem uma interação; absorção ou espalhamento.

A energia absorvida é definida pela grandeza $E(x,y,Z)$: energia depositada em um pequeno elemento de volume, dada em J/cm^3 , numa dada posição (x,y,Z) , correspondendo à energia absorvida para cada elemento de rede do arranjo espacial. Como μ_a e μ_t correspondem, respectivamente, à probabilidade de absorção e de interação de fóton por unidade de caminho, a absorção dos fótons é calculada a partir de μ_a / μ_t , que corresponde à probabilidade de absorção do fóton, cujo valor varia de 0 a 1 conforme o gerador de números aleatórios. No momento em que ocorre a absorção uma fração do peso estatístico, ΔP , é depositada na posição (x,y,Z) , adicionada na grandeza $E(x,y,Z)$ e subtraída do peso do fóton. A fluência em uma dada posição, $F(x,y,Z)$, dada em J/cm^2 , é obtida dividindo-se a energia absorvida por unidade de volume pelo coeficiente de absorção local, $F(x,y,Z) = E(x,y,Z) / \mu_a$.

O espalhamento do fóton é calculado a partir da amostragem da função de Henyey-Greenstein:

$$\cos \theta = \begin{cases} 2n - 1 & \text{se } g = 0 \\ \frac{1}{2g} \left[1 + g^2 - \left(\frac{1-g^2}{1-g+2gn} \right)^2 \right] & \text{se } g > 0 \end{cases} \quad (2.2)$$

onde θ é o ângulo de deflexão variando de 0 a π e n é o número aleatório (0 a 1).

O ângulo azimutal φ é amostrado a partir da equação:

$$\varphi = 2\pi n, \quad (2.3)$$

onde $0 \leq \varphi \leq 2\pi$.

2.1.2. Importância dos parâmetros ópticos para simulação

Atualmente, extrair da literatura valores reais de propriedades ópticas de tecido biológico [Hernández et al., 2009] para obter resultados confiáveis da simulação de MC para o transporte de luz no tecido é muito difícil. Por ser largamente utilizado em fotônica como simulador de tecido, o Lipovenos (Lp) faz parte de muitos trabalhos que apresentam resultados da medição de suas características ópticas. É um líquido predominantemente espalhador em todo espectro visível com parâmetros ópticos conhecidos [Michels et al., 2008]. Com isso, o Lp é o material apropriado para validar experimentalmente o MCML.

As propriedades ópticas do Lp nos comprimentos de onda de 633 nm e 820 nm são mostradas na tabela 2.1. Estes valores foram utilizados nos parâmetros de entrada das simulações.

Tabela 2.1. Propriedades ópticas do Lipovenos 10% [Michels et al., 2008], onde

n = índice de refração; g = fator anisotrópico; μ_a = coeficiente de absorção; μ_s = coeficiente de espalhamento.

λ (nm)	n	g	μ_a (cm ⁻¹)	μ_s (cm ⁻¹)
633	1,332	0,69	0,0023	411,39
820	1,332	0,57	0,073	223,92

2.1.3. Parâmetros de entrada da simulação

Foi simulada a distribuição de luz em camadas de Lp, nas espessuras de 2 a 12 mm e de 30 mm, com raios de 6 mm e 13 mm, depositadas sobre uma fina camada de 1 mm de PMMA. O valor de dz e dr , 0,002 cm, é inferior ao livre caminho médio dos fótons de λ igual

a 633 nm e 820 nm no Lp [Wang, 1992]. O número de elementos de rede nas direções radial e axial variou de acordo com a geometria do tecido a ser simulado.

A figura 2.2 é o exemplo de arquivo texto de entrada do MCML para simular a distribuição de fótons em Lp (raio 6 mm e profundidade 12 mm), com 4×10^7 pacotes de fótons lançados. As propriedades ópticas do Lp (camada 1) para λ de 633 nm são as da tabela 2.1, e as do PMMA (camada 2) para mesmo λ são: $n = 1,49$, $\mu_a = 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$, $\mu_s = 0 \text{ cm}^{-1}$ e $g = 1,0$. Além disso, pôde-se introduzir o índice de refração da região ao redor do material (meio anterior à camada 1 e posterior à camada 2); foi escolhido $n = 1$ para esses meios.

1.0						# file version
1						# number of runs
CP12mm.mco	A					# output filename, ASCII/Binary
40000000						# No. of photons
0.002	0.002					# dz, dr [cm]
650	300	1				# No. of dz, dr, da.
2						# No. of layers
#n	mua	mus	g	d		# One line for each layer
1						# n for medium above
1.332	0.0023	411.39	0.69	1.2		# layer 1
1.49	1E-005	0	1	0.1		# layer 2
1						# n for medium below

Figura 2.2: Arquivo de entrada do MCML

2.1.4. Descrição do programa CONV 1.0 [Wang, 1992]

Após calcular a distribuição de fótons em todo volume do tecido, o MCML grava os resultados em um arquivo texto com dados organizados em colunas. Este arquivo, por sua vez, é arquivo de entrada para outro programa, CONV 1.0 [Wang, 1992;1997], cuja

finalidade é realizar a convolução dos dados simulados com o feixe incidente. No CONV 1.0 se introduzem o valor da energia e a geometria do feixe (circular ou gaussiano), extraíndo do resultado da simulação os perfis de fluência (ou absorção) nas regiões de interesse do tecido, ou seja, os parâmetros físicos calculados pela simulação.

Foram escolhidos potência e perfil dos feixes de acordo com a disponibilidade de equipamentos do laboratório de realizar experimentos para validação da simulação. Para as simulações no vermelho ajustou-se o perfil do feixe gaussiano (raio 2 mm) e a energia escolhida de acordo com as espessuras de amostras simuladas numa faixa de $5 \mu\text{J}$ a $6 \times 10^3 \mu\text{J}$. Para as simulações no infravermelho, perfil do feixe circular (raio 0,6 mm) e a energia variou de acordo com a espessura de amostra simulada numa faixa de $36 \mu\text{J}$ a $11 \times 10^3 \mu\text{J}$. Essas energias correspondem a 1 segundo de iluminação com as potências aplicadas experimentalmente, tanto no vermelho como no infravermelho.

Foram analisados a distribuição radial de fluência na base da amostra e o perfil de fluência ao longo de uma linha vertical na lateral da amostra, figura 2.3, para R igual a 5,5 mm e 12 mm.

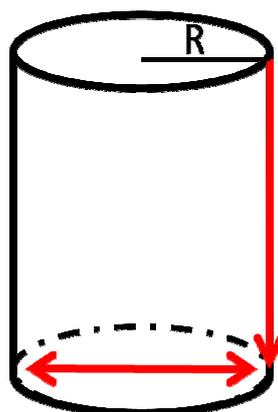


Figura 2.3: Localização dos perfis de fluência simulados

2.2. Materiais utilizados para validação das simulações

2.2.1. Lipovenos, o simulador de tecidos em fotônica

O Lp é uma emulsão lipídica homogênea e estéril destinada, originariamente, para administração intravenosa em pacientes que apresentam déficit nutricional de ácidos graxos essenciais. O Lp ao lado das vitaminas, carboidratos e aminoácidos constituem a nutrição parenteral [Fresenius Kabi Brasil, 2010]. Atualmente, emulsões de gordura têm larga aplicação no estudo da propagação de luz em meios turvos nas áreas de espectroscopia e imagem óptica difusa [Hernández et al., 2009; Bouchard et al., 2010; Yokoi e Aizu, 2008], como padrões de calibração [Michels et al., 2008; Spinelli et al., 2007], ou como simuladores de tecidos [Michels et al., 2008; Bouchard et al., 2010; Pogue et al., 2006]. O Lipovenos apresenta inúmeras vantagens no uso, tais como, baixo μ_a , flexibilidade para obter μ_s desejado de acordo com sua concentração [Drakaki et al., 2001], atoxidade, baixo custo e acessibilidade. Sua constituição é mostrada na tabela 2.2.

Tabela 2.2: Constituição do Lipovenos PLR 10% [Fresenius Kabi Brasil, 2010]

Composição do Lipovenos® PLR 10%	
(a cada 1000 mL)	
Óleo de soja purificado	100,0 g
Glicerol	25 g
Lecitina de ovo	6 g
Excipientes (água, oleato de sódio)	1000 mL

O Lp tem uma ampla distribuição de tamanhos de partículas. A maior porcentagem delas apresenta diâmetro de até 0,15 μm , e a partícula maior pode ter aproximadamente 0,54 μm de diâmetro [Michels et al., 2008; Pogue e Patterson, 2006].

2.2.2. Sistema de aquisição de imagens

O sistema de aquisição de imagens consiste primariamente de uma câmera CCD Hitachi Denshi, modelo KP-M1, acoplada com uma objetiva (conjunto de lentes) para ajuste de foco da imagem. As imagens quando capturadas são transferidas da CCD à placa de aquisição do microcomputador e registradas em arquivo de imagens. A variação do nível de cinza da imagem da amostra está associada à maior ou menor intensidade de luz que atinge a CCD.

Os lasers aplicados foram He-Ne (633 nm – 2 mm de raio) e GaAIs (820 nm – 0,6 mm de raio).

2.3. Arranjo experimental

Para validar a simulação foram desenvolvidas duas cubetas cilíndricas de PMMA, 50 mm de altura, com raio 6 mm (geometria G1) e 13 mm (geometria G2). Foram projetadas especialmente para obter imagens laterais da cubeta com um corte plano de 5 mm (G1) e 10 mm (G2) de largura, da base ao topo ao longo da parede da cubeta, figuras 2.4 e 2.5.

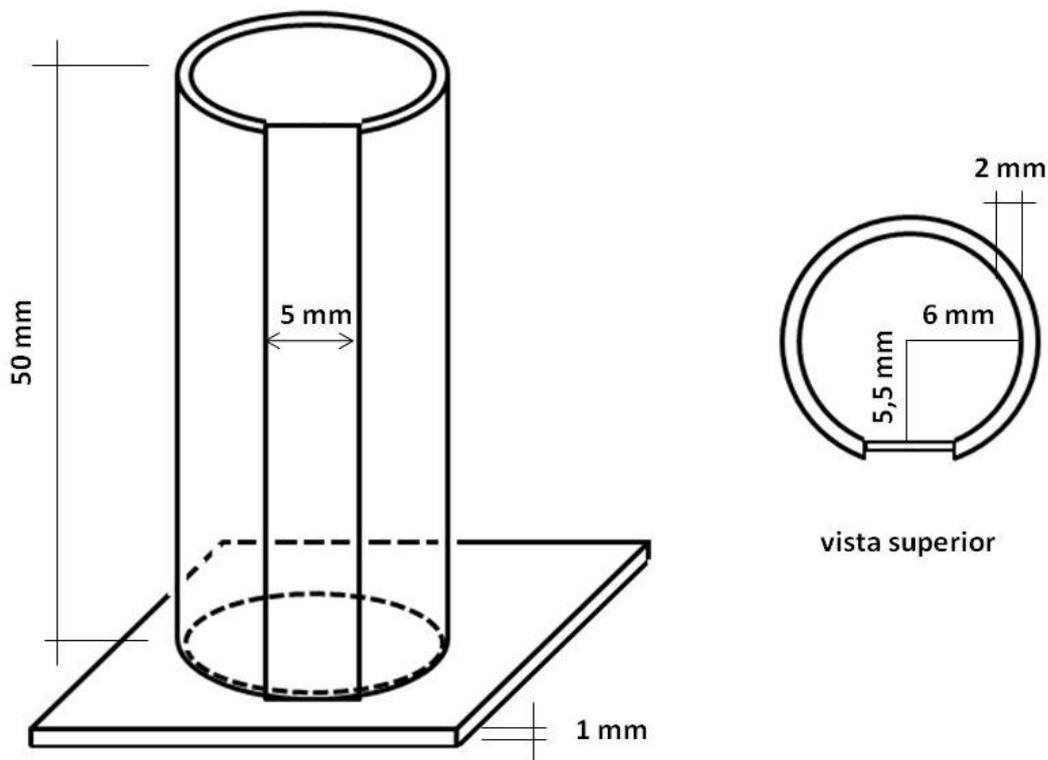


Figura 2.4: Cubeta de PMMA geometria G1

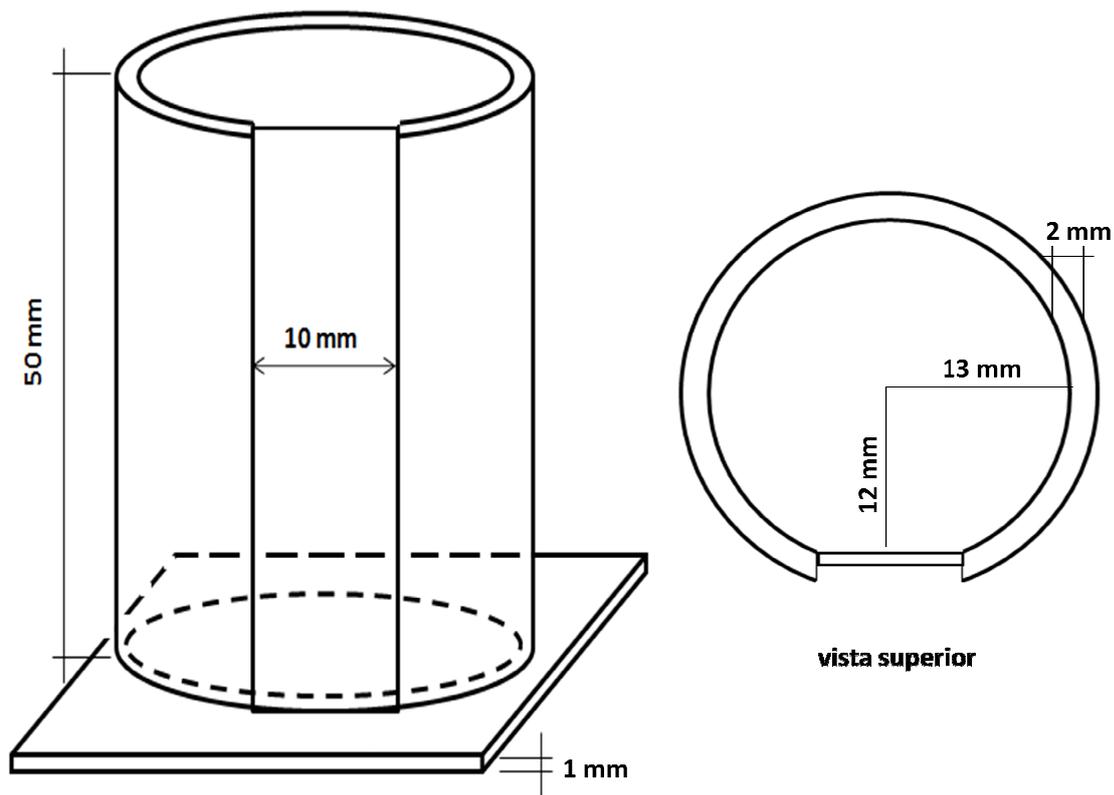


Figura 2.5: Cubeta de PMMA geometria G2

Visando comparar os resultados de transmissão e espalhamento de fótons da simulação com resultados experimentais, foi montado um experimento para medir a distribuição de luz transmitida no fundo da amostra e a distribuição de fótons espalhados lateralmente.

O primeiro passo foi alinhar o feixe verticalmente ao centro da cubeta garantindo uma incidência perpendicular à superfície do líquido. Em seguida, quantidades diferentes de L_p permitiram variar a espessura de líquido (h) com espessuras de 2 a 12 mm em passos de 1 mm. Para isso foi calculado o volume de L_p necessário para variar 1 mm de altura, nas duas geometrias, e utilizou-se uma micropipeta (precisão $2 \mu\text{L}$) na colocação do L_p nas cubetas.

Os fótons transmitidos foram capturados pela câmera CCD posicionada na base da amostra. Para espessura de 30 mm de Lp a CCD foi posicionada a 90° da direção de incidência do feixe, a fim de capturar os fótons espalhados lateralmente, conforme a figura 2.6.

Com objetivo de otimizar a análise de imagens e evitar saturação de luz na CCD foram usados diferentes filtros de atenuação (neutros) entre o laser e a amostra de acordo com a espessura de Lp, obtendo a potência radiante incidente conforme mostrado na tabela 2.3. Este parâmetro foi medido por um medidor de potência radiante (*Newport Power Meter* 1918-C, da marca Ophir), após o feixe ultrapassar os filtros, no modo de operação contínuo onde eram feitas 10.000 medidas por segundo. As médias dessas medidas foram utilizadas para normalizar as intensidades dos pixels (níveis de cinza), comparar quantitativamente o conjunto de imagens obtido e para a convolução dos dados da simulação de Monte Carlo.

Tabela 2.3: Intensidade de luz incidente no Lp de acordo com espessura.

Φ de Lp (mm) – λ(nm)	Espessura (mm)	Potência (μW)
26 – 633	3 a 12	10 a 208
	30	6×10^3
26 – 820	3 a 12	166,5 a $10,1 \times 10^3$
	30	11×10^3
12 – 633	2 a 10	5×10^3
	30	350
12 – 820	2 a 12	36 a $5,6 \times 10^3$
	30	$1,6 \times 10^3$

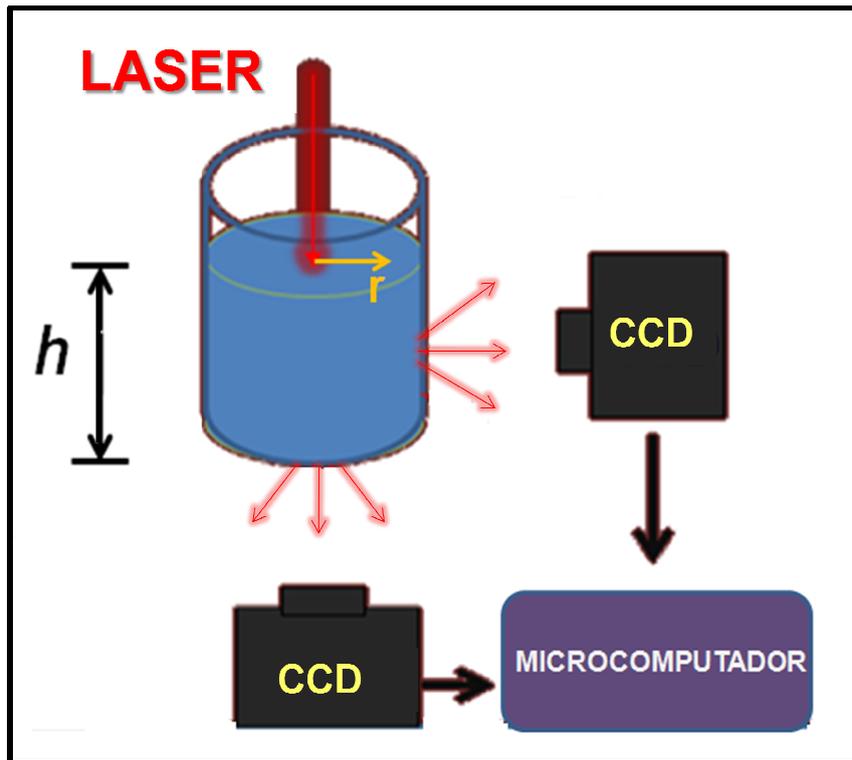


Figura 2.6: Arranjo experimental

As imagens capturadas foram analisadas com o software Image J.

2.4. Tratamento de imagens

O tratamento de imagens teve como principal objetivo quantificar o comportamento da variação de intensidade de luz espalhada e transmitida a partir das imagens. Em cada pixel da imagem a tonalidade de cinza pode variar de acordo com a quantidade de fótons que atinge a CCD. A escala de cinza utilizada foi de 8 bits, varia 0 a 255; onde 0 corresponde à ausência de luz e 255 representa a máxima intensidade. A proporcionalidade entre o nível de cinza e a potência luminosa foi testada para várias imagens, mantendo a configuração da CCD fixa.

Com o software Image J determinou-se a relação pixels/mm das imagens, para calibração espacial, tendo como padrão de calibração das imagens de luz espalhada a própria largura da janela da cubeta mostrada nas imagens como duas linhas verticais

paralelas. O padrão para calibração das imagens de luz transmitida foi o diâmetro interno da cubeta mostrado nas imagens.

Das imagens obtidas lateralmente foi extraído o comportamento da variação de intensidade de luz ao longo de uma linha na direção Z, na posição central da janela da cubeta, figura 2.7a. Das imagens obtidas do fundo da amostra, foi extraído o comportamento da variação de intensidade de luz ao longo de uma linha radial na base da cubeta, passando pelo pixel correspondente ao nível máximo na escala de cinza, figura 2.7b. Para a análise da variação desse perfil com a espessura de L_p , os níveis de cinza de cada imagem foram normalizados pela potência luminosa empregada para aquisição da imagem (tabela 2.3).

A linha Z foi traçada iniciando a 1 mm abaixo da superfície do líquido, correspondendo à espessura do menisco, identificado pela alta intensidade de luz proveniente desta camada inicial da imagem da amostra. Esta escolha foi feita, pois como o MCML 1.2.2 foi desenvolvido para simular transporte de luz em materiais sólidos, sua geometria não considera efeitos da tensão superficial de líquidos, tais como o menisco formado da interação do L_p com a superfície do acrílico da cubeta.

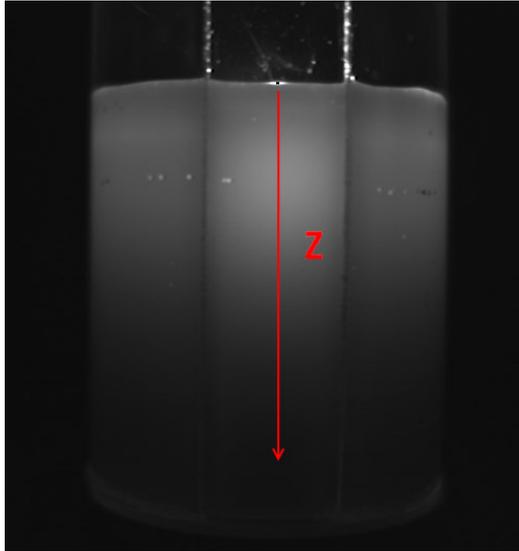


Figura 2.7a

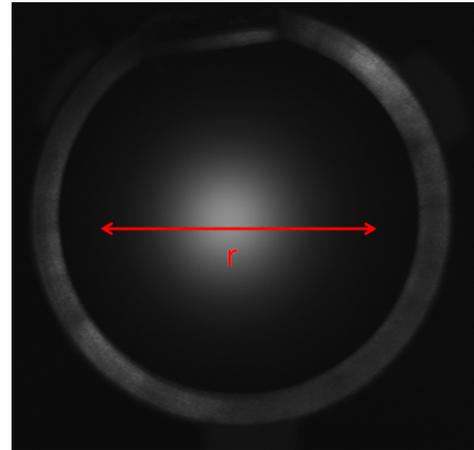


Figura 2.7b

Figura 2.7: a) Imagem obtida a partir de fótons espalhados lateralmente. Foi extraído da imagem o perfil de intensidade (em escala de cinza) ao longo da linha Z; b) Imagem de luz transmitida através do fundo da amostra, com indicação da linha r escolhida para obtenção do perfil de intensidade de luz transmitida na direção radial.

2.5. Procedimento para determinação de incertezas

Para verificar a incerteza experimental da distribuição de intensidade de luz espalhada em L_p associada ao posicionamento das cubetas, o posicionamento da cubeta foi repetido 20 vezes, e cada imagem foi capturada pela CCD posicionada a 90° da direção de incidência. Este procedimento foi feito para o L_p em cubeta de 12 mm de diâmetro (laser de 633 nm) e em cubeta de 26 mm de diâmetro (laser de 820 nm). De cada imagem foi extraído perfil de intensidade de luz com a profundidade.

Para verificar a incerteza da simulação, foi realizado um teste da reprodutibilidade por meio de três simulações da distribuição de luz em L_p de 12 mm de diâmetro e 30 mm de profundidade, com os parâmetros de entrada idênticos. Foi obtido o perfil de fluência ao longo de uma linha vertical na lateral da amostra (conforme ilustrado na figura 2.3) para

R = 6 mm e do qual a posição de máxima intensidade (Z_{\max}) e o coeficiente de atenuação assintótico (μ_{as}) da curva foram identificados. Os valores médios e desvios padrão calculados para Z_{\max} e μ_{as} foram 0,3023 e 0,0023 cm, e 3,2782 e 0,0003 cm^{-1} , respectivamente. Este resultado nos mostra a boa reprodutibilidade da simulação, no qual o desvio padrão para o conjunto de valores de Z_{\max} e μ_{as} foi inferior a 0,8% e a 0,01% do valor médio, respectivamente. A incerteza dos resultados obtidos por simulação de Monte Carlo foi estabelecida como 1%, pois esse foi o valor escolhido como limite de incerteza das grandezas físicas calculadas pelo programa CONV 1.0, quando faz a convolução dos dados simulados: o programa termina o cálculo quando a diferença entre os resultados da iteração atual e a anterior é inferior ao limite escolhido.

3. Resultados e Discussão

3.1. Transmissão de luz

A distribuição radial de fluência radiante transmitida por amostras simuladas de 3, 4 e 5 mm de espessura de L_p , é mostrada na figura 3.1a para o comprimento de onda de 633 nm em camadas de 26 mm de diâmetro. Na figura 3.1b temos o resultado experimental de intensidade de luz transmitida correspondente às mesmas configurações da simulação de Monte Carlo. Nos dois casos as intensidades foram normalizadas para a intensidade de luz emergente da amostra mais fina (3 mm), mantida a intensidade de luz incidente em todas elas.

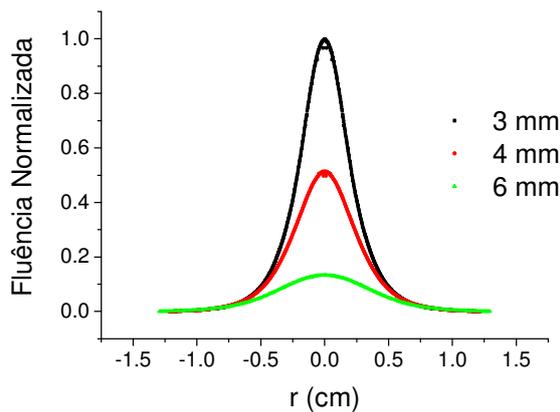


Figura 3.1a

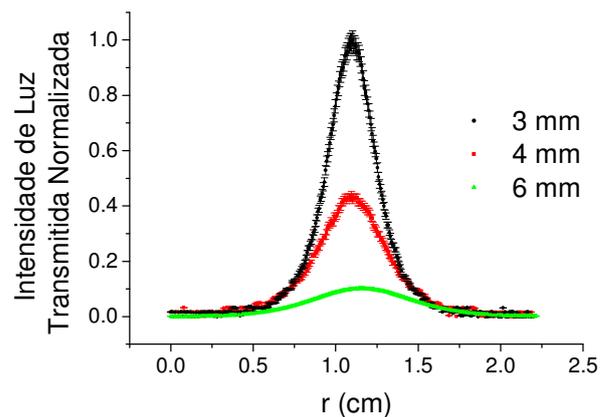


Figura 3.1b

Figura 3.1: Transmissão de luz para diferentes espessuras de L_p : a) Perfil de fluência na base da amostra ao longo da direção radial obtido por simulação de Monte Carlo. b) Distribuição de intensidade de luz da base da amostra ao longo da direção radial obtido experimentalmente.

Os resultados normalizados mostrados na figura 3.1b confirmam que, dado um feixe de laser incidente na amostra com intensidade fixa, a quantidade de luz transmitida diminui com a espessura de L_p adicionado. A quantidade de luz transmitida é máxima na direção

de incidência do feixe e se distribui ao longo da direção radial de forma bastante simétrica. Este comportamento se verifica de maneira similar em todas as espessuras da amostra, nas duas geometrias e para ambos os comprimentos de onda incidentes.

Os mesmos comportamentos apresentaram os resultados das simulações de Monte Carlo, onde a distribuição radial de fluência na base das diferentes camadas de Lp apresentou comportamentos qualitativamente similares às curvas da figura 3.1a, tanto no visível como no infravermelho nas duas geometrias, também com intensidade máxima situada na direção de incidência do feixe, decrescendo ao longo da direção radial.

Visando análise quantitativa dos resultados obtidos, tentou-se ajustar aos perfis de intensidade de luz transmitida várias funções de pico. Os melhores ajustes foram obtidos com a função de Gauss, como os exemplos da figura 3.2. Note-se que, para pequenas espessuras de Lp (2 a 5 mm), foram ajustadas gaussianas ao conjunto de dados situado na parte central da distribuição de intensidades.

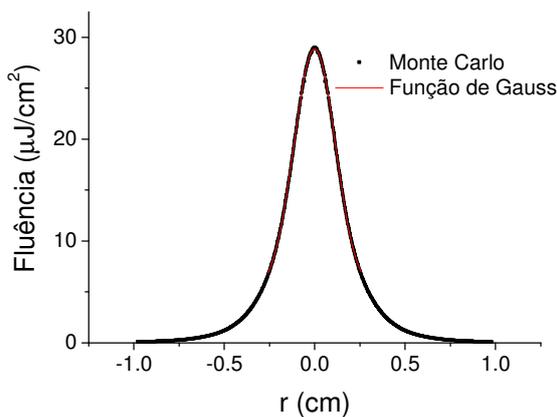


Figura 3.2a

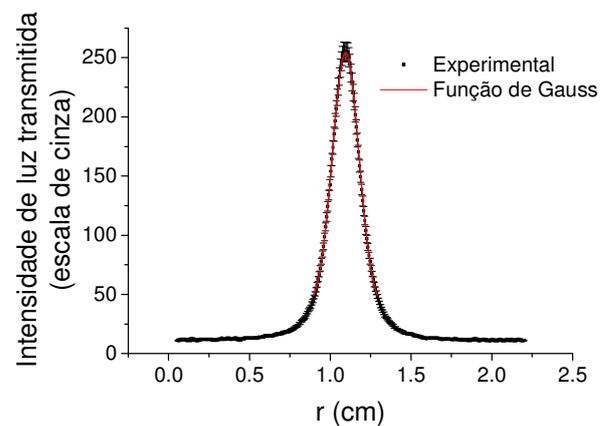


Figura 3.2b

Figura 3.2: Exemplo de ajuste gaussiano aos dados realizado em todos os perfis de transmissão de luz da base da amostra para diferentes espessuras de Lp: a) Simulação de Monte Carlo para

intensidade de luz vermelha (633 nm) em 26 mm de diâmetro de Lp. b) Experimental para intensidade de luz vermelha (633 nm) em 26 mm de diâmetro de Lp.

Com o resultado do ajuste para cada espessura de Lp, extraíram-se da curva ajustada os valores de intensidade máxima de luz transmitida (I_{\max}) e a largura da distribuição (2σ) para análise de suas variações com a espessura de Lp.

3.1.1. Transmissão de luz em camadas de Lipovenos 10% com diâmetro de 12 mm

Na figura 3.3 observa-se a variação de 2σ com a espessura de amostra para resultados simulados e experimentais (633 nm). A distribuição de intensidade de luz se alarga para maiores espessura de Lp. O comportamento de 2σ é aproximadamente linear de 2 a 6 mm de espessura de Lp em ambos os resultados, experimental e simulado. As curvas obtidas por ajuste linear apresentam coeficientes angulares compatíveis, dentro do intervalo de 68% de confiança: $0,87 \pm 0,03$ mm/mm (Monte Carlo) e $0,897 \pm 0,015$ mm/mm (experimental). Este resultado nos mostra que, para cada milímetro de Lp adicionado o feixe transmitido aumenta 0,9 mm em seu diâmetro, aproximadamente. A variação da largura de distribuição para h superior a 7 mm é pouco significativa, e em espessuras maiores, o comportamento de 2σ tende a uma constante. A simulação de Monte Carlo reproduz bem o experimento, até alargamentos da distribuição de luz tais que não se aproximem dos limites das bordas laterais da amostra, já que somente no experimento há paredes de contenção do líquido.

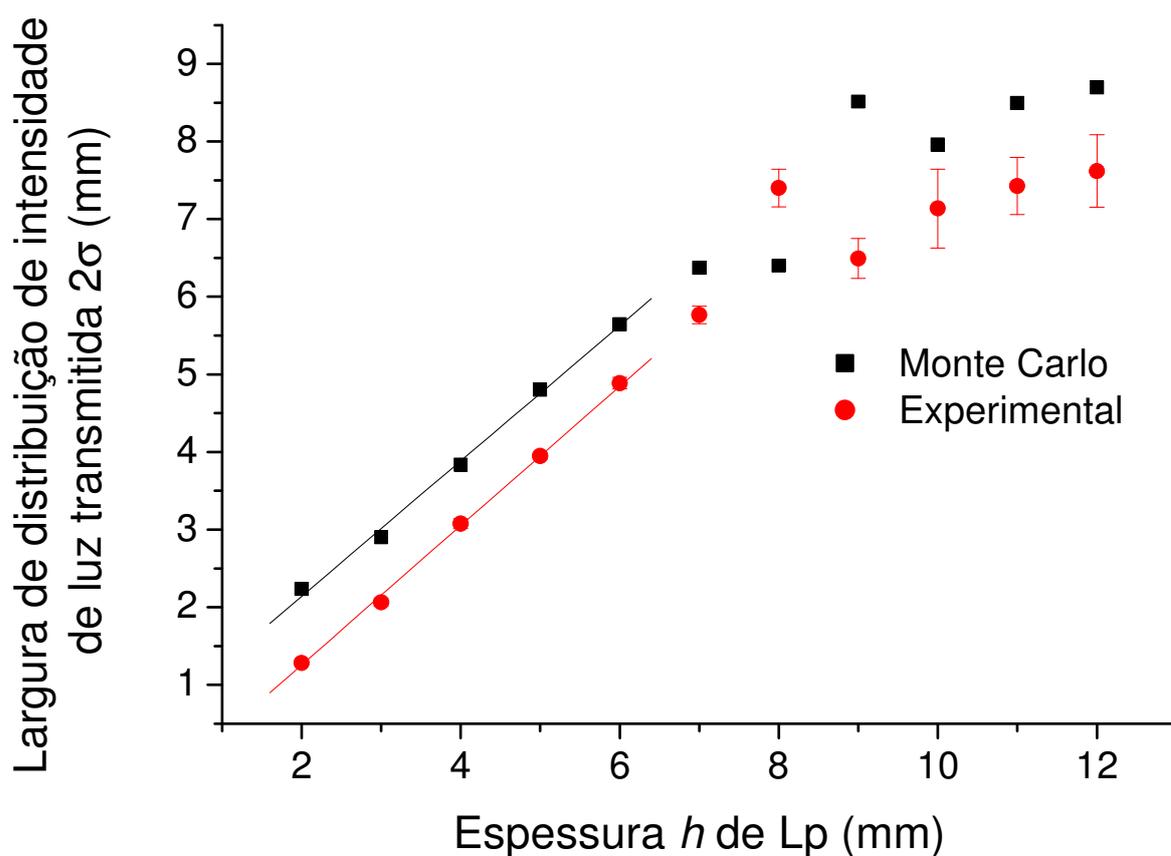


Figura 3.3: Variação da largura da distribuição do perfil radial de intensidade de luz vermelha (633 nm) em função da espessura de Lp ($\Phi = 12$ mm). Comparação entre resultados experimentais e simulação de Monte Carlo.

Embora a variação de 2σ com espessura de Lp dos resultados experimentais e simulados seja similar, os valores de largura da distribuição obtidos por simulação são quase sempre superiores aos valores experimentais. Durante o experimento observou-se que o menisco côncavo do Lp na parede da cubeta fazia com que as camadas não tivessem espessura fixa, sendo ligeiramente maior nas bordas. Como h foi calculado pelo volume de Lp e área da base, a espessura da amostra no ponto de incidência do laser é menor do que o valor determinado. Esse fato é mais relevante para distribuição de luz transmitida em camadas líquidas de pequenas espessuras. Nesta hipótese, o menisco

pode ser fonte de discrepância na comparação da simulação de Monte Carlo com experimento; o programa - por simular transporte de luz em tecidos não apresenta o menisco em sua geometria.

A validação da simulação de Monte Carlo por comparação dos valores absolutos de I_{\max} torna-se difícil, pois se obtém da simulação a fluência (J/cm^2) na base da amostra, e do experimento a variação de intensidade de luz que atinge a CCD, dada em nível de cinza da imagem, conforme observado na figura 3.2. Assim, foi realizada a normalização dos I_{\max} obtidos da simulação e do experimento para comparação das tendências em função da espessura de L_p .

As intensidades máximas obtidas pelos ajustes aos resultados simulados e experimentais foram analisadas em função da espessura de L_p , como mostrado na figura 3.4. A intensidade máxima transmitida diminui acentuadamente nas primeiras camadas de L_p e mais adiante decresce mais lentamente com o aumento da espessura de L_p . Com isso, uma função exponencial de segunda ordem foi ajustada aos dados e os coeficientes de atenuação obtidos do ajuste são mostrados na tabela 3.1.

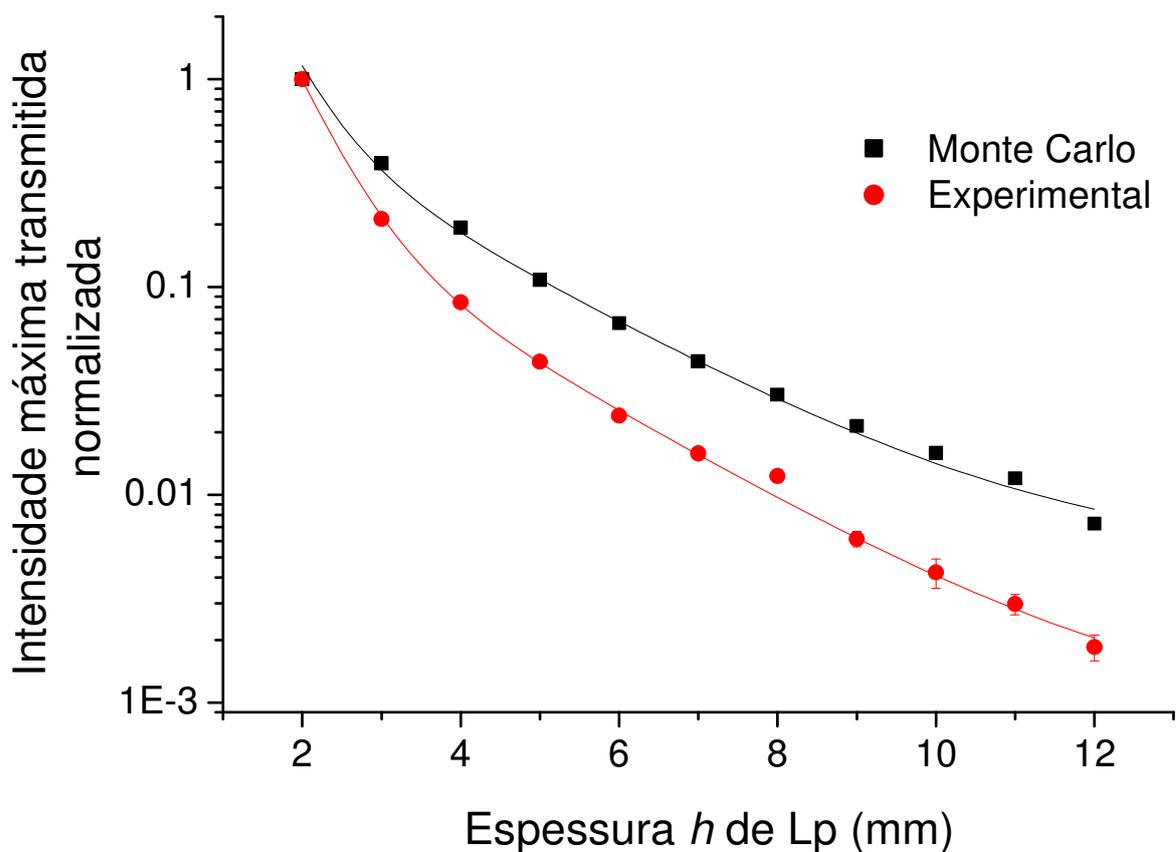


Figura 3.4: Intensidade máxima de luz vermelha (633 nm) transmitida para várias espessuras de Lp ($\Phi = 12$ mm), para intensidade de luz incidente fixa. Resultados experimentais comparados com simulação de Monte Carlo, normalizados para a intensidade de luz emergente da amostra com 2 mm.

Tabela 3.1: Parâmetros obtidos do ajuste de exponencial de 2ª ordem

($I = A_1 e^{-\mu_1 h} + A_2 e^{-\mu_2 h} + I_f$) aos dados da figura 3.4 e parâmetros de atenuação

calculados por Teoria de Difusão.

Coeficientes de Atenuação	Monte Carlo	Experimental	Teoria de Difusão
μ_1 (cm ⁻¹)	20,71 ± 0,24	20,1 ± 1,1	μ_t (cm ⁻¹) 411,39
μ_2 (cm ⁻¹)	4,85 ± 0,07	5,07 ± 0,24	μ_{eff} (cm ⁻¹) 0,938

A intensidade e fluência máxima transmitidas pela amostra decrescem exponencialmente em função de h , tanto nos resultados experimentais, quanto nos simulados – os pares de coeficientes de atenuação obtidos pelo ajuste são compatíveis entre si. As intensidades normalizadas obtidas por simulação foram sempre superiores às observadas experimentalmente, devido à escolha do ponto de normalização. Os valores de coeficientes de atenuação obtidos experimentalmente diferem acentuadamente dos valores obtidos por Teoria de Difusão.

Assim, o comportamento de 2σ e I_{\max} com a espessura de L_p obtido da simulação de Monte Carlo é basicamente o mesmo obtido experimentalmente para luz transmitida, a partir de uma fonte laser de 633 nm incidente em camadas de L_p com 12 mm de diâmetro.

Para transmissão de luz no infravermelho (820 nm), a variação de 2σ com a espessura de amostra foi analisada como mostra a figura 3.5. Observa-se que a distribuição de intensidade se alarga para maiores espessuras de L_p em ambos resultados. O comportamento de 2σ é aproximadamente linear de 2 a 8 mm de espessura de L_p em ambos os resultados, experimental e simulado. As curvas obtidas por ajuste linear apresentam coeficientes angulares diferentes: $0,672 \pm 0,020$ mm/mm (Monte Carlo) e $0,866 \pm 0,028$ mm/mm (experimental). Este resultado nos mostra que para cada 1 mm de L_p adicionado o feixe transmitido se alarga 0,9 mm, aproximadamente, enquanto o simulado se abre 0,2 mm a menos que o experimental. O aumento da largura de distribuição para h superior a 9 mm é pouco significativo; em espessuras maiores de L_p o comportamento de 2σ tende a uma saturação, possivelmente devido à proximidade das laterais da amostra.

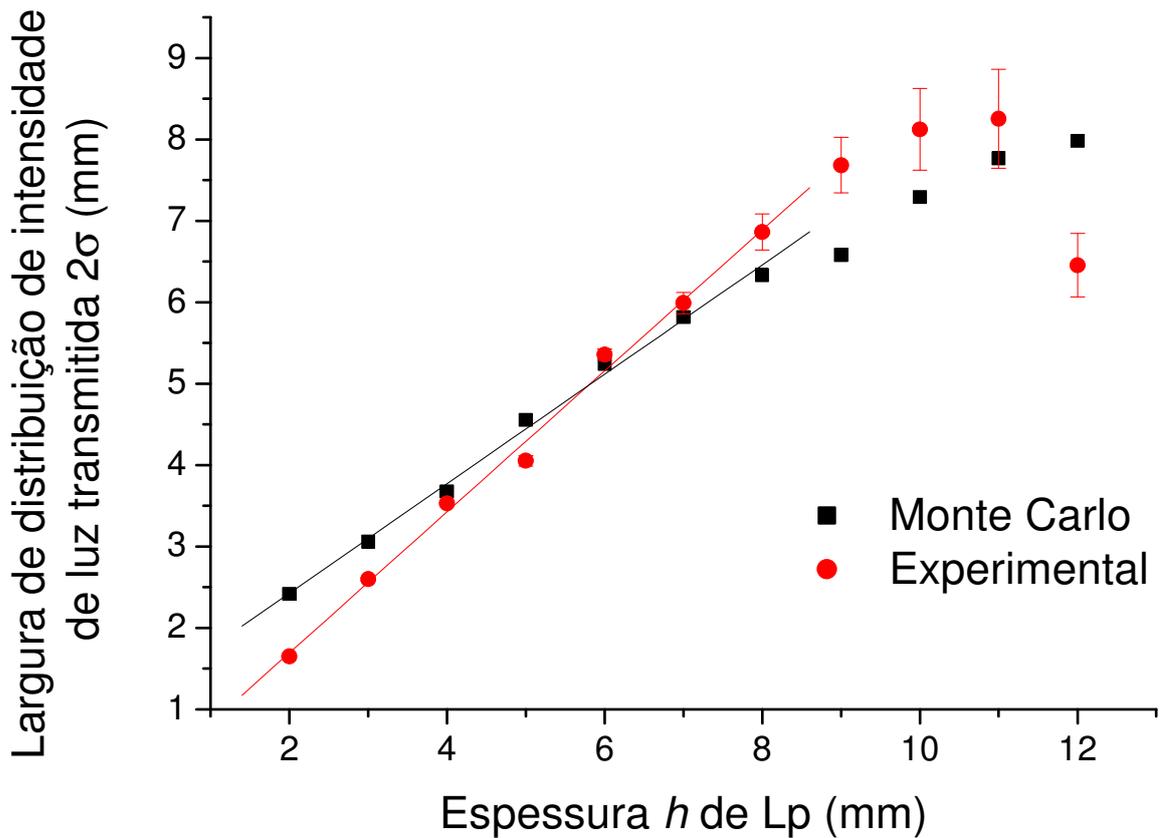


Figura 3.5: Variação da largura da distribuição do perfil radial de intensidade de luz infravermelha (820 nm) em função da espessura de L_p ($\Phi = 12$ mm). Comparação entre resultados experimentais e simulação de Monte Carlo.

De acordo com a figura 3.5, as larguras das distribuições simuladas de 2 a 5 mm de espessura de L_p são superiores às dos resultados experimentais. No entanto, a partir de 6 mm de espessura de L_p , os resultados para as larguras de distribuição simulados são inferiores aos resultados experimentais. É possível que parte desta discrepância esteja associada à presença do menisco, o qual, em camadas de apenas 12 mm de diâmetro, pode influenciar a distribuição de luz em pequenas espessuras de L_p .

Ainda para luz transmitida no infravermelho (820 nm), as intensidades máximas obtidas pelo ajuste aos resultados, simulados e experimentais, foram analisadas em função da espessura de L_p , como mostrado na figura 3.6.

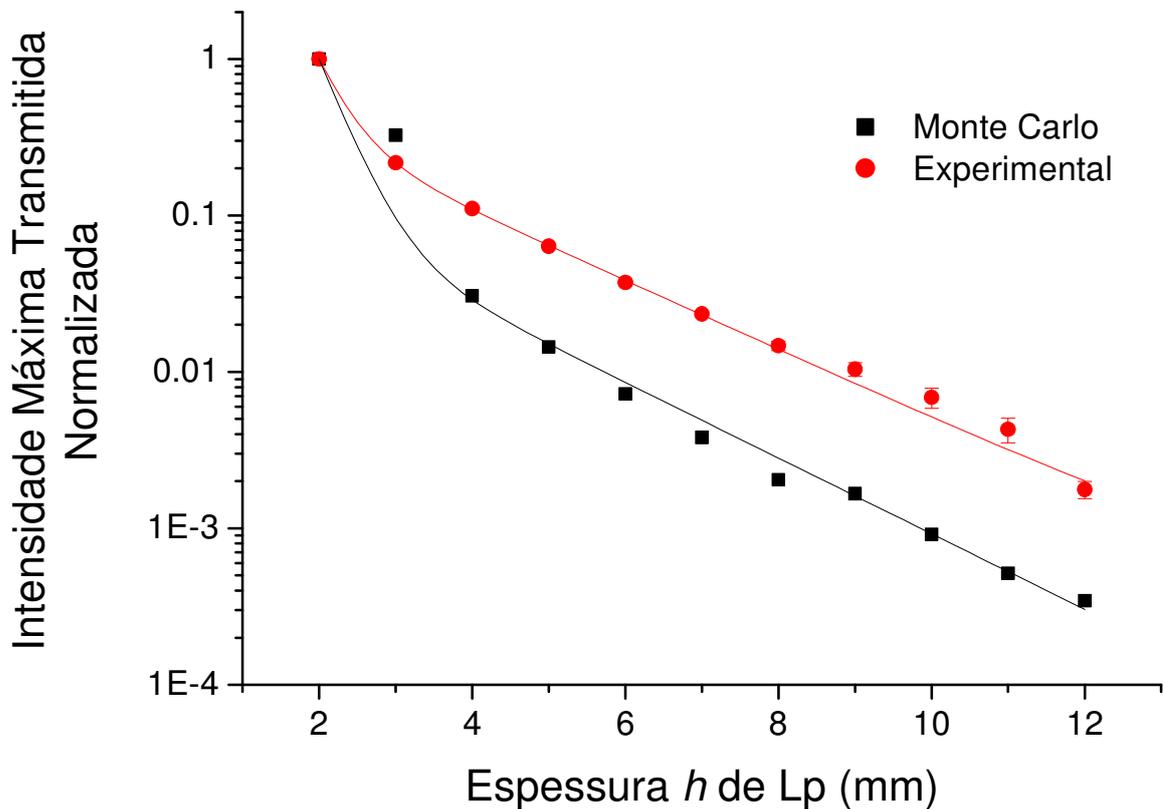


Figura 3.6: Intensidade máxima de luz infravermelha (820 nm) transmitida para várias espessuras de L_p ($\Phi = 12$ mm), para intensidade de luz incidente fixa. Resultados experimentais comparados com simulação de Monte Carlo, normalizados para a intensidade de luz emergente da amostra com 2 mm.

Como a intensidade máxima transmitida diminui rapidamente nas primeiras camadas e mais adiante decresce mais lentamente com o aumento da espessura de L_p , a função exponencial de 2ª ordem foi ajustada aos dados, e seus parâmetros são mostrados na tabela 3.2.

Tabela 3.2: Parâmetros obtidos do ajuste de exponencial de 2ª ordem

($I = A_1 e^{-\mu_1 h} + A_2 e^{-\mu_2 h} + I_f$) aos dados da figura 3.6 e parâmetros de atenuação calculados pela Teoria de Difusão.

Coefficientes de Atenuação	Monte Carlo	Experimental	Teoria de Difusão	
μ_1 (cm ⁻¹)	28,933 ± 0,008	29,1 ± 1,4	μ_t (cm ⁻¹)	223,99
μ_2 (cm ⁻¹)	5,57 ± 0,07	5,14 ± 0,13	μ_{eff} (cm ⁻¹)	4,593

A intensidade luminosa e a fluência máxima transmitidas através do Lp sofrem atenuação exponencial com a espessura da amostra, tanto nos resultados experimentais quanto nos simulados. Além disso, os pares de coeficientes de atenuação obtidos foram próximos ou compatíveis entre si. Os valores de coeficientes de atenuação obtidos experimentalmente diferem dos valores obtidos por Teoria de Difusão, embora o valor de μ_2 seja bem próximo do μ_{eff} .

Os resultados experimentais de intensidade máxima de luz transmitida em camadas de Lp de diâmetro de 12 mm mostram que a luz infravermelha (820 nm) sofre maior atenuação com a espessura, comparada com a luz vermelha (633 nm), cujo μ_1 obtido foi de $20,1 \pm 1,1$ cm⁻¹. Para maiores espessuras, a atenuação é a mesma nos dois comprimentos de onda. O comportamento da largura da distribuição de luz, experimentalmente, é praticamente o mesmo para os dois comprimentos de onda, mas nos resultados simulados se observa menor alargamento da distribuição de intensidade por milímetro de Lp com o aumento da espessura da amostra.

3.1.2. Transmissão de luz em camadas de Lipovenos 10% com diâmetro de 26 mm

Na figura 3.7 observa-se a variação de 2σ com a espessura de amostra (resultados experimentais e simulados, 633 nm). Novamente se nota que a distribuição de intensidade de luz é mais larga para maiores espessuras de L_p . Para esta geometria o comportamento de 2σ é aproximadamente linear de 2 a 7 mm de espessura de L_p , em ambos os resultados, experimental e simulado. As curvas obtidas por ajuste linear apresentam coeficientes angulares, $1,07 \pm 0,08$ mm/mm (Monte Carlo) e $1,03 \pm 0,03$ mm/mm (experimental), resultados compatíveis dentro do intervalo de 68% de confiança. Este resultado nos mostra que para cada milímetro de L_p adicionado o feixe transmitido aumenta 1 mm em seu diâmetro, aproximadamente. Para h superior a 8 mm o crescimento de 2σ com a altura de L_p se torna mais lento, embora não se evidencie uma tendência a saturação.

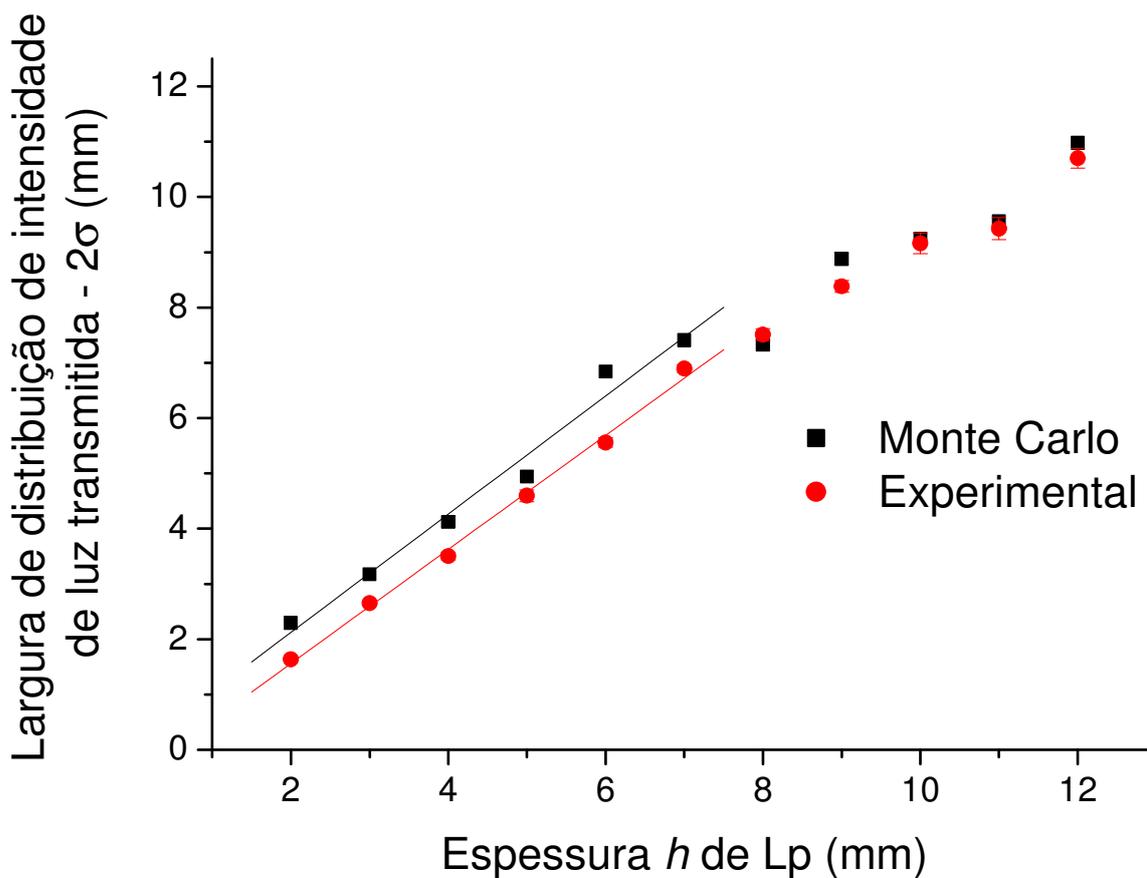


Figura 3.7: Variação da largura da distribuição do perfil radial de intensidade de luz vermelha (633 nm) em função da espessura de L_p ($\Phi = 26$ mm). Comparação entre resultados experimentais e simulação de Monte Carlo.

A variação da largura da distribuição com espessura de L_p dos resultados experimentais e simulados foram similares, e novamente os valores de 2σ obtidos por simulação quase sempre são superiores aos valores experimentais. Apesar de ser uma geometria de maior diâmetro, o erro associado ao menisco para pequenas espessuras pode ainda ter interferido no resultado, embora menos comparado aos resultados anteriores (figura 3.3).

As intensidades máximas de luz vermelha (633 nm) obtidas pelo ajuste de gaussianas aos resultados, simulados e experimentais, foram analisadas em função da espessura de L_p , como mostrado na figura 3.8. Novamente se observa que a intensidade máxima transmitida diminui rapidamente nas primeiras camadas de L_p e mais adiante decresce mais lentamente com o aumento da espessura de L_p . Com isso, a função exponencial de segunda ordem foi ajustada aos dados, e seus parâmetros são mostrados na tabela 3.3.

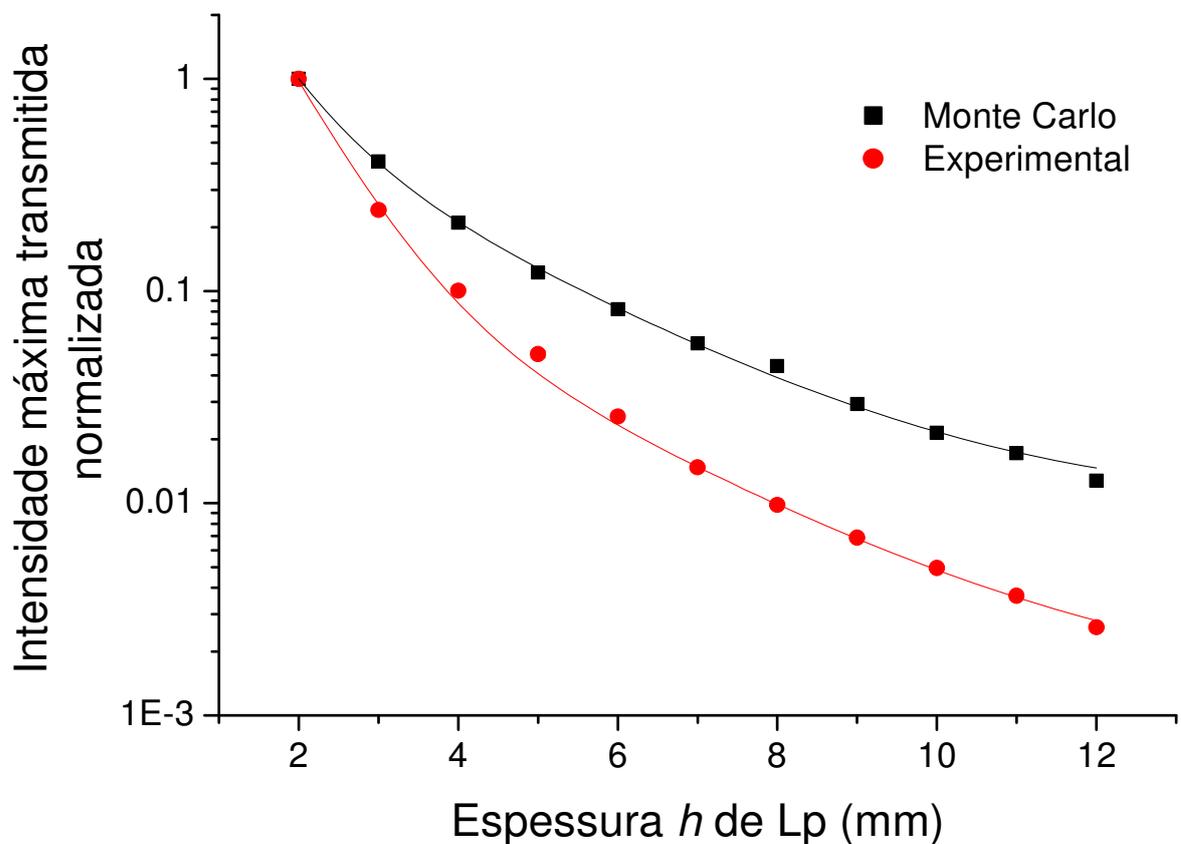


Figura 3.8: Intensidade máxima de luz vermelha (633 nm) transmitida para várias espessuras de L_p ($\Phi = 26$ mm), para intensidade de luz incidente fixa. Resultados experimentais comparados com simulação de Monte Carlo, normalizados para a intensidade de luz emergente da amostra com 2 mm.

Tabela 3.3: Parâmetros obtidos do ajuste de exponencial de 2ª ordem

($I = A_1e^{-\mu_1h} + A_2e^{-\mu_2h} + I_f$) aos dados da figura 3.8 e parâmetros de atenuação calculados por Teoria de Difusão.

Coefficientes de Atenuação	Monte Carlo	Experimental	Teoria de Difusão	
μ_1 (cm ⁻¹)	16,06 ± 0,05	15,7 ± 0,3	μ_t (cm ⁻¹)	411,39
μ_2 (cm ⁻¹)	4,53 ± 0,05	4,41 ± 0,10	μ_{eff} (cm ⁻¹)	0,938

A intensidade luminosa máxima e a fluência máxima transmitidas através da amostra decrescem exponencialmente com a espessura da amostra, figura 3.8, tanto nos resultados experimentais quanto nos simulados. Além disso, os pares de coeficientes de atenuação obtidos são compatíveis entre si, embora diverjam acentuadamente dos valores obtidos por Teoria de Difusão. Mais uma vez, as intensidades normalizadas obtidas por simulação foram sempre superiores às observadas experimentalmente.

Para luz transmitida no infravermelho (820 nm), a variação de 2σ com a espessura de amostra foi analisada (figura 3.9). Novamente o comportamento de 2σ é aproximadamente linear somente para as camadas finas de Lp em ambos os resultados, experimental e simulado. As curvas obtidas por ajuste linear apresentam coeficientes angulares: $0,931 \pm 0,022$ mm/mm (Monte Carlo) e $1,324 \pm 0,007$ mm/mm (experimental). Este resultado nos mostra que para cada milímetro de Lp adicionado o feixe transmitido abre 1,3 mm, aproximadamente, enquanto o simulado alarga quase 0,4 mm a menos que o experimental.

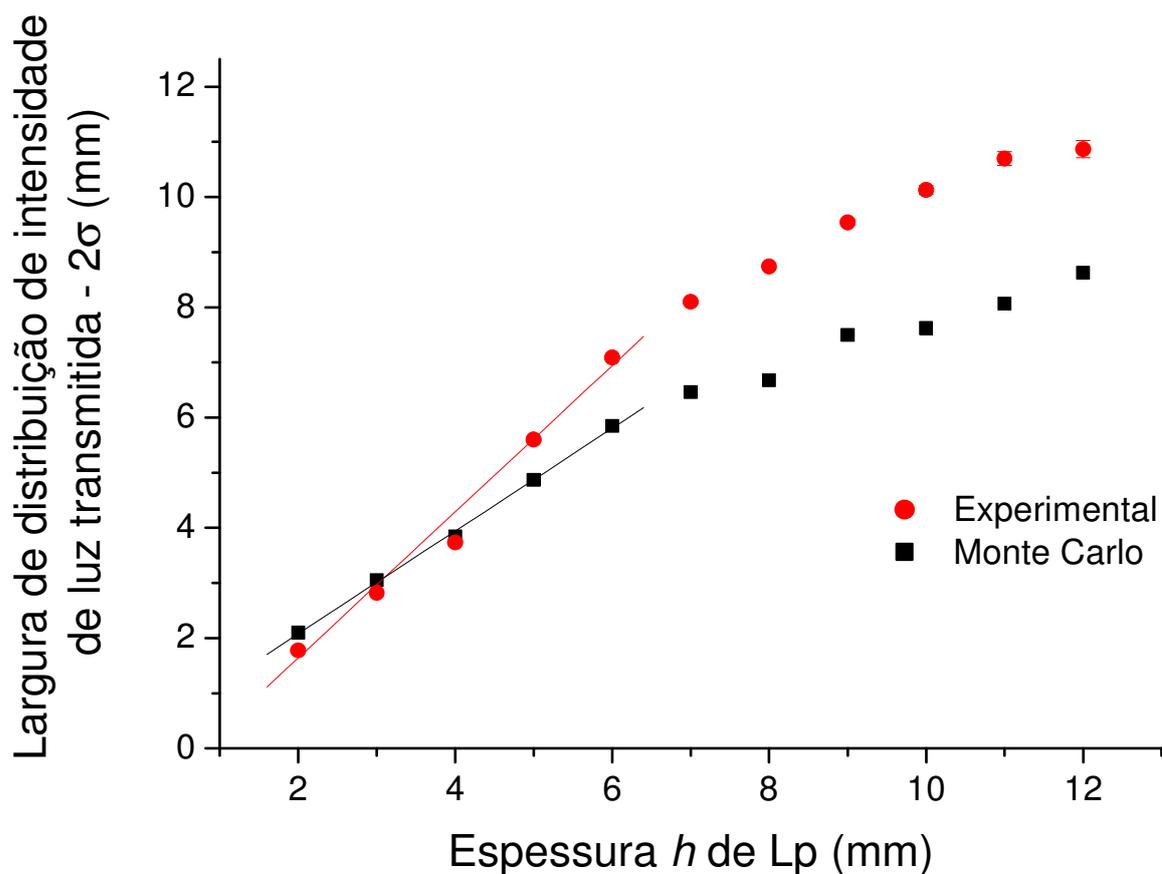


Figura 3.9: Variação da largura da distribuição do perfil radial de intensidade de luz infravermelha (820 nm) em função da espessura de Lp ($\Phi = 26$ mm). Comparação entre resultados experimentais e simulação de Monte Carlo.

Na figura 3.9, pode-se observar que as larguras das distribuições simuladas para pequenas espessuras de Lp são próximas do resultado experimental. No entanto, a partir de 5 mm de espessura de Lp, os valores de 2σ obtidos pela simulação divergem bastante do resultado experimental. Esta divergência pode estar associada a eventuais discrepâncias entre os valores utilizados na simulação para os parâmetros ópticos do Lp no comprimento de onda de 820 nm e os valores reais.

Ainda para a transmissão de luz infravermelha (820 nm), as intensidades máximas obtidas pelo ajuste aos resultados, simulados e experimentais, foram analisadas com a

espessura de L_p , como mostrado na figura 3.10. A intensidade máxima transmitida diminui rapidamente nas primeiras camadas de L_p e decresce mais lentamente com o aumento da espessura de L_p . Com isso, a função exponencial de segunda ordem foi ajustada aos dados, e os parâmetros de atenuação obtidos do ajuste são mostrados na tabela 3.4.

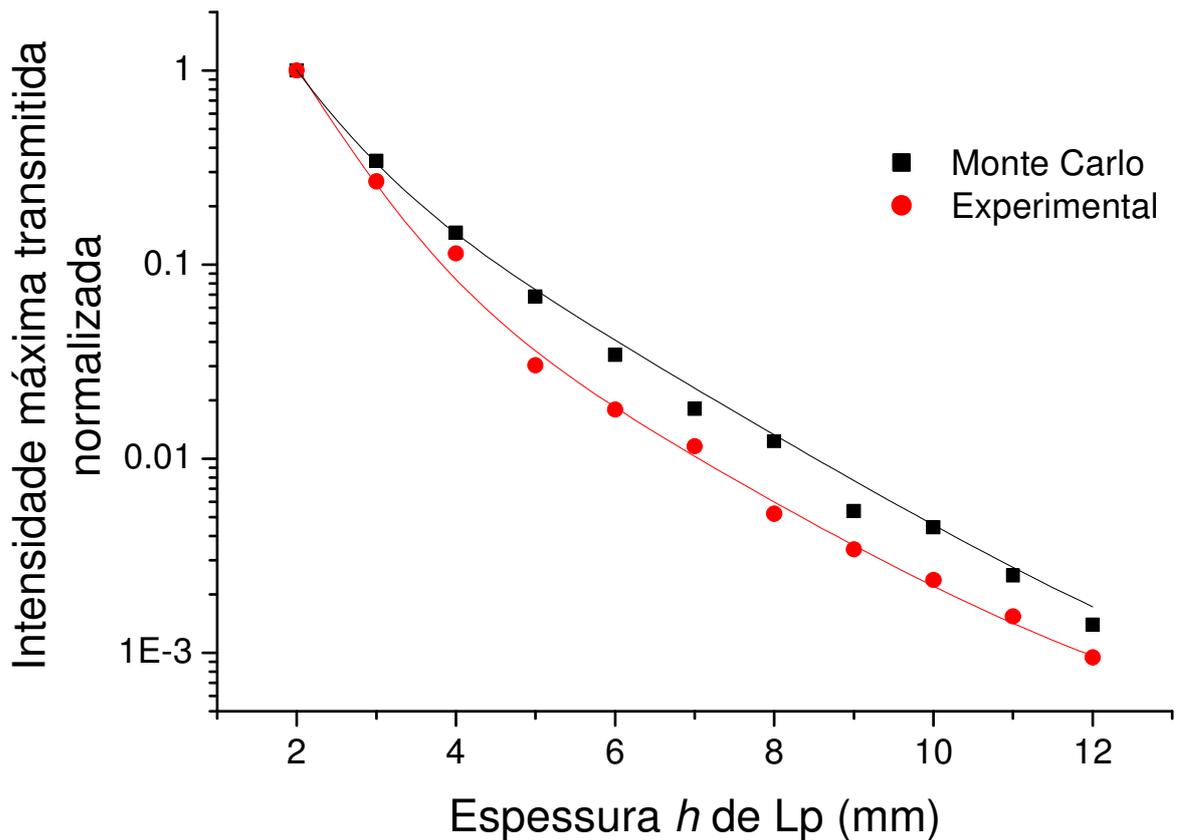


Figura 3.10: Intensidade máxima de luz infravermelha (820 nm) transmitida para várias espessuras de L_p ($\Phi = 26$ mm), para intensidade de luz incidente fixa. Resultados experimentais comparados com simulação de Monte Carlo, normalizados para a intensidade de luz emergente da amostra com 2 mm.

Tabela 3.4: Parâmetros obtidos do ajuste com exponencial de 2ª ordem

($I = A_1e^{-\mu_1h} + A_2e^{-\mu_2h} + I_f$) aos dados da figura 3.10 e parâmetros de atenuação calculados pela Teoria de Difusão.

Coefficientes de Atenuação	Monte Carlo	Experimental	Teoria de Difusão	
μ_1 (cm ⁻¹)	16,55 ± 0,06	16,49 ± 0,22	μ_t (cm ⁻¹)	223,99
μ_2 (cm ⁻¹)	5,61 ± 0,09	5,52 ± 0,06	μ_{eff} (cm ⁻¹)	4,593

Os resultados apresentados na figura 3.10 mostram que a intensidade luminosa e a fluência máxima transmitidas através do Lp têm comportamento semelhante: decrescem exponencialmente com a espessura da amostra obtendo-se valores dos pares de coeficientes de atenuação compatíveis. Os valores de coeficientes de atenuação obtidos experimentalmente diferem dos valores obtidos por Teoria de Difusão, embora o valor de μ_2 seja próximo do μ_{eff} .

Os resultados experimentais de intensidade máxima de luz transmitida em camadas de Lp de diâmetro de 26 mm mostram que a atenuação é praticamente a mesma para luz de comprimento de onda 633 nm e para luz infravermelha (820 nm). Nos dois comprimentos de onda, os resultados obtidos para μ_1 são próximos de 16 cm⁻¹. Além disso, a luz infravermelha sofre maior alargamento da distribuição de intensidade por milímetro de Lp, comparado à luz visível (633 nm).

3.1.3. Influência do comprimento de onda do laser e do diâmetro de Lipovenos 10% na transmissão de luz

Para ambos os diâmetros de Lp e para os dois comprimentos de onda do laser existem comportamentos semelhantes entre a simulação de Monte Carlo e o experimento, com

parâmetros muito próximos obtidos por ajustes aos dados. As larguras das distribuições experimentais e simuladas nem sempre foram compatíveis. Para 633 nm as diferenças entre as larguras experimentais e simuladas foram quase sempre inferiores a 1 mm, sendo as simuladas predominantemente superiores às experimentais, para as duas geometrias. Já para a luz infravermelha, as larguras das distribuições simuladas são, na maior parte das vezes, inferiores às das distribuições experimentais. As maiores discrepâncias observadas foram para Lp de 26 mm de diâmetro, para 820 nm, chegando a 2,5 mm.

A intensidade de luz transmitida sofre maior atenuação em camadas de Lp de diâmetro de 12 mm comparada às camadas de 26 mm, tanto nos resultados simulados quanto experimentais, dado o mesmo comprimento de onda: na tabela 3.5 pode-se observar que o valor de μ_1 , obtido do resultado das amostras de menor diâmetro de Lp, é superior ao coeficiente de atenuação obtido para geometria maior de Lp, nos dois comprimentos de onda.

A intensidade de luz vermelha (633 nm) transmitida sofre menor atenuação nas duas geometrias comparada à luz infravermelha (820 nm).

Tabela 3.5: Coeficientes de atenuação μ_1 e μ_2 obtidos do ajuste com exponencial de 2ª ordem ($I = A_1 e^{-\mu_1 h} + A_2 e^{-\mu_2 h} + I_f$) aos dados experimentais das figuras 3.4, 3.6, 3.8 e 3.10 e parâmetros de atenuação calculados pela Teoria de Difusão.

Diâmetro (mm)	λ (nm)	Coeficientes de Atenuação	Monte Carlo	Experimental	Teoria de Difusão	
12	633	μ_1 (cm ⁻¹)	20,71 ± 0,24	20,1 ± 1,1	μ_t (cm ⁻¹)	411,39
		μ_2 (cm ⁻¹)	4,85 ± 0,07	5,07 ± 0,24	μ_{eff} (cm ⁻¹)	0,938
12	820	μ_1 (cm ⁻¹)	28,933 ± 0,008	29,1 ± 1,4	μ_t (cm ⁻¹)	223,99
		μ_2 (cm ⁻¹)	5,57 ± 0,07	5,14 ± 0,13	μ_{eff} (cm ⁻¹)	4,593
26	633	μ_1 (cm ⁻¹)	16,06 ± 0,05	15,7 ± 0,3	μ_t (cm ⁻¹)	411,39
		μ_2 (cm ⁻¹)	4,53 ± 0,05	4,41 ± 0,10	μ_{eff} (cm ⁻¹)	0,938
26	820	μ_1 (cm ⁻¹)	16,55 ± 0,06	16,49 ± 0,22	μ_t (cm ⁻¹)	223,99
		μ_2 (cm ⁻¹)	5,61 ± 0,09	5,52 ± 0,06	μ_{eff} (cm ⁻¹)	4,593

O diâmetro da amostra exerce grande influência na atenuação do valor máximo de intensidade de luz: em geometria maior os coeficientes (μ_1) são muito semelhantes para os dois comprimentos de onda, no entanto são bem diferentes de seus correspondentes na geometria menor, tanto nos resultados experimentais quanto por simulação de Monte Carlo. Os coeficientes μ_2 são todos muito próximos, mas sempre maiores em 820 nm para as duas geometrias. A teoria de difusão não se ajusta bem para esse tipo de situação experimental.

A figura 3.11 mostra o comportamento da largura de distribuição de luz transmitida experimentalmente com h para os dois diâmetros de amostra e os dois comprimentos de onda, para melhor comparação; a tabela 3.6 mostra os coeficientes angulares obtidos dos ajustes lineares.

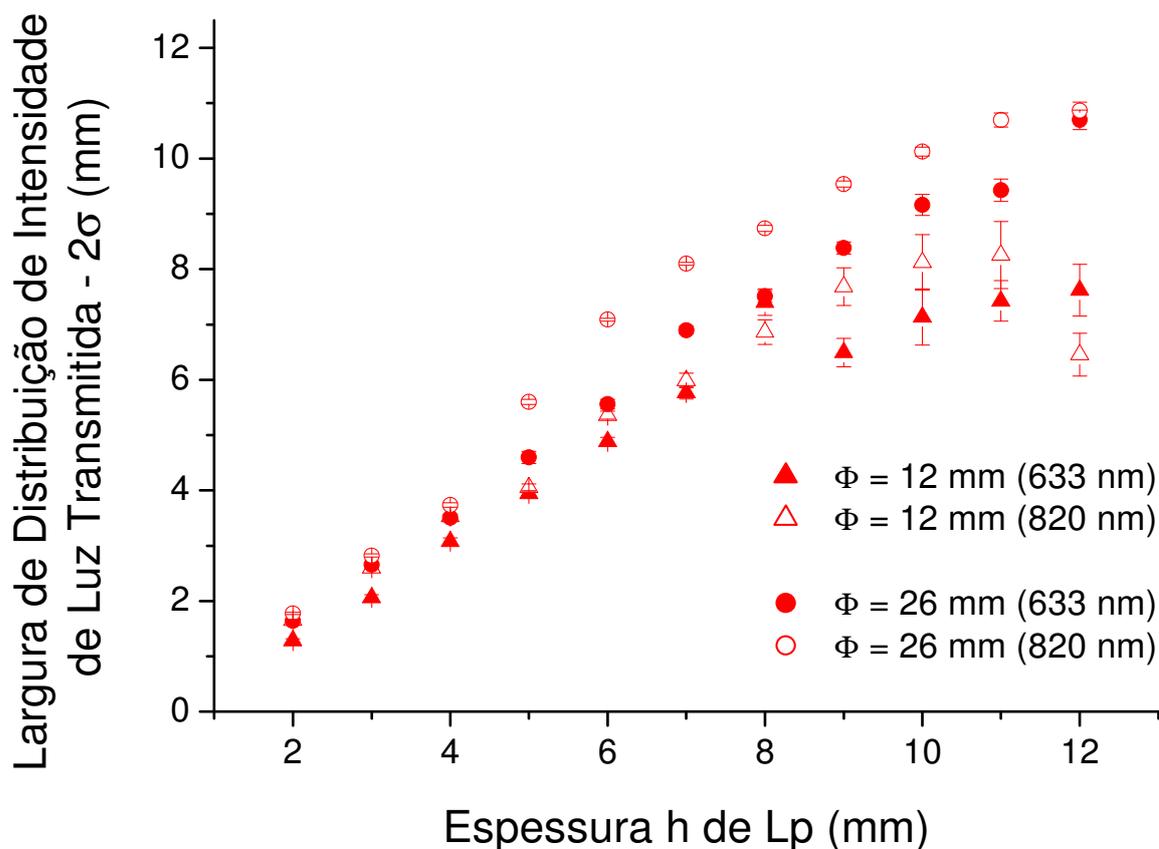


Figura 3.11: Variação da largura da distribuição do perfil radial de intensidade de luz em função da espessura de Lp. Resultados experimentais.

Tabela 3.6: Coeficientes angulares (α) obtidos do ajuste linear aos dados das figuras 3.3, 3.5, 3.7 e 3.9.

Comprimento de onda (nm)	Diâmetro de Lp (mm)	Monte Carlo α (mm/mm)	Experimental α (mm/mm)
633	12	$0,87 \pm 0,03$	$0,897 \pm 0,015$
	26	$1,07 \pm 0,08$	$1,03 \pm 0,03$
820	12	$0,672 \pm 0,020$	$0,866 \pm 0,028$
	26	$0,931 \pm 0,022$	$1,324 \pm 0,007$

Para $h < 5$ mm os valores de 2σ em cada espessura para as duas geometrias e para os dois comprimentos de onda são bem próximos e mais adiante tornam-se bem diferentes. A maior variação da largura da distribuição de intensidade de luz transmitida com espessura de espalhador ocorre para as amostras de Lp de diâmetro de 26 mm, para luz infravermelha (820 nm). Em espessuras maiores o comportamento de saturação fica mais evidenciado nas camadas de Lp de menor diâmetro (12 mm) para ambos os comprimentos de onda, pois sendo a cubeta mais estreita limita-se o alargamento da distribuição da luz transmitida.

Os coeficientes angulares (α) obtidos do ajuste linear aos dados simulados de variação de 2σ com h foram compatíveis com os experimentais somente para o laser vermelho.

A figura 3.12 mostra o comportamento com h da largura de distribuição de fluência simulada por Monte Carlo, para os dois diâmetros de amostra e os dois comprimentos de onda, para melhor comparação.

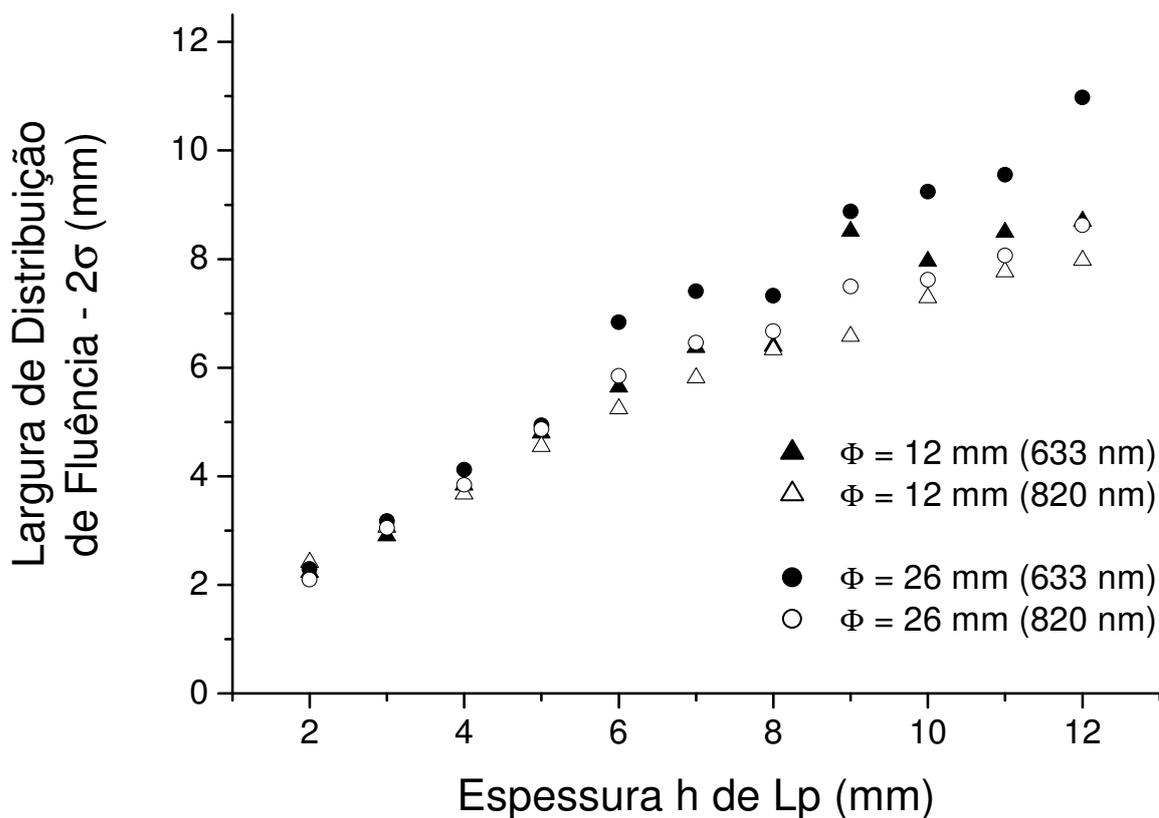


Figura 3.12: Variação da largura da distribuição do perfil de fluência radial em função da espessura de L_p . Resultados por simulação de Monte Carlo.

Novamente, para todas as simulações e espessuras finas de L_p ($h < 6$ mm), os valores de 2σ em cada espessura são bastante próximos e em espessuras maiores tornam-se bem diferentes, comportamento este similar ao experimental. A maior variação do alargamento da distribuição de fluência simulada com a espessura de amostra ocorre para as amostras de L_p de diâmetro de 26 mm, para luz vermelha (633 nm). De maneira similar aos resultados experimentais em espessuras maiores, o comportamento de saturação fica mais evidenciado nas camadas de L_p de menor diâmetro (12 mm). Diferentemente dos resultados experimentais, as larguras obtidas para luz vermelha são superiores às obtidas

para luz infravermelha, para cada geometria. Também a tendência das saturações das larguras de distribuição é mais pronunciada para luz de 820 nm.

As larguras das distribuições de fluência e intensidade de luz, para espessuras de até 6 mm, são praticamente independentes do comprimento de onda da radiação e da geometria da amostra, como mostrado nas figuras 3.11 e 3.12. A diferença entre as larguras se acentua na região de saturação: para os resultados experimentais as larguras de distribuição luminosa são superiores em geometria maior e para luz infravermelha, e nos resultados da simulação os maiores valores de largura de distribuição ocorrem para luz vermelha nas duas geometrias.

3.2. Espalhamento de Luz

Visando otimizar a comparação dos resultados de espalhamento de luz da simulação com os experimentais e avaliar as incertezas experimentais, foi analisada a variação de intensidade luminosa com a profundidade de Lp de 20 imagens capturadas pela CCD, posicionada a 90° da direção de incidência, durante repetição (20 vezes) do posicionamento da cubeta com diâmetro 12 mm.

A figura 3.13 mostra o resultado experimental dos perfis de intensidade de luz vermelha (633 nm) à distância de 5,5 mm da direção de incidência do feixe, obtidos de imagens adquiridas com uma CCD.

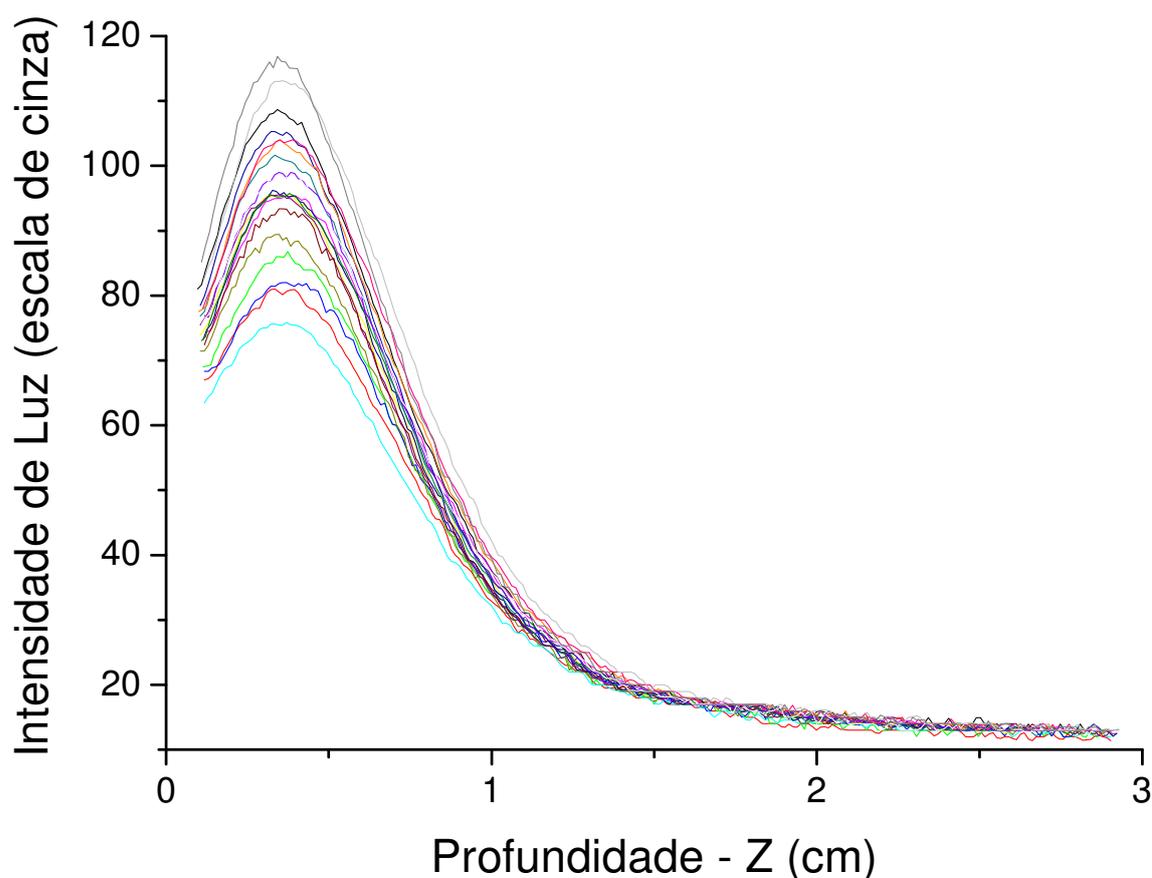


Figura 3.13: Perfis de intensidade de luz vermelha (633 nm) espalhada ao longo da direção Z, a 5,5 mm da direção de incidência, extraídos de imagens capturadas durante repetição (20 vezes) do posicionamento da cubeta com diâmetro 12 mm.

Pode-se notar entre os diversos perfis uma grande variação na intensidade luminosa, a qual se deve possivelmente a efeitos de reflexão da luz na interface ar/Lp. Como a análise dos resultados será realizada com intensidades normalizadas, essas variações não serão levadas em conta na análise das incertezas dos parâmetros obtidos desses perfis.

Em todas as curvas da figura 3.13, existe o aumento da intensidade de acordo com a profundidade, próximo da superfície. A quantidade de luz espalhada é máxima em uma posição de máxima intensidade (Z_{\max}) localizada a poucos milímetros da superfície da

amostra. A partir desta posição ocorre uma atenuação acentuada e, em maiores profundidades, um comportamento de atenuação assintótico. Este comportamento se verifica de maneira similar nas duas geometrias e para ambos os comprimentos de onda incidentes. Além disso, este comportamento é muito semelhante ao obtido por Xu e colaboradores [Xu et al., 2003] nas medidas de intensidade de luz espalhada horizontalmente em Lp utilizando fibra óptica.

Visando análise quantitativa dos resultados obtidos, tentou-se ajustar aos perfis de espalhamento de luz várias funções. Os melhores ajustes aos dados da figura 3.13 foram obtidos com a função 3.1, conforme mostrado na figura 3.14:

$$I = (a + bZ) * e^{-\mu_{as}Z} + I_f , \quad (3.1)$$

onde os parâmetros do ajuste são: μ_{as} é o coeficiente de atenuação assintótico, I_f é a intensidade luminosa de fundo, a e b são parâmetros relacionados principalmente à subida inicial da intensidade.

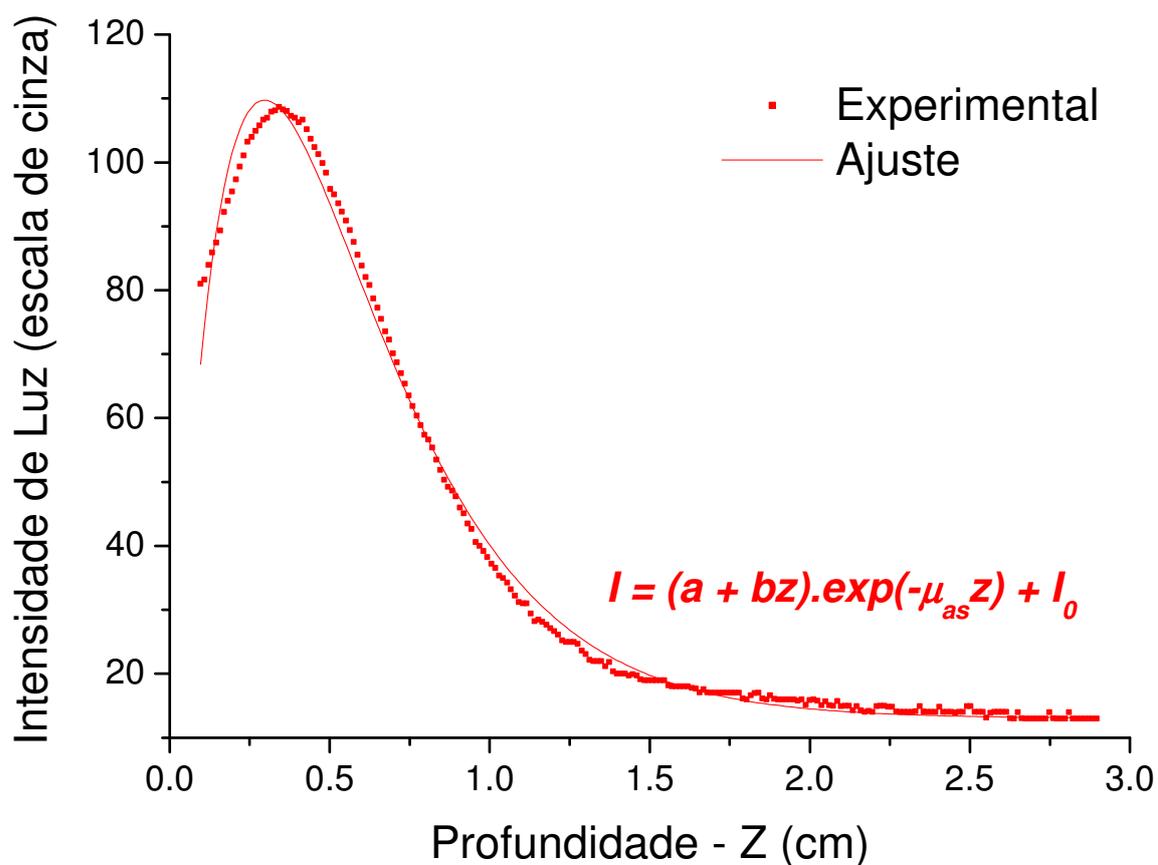


Figura 3.14: Perfil de intensidade de luz vermelha (633 nm) ao longo da direção Z, a 5,5 mm da direção de incidência e curva ajustada aos dados com a expressão (3.1).

Com o resultado do ajuste, extraíram-se das curvas ajustadas os valores de posição de máxima intensidade $Z_{\max-AJ}$ e μ_{as} , e foram calculados o valor médio e o correspondente desvio padrão ($\sigma_{\mu_{as}}$) para o conjunto de 20 resultados. Dos dados experimentais foram extraídos os valores de Z_{\max} , e também foram calculados o valor médio e o desvio padrão ($\sigma_{Z_{\max}}$). O mesmo procedimento experimental e de análise de Z_{\max} e μ_{as} foi realizado para os resultados de espalhamento de luz infravermelha (820 nm) em Lp com diâmetro 26 mm. Os desvios padrão (SD) e os valores médios calculados para ambas as geometrias são mostrados na tabela 3.7.

Tabela 3.7: Valores médios e desvios padrão de Z_{\max} e μ_{as} obtidos experimentalmente correspondentes à variação de posicionamento das cubetas.

Diâmetro de Lp (mm) – λ (nm)	Média de Z_{\max} (cm)	$\sigma_{Z_{\max}}$ (cm)	Média de μ_{as} (cm^{-1})	$\sigma_{\mu_{\text{as}}}$ (cm^{-1})
12 – 633	0,359	0,020	3,53	0,10
26 – 820	0,476	0,028	2,88	0,09

Obteve-se boa reprodutibilidade dos resultados de Z_{\max} em ambos os diâmetros de Lp, com a variação do posicionamento das cubetas. As incertezas obtidas para Z_{\max} (entre 0,2 e 0,3 mm para as duas geometrias) correspondem a aproximadamente 5 % dos valores de posição de máxima intensidade, e são satisfatórias dado o intervalo de 3 cm de profundidade de Lp. As incertezas obtidas para μ_{as} nas duas geometrias são bem próximas e correspondem a aproximadamente 3% dos valores dos coeficientes.

Como se espera que a incerteza associada ao posicionamento da cubeta não dependa do comprimento de onda, mas sim do diâmetro da cubeta, as incertezas foram utilizadas da seguinte maneira: nos dois casos em que foram calculadas as médias de 20 medições de Z_{\max} e μ_{as} , as incertezas são os desvios padrão das médias; para os outros dois resultados (laser infravermelho, 820 nm em Lp com diâmetro 12 mm e laser vermelho, 633 nm em Lp com diâmetro 26 mm), as incertezas são os próprios SD's para o correspondente diâmetro de Lp.

A figura 3.15 apresenta o perfil de fluência (633 nm) a uma distância de 5,5 mm da direção de incidência do feixe por simulação por Monte Carlo e a curva obtida pelo ajuste da equação 3.1 a esses dados.

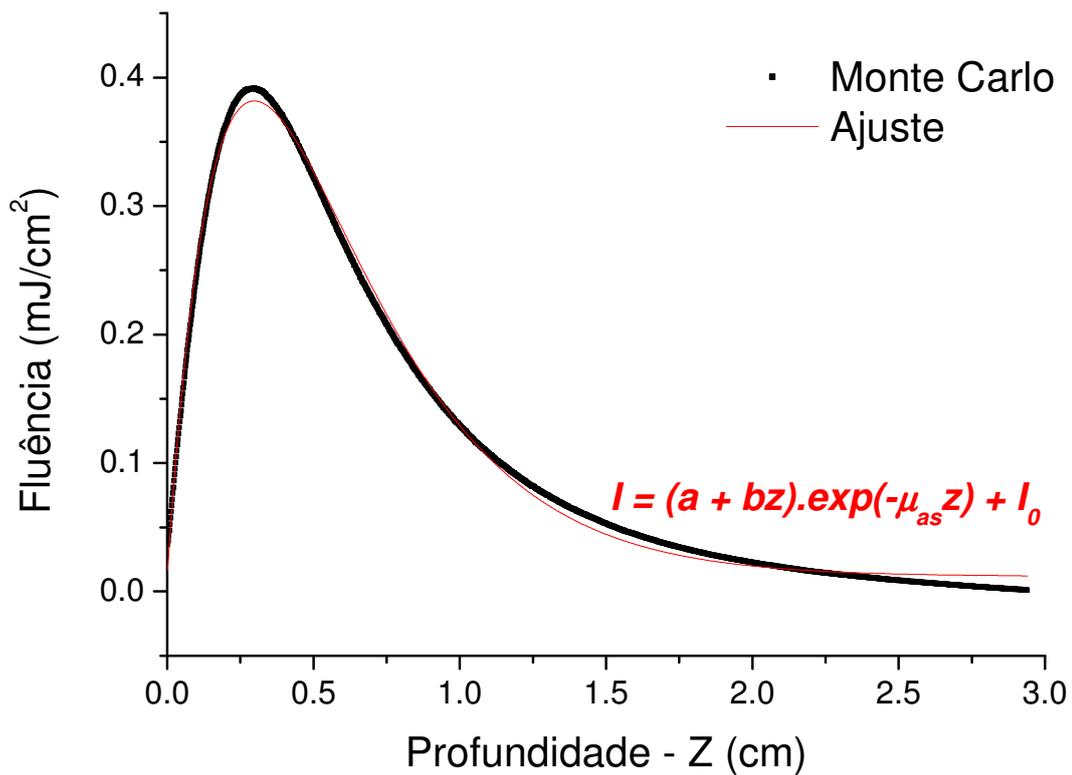


Figura 3.15: Perfil de fluência (633 nm) ao longo da direção Z, a 5,5 mm da direção de incidência e curva ajustada aos dados com a expressão (3.1).

Os resultados da simulação apresentam comportamento qualitativamente similar aos resultados experimentais para as duas geometrias e para ambos os comprimentos de onda simulados. Dos resultados da simulação foram extraídos os valores de Z_{max} , e do resultado dos ajustes os valores de Z_{max-AJ} e μ_{as} para análise.

3.2.1. Espalhamento de luz em Lipovenos 10% com 30 mm de espessura e diâmetro de 12 mm

A figura 3.16 mostra a variação da intensidade de luz vermelha (633 nm) espalhada em L_p em função da profundidade, a 5,5 mm da direção de incidência, obtido experimentalmente e por simulação de Monte Carlo. O comportamento do perfil de fluência simulado é próximo à curva experimental. Na tabela 3.8 encontram-se os valores de Z_{max} e μ_{as} obtidos dos dois conjuntos de dados.

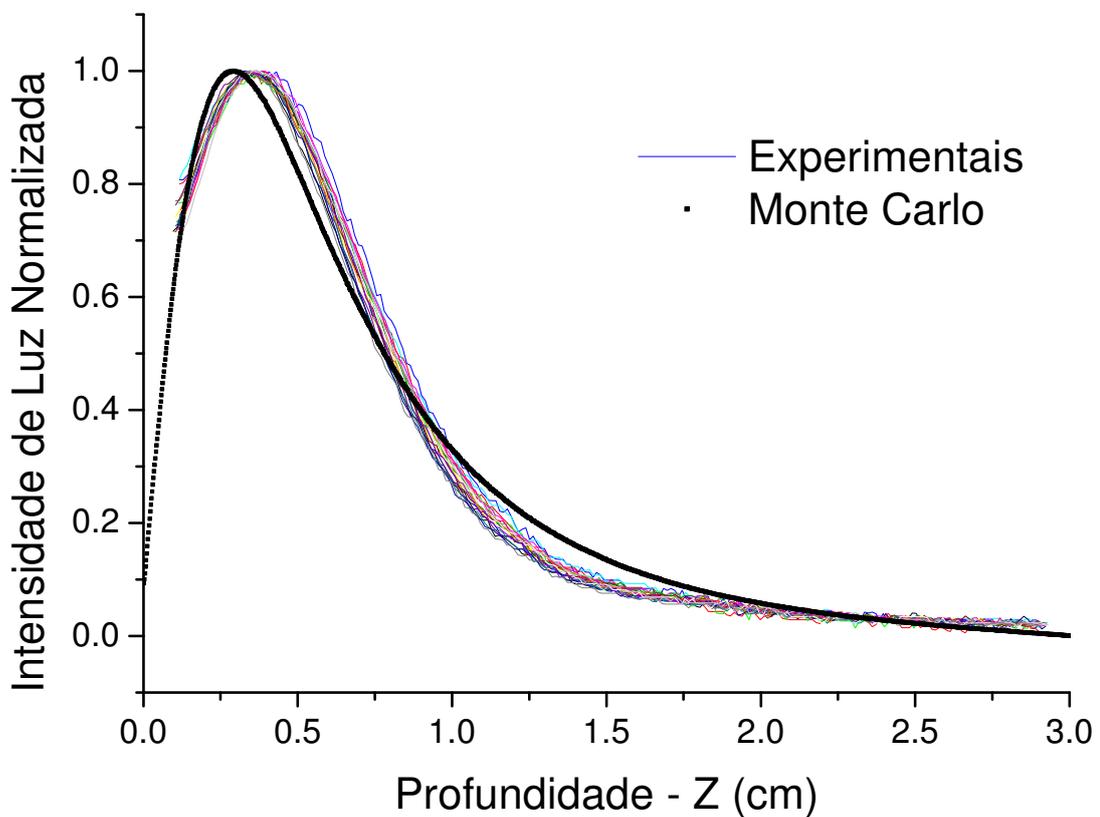


Figura 3.16: Perfil de espalhamento de luz vermelha (633 nm) ao longo da direção Z, a uma distância radial de 5,5 mm do ponto de incidência. Comparação entre a simulação de Monte Carlo e 20 resultados experimentais.

Tabela 3.8: Posição de máxima intensidade e coeficiente de atenuação assintótico para perfis de intensidade luminosa a 5,5 mm de distância da direção de incidência do laser de 633 nm.

Parâmetros	Monte Carlo	Experimental
Z_{max} (cm)	$0,293 \pm 0,037$	$0,359 \pm 0,004$
Z_{max-AJ} (cm)	$0,297 \pm 0,042$	$0,3094 \pm 0,0020$
μ_{as} (cm ⁻¹)	$3,36 \pm 0,03$	$3,528 \pm 0,022$

O resultado de Z_{max} obtido da simulação não é compatível com o valor médio experimental, havendo um desvio superior a 22% entre os dois resultados, e superior às incertezas envolvidas. O resultado de Z_{max-AJ} obtido com o ajuste aos resultados da simulação é compatível com o valor médio (3,094 mm) obtido das curvas ajustadas aos dados experimentais, no entanto é incompatível com o valor médio experimental. Isso nos mostra que, para este conjunto de dados, a função dada pela equação (3.1) não produz um bom ajuste aos dados experimentais, mas se ajusta bem ao conjunto simulado. O coeficiente exponencial assintótico simulado (3,36 cm⁻¹) é incompatível com a média de μ_{as} obtida experimentalmente, havendo um desvio igual a 5% entre os dois resultados, e superior às incertezas envolvidas.

Para espalhamento de luz no infravermelho (820 nm), a variação da intensidade de luz em função da profundidade de L_p , obtido experimentalmente e por simulação de Monte Carlo a 5,5 mm da direção de incidência, é mostrada na figura 3.17, e na tabela 3.9 os valores de Z_{max} e μ_{as} obtidos dos dois conjuntos de dados.

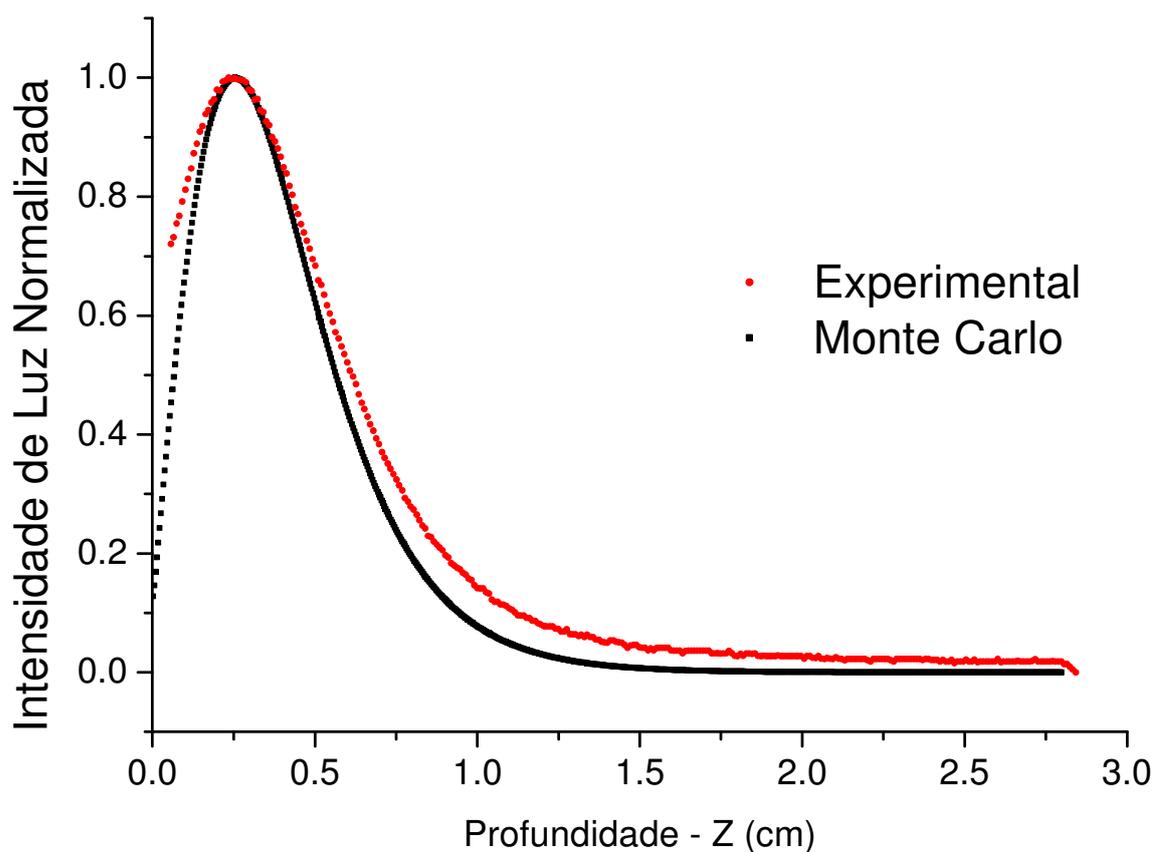


Figura 3.17: Perfil de espalhamento de luz infravermelha (820 nm) ao longo da direção Z, a uma distância radial de 5,5 mm do ponto de incidência. Comparação entre um dos resultados experimentais e a simulação de Monte Carlo.

Tabela 3.9: Posição de máxima intensidade e coeficiente de atenuação assintótico obtidos para perfis de intensidade luminosa a 5,5 mm de distância da direção de incidência do laser de 820 nm.

Parâmetros de Atenuação	Monte Carlo	Experimental
Z_{max}	$0,254 \pm 0,026$	$0,253 \pm 0,020$
Z_{max-AJ} (cm)	$0,218 \pm 0,030$	$0,217 \pm 0,009$
μ_{as} (cm ⁻¹)	$4,70 \pm 0,05$	$4,34 \pm 0,10$

O resultado de Z_{max} obtido da simulação é compatível com o experimental (2,53 mm) dentro do intervalo de 68% de confiança. No entanto, os resultados de Z_{max-AJ} não são compatíveis com os obtidos da curva de intensidade luminosa experimental, mas são compatíveis entre si, e compatíveis com o valor obtido diretamente dos dados de simulação dentro do intervalo de 68% de confiança. Novamente podemos inferir que a equação empregada para os ajustes nem sempre reproduz o comportamento do conjunto de dados. O resultado de μ_{as} obtido da simulação não é compatível com o experimental, havendo um desvio superior a 8% entre os dois resultados, e superior às incertezas envolvidas.

3.2.2. Espalhamento de luz em Lipovenos 10% com 30 mm de espessura e diâmetro de 26 mm

A figura 3.18 mostra a variação da intensidade de luz vermelha (633 nm) espalhada em L_p em função da profundidade, a 12 mm da direção de incidência, obtido experimentalmente e por simulação de Monte Carlo. Na figura 3.18 pode-se observar que o perfil de fluência simulado apresenta o mesmo comportamento da curva experimental de intensidade de luz com a profundidade de L_p , onde o máximo ocorre em 7,22 mm com um coeficiente exponencial assintótico de $1,77 \text{ cm}^{-1}$, tabela 3.10.

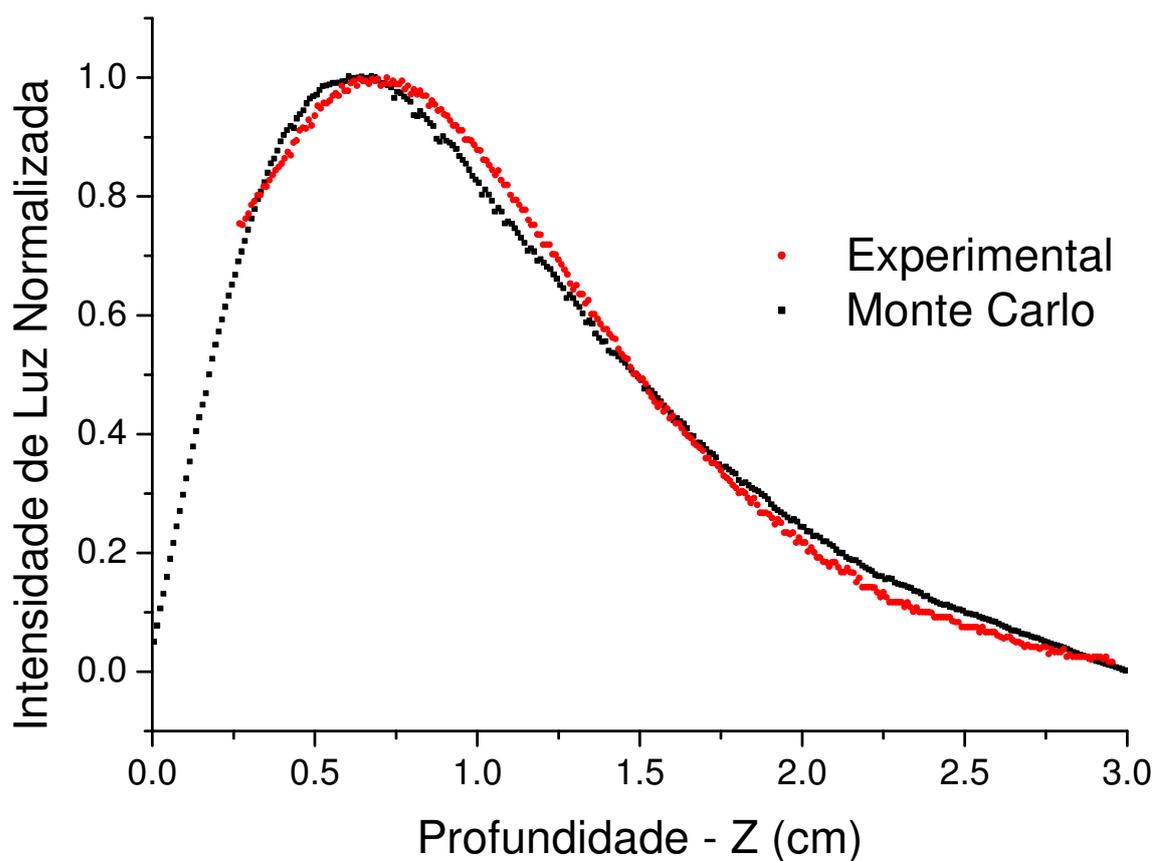


Figura 3.18: Perfil de espalhamento de luz vermelha (633 nm) ao longo da direção Z, a uma distância radial de 12 mm do ponto de incidência. Comparação entre um dos resultados experimentais e a simulação de Monte Carlo.

Tabela 3.10: Posição de máxima intensidade e coeficiente de atenuação assintótico obtidos para perfis de intensidade luminosa a 12 mm de distância da direção de incidência do laser de 633 nm.

Parâmetros	Monte Carlo	Experimental
Z_{max}	$0,645 \pm 0,065$	$0,722 \pm 0,028$
Z_{max-AJ} (cm)	$0,685 \pm 0,080$	$0,630 \pm 0,079$
μ_{as} (cm ⁻¹)	$1,819 \pm 0,020$	$1,77 \pm 0,09$

O resultado de Z_{max} obtido da simulação é compatível com o experimental dentro do intervalo de 68% de confiança. O resultado de Z_{max-AJ} obtido da simulação é compatível com o valor experimental, obtido do ajuste, e também é compatível com Z_{max} experimental dentro do intervalo de 68% de confiança. O resultado de μ_{as} obtido da simulação é compatível com o experimental dentro do intervalo de 68% de confiança.

Para espalhamento de luz no infravermelho (820 nm), a variação da intensidade de luz com a profundidade de L_p , obtido experimentalmente e por simulação de Monte Carlo a 12 mm da direção de incidência, é mostrada na figura 3.19. O perfil de fluência simulado é similar às curvas experimentais de intensidade de luz com a profundidade de L_p . Na tabela 3.11 são mostrados os parâmetros Z_{max} e μ_{as} para os dois conjuntos de dados.

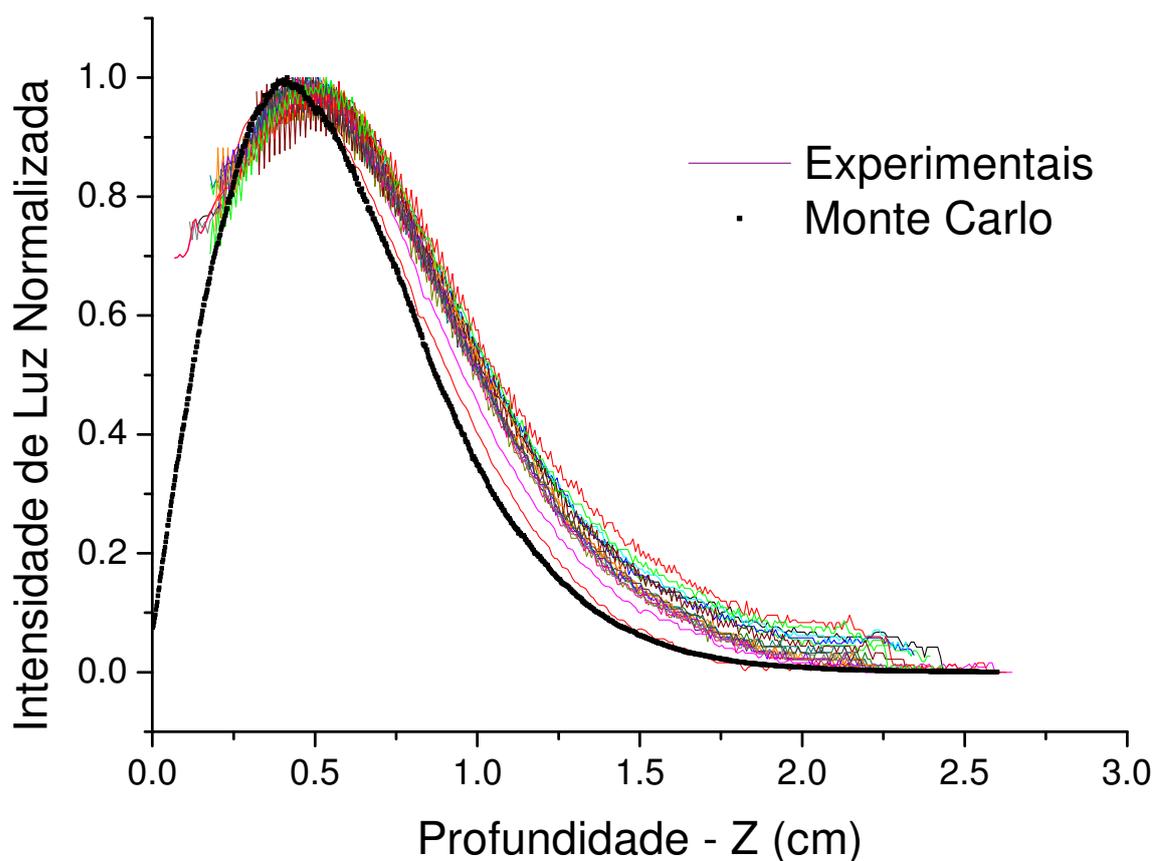


Figura 3.19: Perfil de espalhamento de luz infravermelha (820 nm) ao longo da direção Z, a uma distância radial de 12 mm do ponto de incidência. Comparação entre a simulação de Monte Carlo e 19 resultados experimentais (um dos resultados obtidos não foi considerado aqui, pois o valor de Z_{max} se afastou mais de 3 SD's do valor médio).

Tabela 3.11: Posição de máxima intensidade e coeficiente de atenuação assintótico obtidos para perfis de intensidade luminosa a 12 mm de distância da direção de incidência do laser de 820 nm.

Parâmetros	Monte Carlo	Experimental
Z_{max} (cm)	$0,415 \pm 0,009$	$0,476 \pm 0,006$
Z_{max-AJ} (cm)	$0,355 \pm 0,047$	$0,447 \pm 0,009$
μ_{as} (cm ⁻¹)	$2,907 \pm 0,015$	$2,876 \pm 0,020$

O resultado de Z_{max} obtido da simulação não é compatível com o experimental, havendo um desvio superior a 14% entre os dois resultados, que é muito superior às incertezas envolvidas. O resultado de Z_{max-AJ} obtido da simulação não é compatível com o valor médio (4,47 mm), havendo um desvio superior a 20%, superior às incertezas envolvidas; e incompatível com o valor médio experimental, havendo um desvio superior a 25%. O resultado de μ_{as} obtido da simulação é compatível com o experimental dentro do intervalo de 68% de confiança.

3.2.3. Influência do comprimento de onda do laser e do diâmetro de Lipovenos 10% no espalhamento de luz

Para ambos os diâmetros de Lp e para os dois comprimentos de onda do laser pode-se observar nas curvas de espalhamento que o comportamento da simulação é semelhante ao experimental nos primeiros 6 mm de Lp, embora nem sempre os parâmetros obtidos do ajuste sejam compatíveis (tabela 3.12).

Tabela 3.12: Posição de máxima intensidade e coeficiente de atenuação assintótico obtidos para perfis de intensidade luminosa a 5,5 e 12 mm de distância da direção de incidência.

Comprimento de onda (nm)	Diâmetro de Lp (mm)	Monte Carlo		Experimental	
		Z_{max} (cm)	μ_{as} (cm ⁻¹)	Z_{max} (cm)	μ_{as} (cm ⁻¹)
633	12	0,293 ± 0,037	3,36 ± 0,03	0,359 ± 0,004	3,528 ± 0,022
	26	0,645 ± 0,065	1,819 ± 0,020	0,722 ± 0,028	1,77 ± 0,09
820	12	0,254 ± 0,026	4,70 ± 0,05	0,253 ± 0,020	4,34 ± 0,10
	26	0,415 ± 0,009	2,907 ± 0,015	0,476 ± 0,006	2,876 ± 0,020

Para os dois diâmetros de Lp, a intensidade máxima de luz vermelha espalhada ocorreu em maior profundidade de Lp comparada ao infravermelho, e a atenuação da luz

infravermelha é mais acentuada do que a da vermelha em ambos os resultados, experimental e simulado. Isto mostra que o espalhamento de luz em Lp é maior no comprimento de onda de 633 nm do que em 820 nm. Este resultado está de acordo com o esperado teoricamente, pois os valores de μ_s e g são superiores no vermelho ($411,39 \text{ cm}^{-1}$ e $0,69$, respectivamente) comparado aos seus correspondentes para luz infravermelha.

Dado o mesmo comprimento de onda da luz incidente, a atenuação da luz espalhada em Lp de diâmetro 12 mm foi mais acentuada do que em 26 mm de diâmetro. Para Lp de 26 mm de diâmetro, a contribuição de fótons que sofreram múltiplos espalhamentos é mais acentuada comparada ao espalhamento em Lp de menor diâmetro (menor quantidade de material espalhador), o que concorre para uma profundidade de máximo maior e uma menor atenuação em grandes profundidades. Com o aumento do diâmetro, na simulação, o decréscimo da fluência espalhada com a profundidade torna-se menos acentuado, em concordância com outros resultados experimentais [Xu et al., 2003].

Para todas as imagens de espalhamento, o menisco existente na borda do líquido dificultou a localização do início do perfil experimental, principalmente para luz infravermelha (820 nm) em Lp de 26 mm de diâmetro. Nesse caso em particular, as curvas experimentais parecem deslocadas na profundidade de Lp em relação ao perfil simulado, figura 3.19, o que pode corresponder a essa dificuldade.

3.3 Aplicação do Método de Monte Carlo na TLBI

Por métodos experimentais é de extrema complexidade conhecer a dose de luz interna no tecido biológico (vivo), durante a TLBI. No entanto, conhecendo as características do feixe incidente, a espessura das camadas de tecido e o valor dos seus parâmetros ópticos (correspondentes ao comprimento de onda do laser), é possível calcular a dose em qualquer profundidade do tecido por simulação de Monte Carlo.

A figura 3.20 exemplifica a aplicação do software MCML1.2.2, mostrando o resultado de isodoses em Lp de 26 mm de diâmetro em função da profundidade Z e da posição radial r obtido por simulação de Monte Carlo.

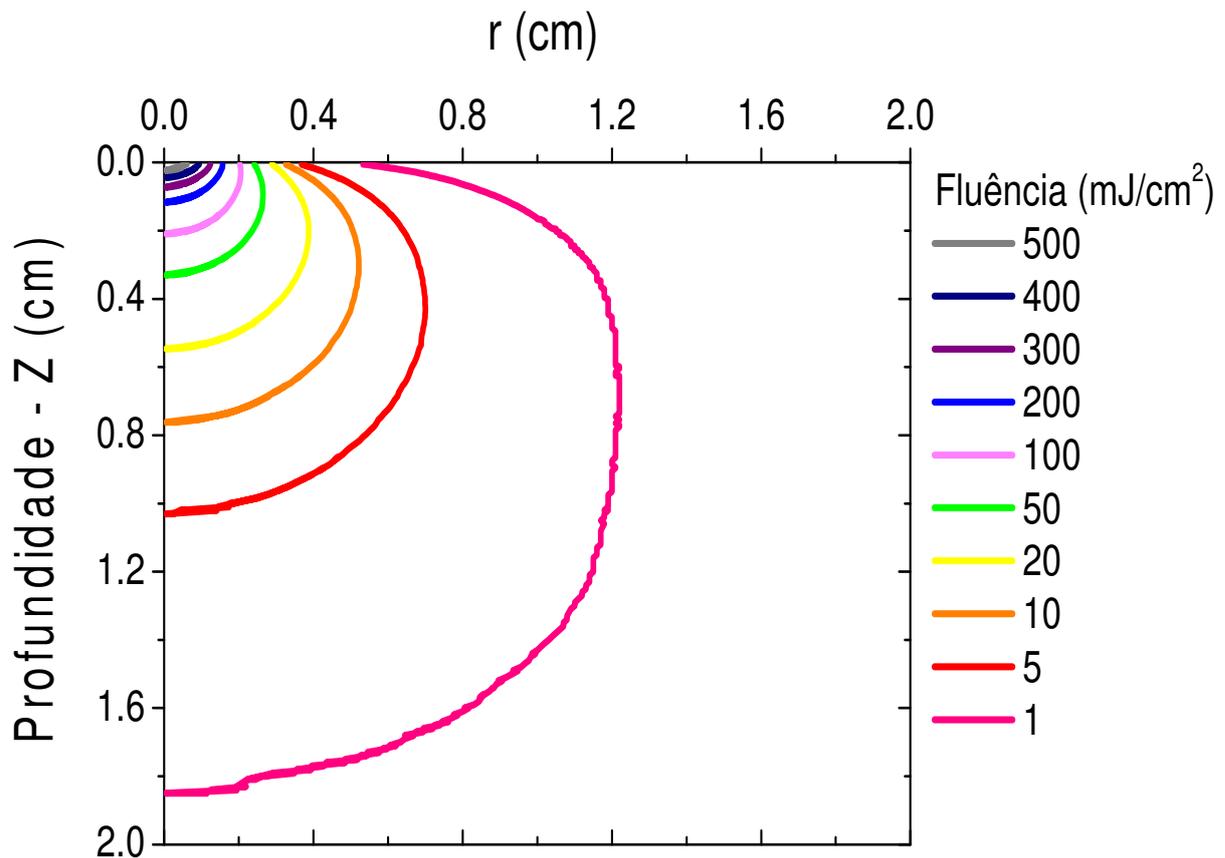


Figura 3.20: Curvas de isodose (isofluência) em função de Z e r em Lp de 26 mm de diâmetro e 3 cm de profundidade, obtido por simulação de Monte Carlo. O feixe gaussiano vermelho (633 nm) com incidência de 1 segundo na origem tem energia de 6 mJ e raio 0,2 cm.

Pode-se observar que, ao longo da direção de incidência do laser ($r = 0$) a fluência diminui acentuadamente de 500 a 20 mJ/cm² nos primeiros 5 mm de profundidade, e se reduz lentamente em maiores profundidades. Próximo à superfície do líquido simulado

($Z \sim 0$), para $r < 0,2$ cm (região do feixe) a fluência é elevada, no entanto diminui rapidamente com o aumento de r .

4. Conclusão

A intensidade de luz e fluência transmitidas obtidas por experimento e simulação de Monte Carlo, respectivamente, são máximas na direção de incidência do feixe e se distribuem ao longo da direção radial de forma simétrica. Este comportamento foi similar em todas as espessuras de L_p , nas duas geometrias e para ambos os comprimentos de onda incidentes, e é esperado para materiais homogêneos. A luz infravermelha (820 nm) sofre maior atenuação com a espessura, comparada com a luz vermelha (633 nm). A largura de distribuição de intensidade de luz transmitida aumenta linearmente com a espessura de L_p para pequenas espessuras, e nas espessuras maiores há uma tendência de saturação, tanto nos resultados simulados quanto nos experimentais.

Os resultados da simulação para o espalhamento de luz apresentaram comportamento muito similar aos resultados experimentais para as duas geometrias e para ambos os comprimentos de onda simulados, correspondendo aos esperados para soluções espalhadoras homogêneas.

O espalhamento de luz em L_p foi maior no comprimento de onda de 633 nm do que em 820 nm, em ambos os resultados, experimentais e simulado, estando de acordo com as distribuições de luz transmitidas serem mais largas para comprimento de onda de 633 nm do que para 820 nm, em cada geometria.

Com base nos resultados de transmissão e espalhamento de luz em L_p , pôde-se concluir que existem comportamentos similares entre a simulação de Monte Carlo e o experimento, com parâmetros muito próximos obtidos por ajuste aos dados, o que contribui para a validação do código MCML 1.2.2.

A simulação pode ser validada levando em conta os comportamentos similares e a diferença pouco elevada nos valores absolutos da posição. Parte das discrepâncias nos parâmetros obtidos pode ser devida à presença de menisco e paredes de contenção do

líquido no experimento, e a eventuais discrepâncias entre os valores de literatura e os reais para os parâmetros ópticos do Lp.

A validação do software MCML 1.2.2 nos direciona ao estudo da dose de luz interna em tecidos biológicos, uma vez conhecidas suas propriedades óticas. Obter as curvas de isodose em tecidos biológicos, por meio de simulação de Monte Carlo, pode levantar inúmeras discussões sobre o planejamento da TLBI, como a estimativa da intensidade adequada do laser para se obter a fluência desejada na profundidade tecidual de interesse, e, com isso, obter otimização dos resultados clínicos.

Referências Bibliográficas:

Booth TE et al (X-5 Monte Carlo Team), "MCNP – A General Monte Carlo code N-Particle Transport Code, Version 5", Los Alamos Laboratory (2003).

Bouchard JP, Veilleux J, Jedidi R, Noiseux I, Fortin M, Mermut O, "Reference optical phantoms for diffuse optical spectroscopy. Part 1 – Error analysis of a time resolved transmittance characterization method", Optics Express 18(11): 11495-11507, (2010).

Carbone N, Di Rocco H, Iriarte DI, Pomarico JA., "Solution of the direct problem in turbid media with inclusions using Monte Carlo simulations implemented in graphics processing units: new criterion for processing transmittance data", Journal of Biomedical Optics; 15(3), 035002-1-035002-9, (May/June 2010).

Chavantes MC (editora), "Laser em bio-medicina", Atheneu, 2009.

Coutinho K, "Modelo Discreto de Solvente. Solvatocromismo no Espectro de Absorção Molecular", Dissertação (Doutorado em Física) – Universidade de São Paulo, 1997.

Drakaki H, Makropoulou M, Serafetinides AA, "Optical properties of tissue simulators based on laser induced spectroscopy and scattering measurements", Proceedings of SPIE Vol. 4432, (2001).

Flock ST, Wilson BC, Patterson MS, "Monte Carlo Modeling of Light Propagation in Highly Scattering Tissues – II: Comparison with Measurements in Phantoms", IEE Transactions on Biomedical Engineering Vol. 36, nº 12, 1169-1173, (1989).

Fresenius Kabi Brasil, "Bula Lipovenos® PLR", Fresenius Kabi Brasil Ltda. <http://www.fresenius-kabi.com.br/file/pdf/BULA-Lipovenos-PLR.pdf> Consultado em 20 de julho de 2010.

Hernández SE, Rodríguez VD, Pérez J, Martín FA, Castellano MA, Mora JLG, "Diffuse reflectance spectroscopy characterization of hemoglobin and intralipid solutions: in vitro measurements with continuous variation of absorption and scattering", Journal of Biomedical Optics 14(3), 034026-1-034026-6, (2009).

Ishimaru A, "Wave Propagation and scattering in Radom Media", Academic Press, 1968.

Jindra NM, et al., "Epidermal laser stimulation of action potentials in the frog sciatic nerve". Journal of Biomedical Optics; 15(1), 015002-1-015002-6, (January/February 2010).

Karu TI, "Photobiology of Low Power Laser Therapy", Laser Science and Technology an International Handbook, vol. 8, Harwood Academy publishers (1989).

Kunkel P "Buffon's Needle". URL: <http://whistleralley.com/buffon/buffon.htm>. (2003) Consultado em 17 de janeiro de 2011.

Lins LD, "Aguilhas de Buffon", <http://www.cin.ufpe.br/~ldl/buffon.pdf> . (2004) Consultado em 17 de janeiro de 2011.

Lirani APR, "Estudo Comparativo dos Efeitos do Ultra-Som e do Laser de Baixa Intensidade no Reparo Ósseo de Tíbia de Rato", Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Universidade de São Paulo, 2004.

Metropolis N, "Los Alamos Science Special", <http://library.lanl.gov/cgi-bin/getfile?00326866.pdf> (1987) Consultado em 5 de novembro de 2010.

Michels R, Foschum F, Kienle A, "Optical properties of fat emulsions". Optics Express 16(8): 5907 -5925, (2008).

Nicolau RA, et al., "Effect of Low Power 655 nm Diode Laser Irradiation on the Neuromuscular Junctions of the Mouse Diaphragm", Lasers in Surgery and Medicine 34:277–284 (2004).

Nicolau RA, Martinez MS, Rigau J, Tomàs J, "Neurotransmitter Release Changes Induced by Low Power 830 nm Diode Laser Irradiation on the Neuromuscular Junctions of the Mouse", Lasers in Surgery and Medicine 35:236–241 (2004).

Niemz M, "Laser-Tissue Interactions", Springer, 2004.

Pogue BW et. al, "Image reconstruction of effective Mie scattering parameters of breast tissue in vivo with near-infrared tomography", Journal of Biomedical Optics 11(4), 041106, 1-16 (2006).

Pogue BW, Patterson MS, "Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry", *Journal of Biomedical Optics* 11(4), 041102, 1-16 (2006).

Prahl SA, "Light transport in tissue", Ph.D. dissertation, Univ. Texas, Austin, 1988.

Salvat F, Fernández-Varea JM, Sempau J, "Penelope – A Code System for Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport", *Workshop Proceedings Issy-les-Moulineaux, France* (2003).

Sliney DH, "Radiometric Quantities and Units Used in Photobiology and Photochemistry: Recommendations of the Commission Internationale de l'Eclairage (International Commission on Illumination)", *Photochemistry and Photobiology* 83:1-8 (2007).

Spinelli L et al., "Calibration of scattering and absorption properties of a liquid diffusive medium at NIR wavelengths. Time-resolved method", *Optics Express* 15(11): 6589-6604, (2007).

Torres BA, Marzzoco A, "Bioquímica Básica", Guanabara Koogan, 1999.

Valim N, Brock J, Niedre M, "Experimental measurement of time-dependant photon scatter for diffuse optical tomography", *Journal of Biomedical Optics* 15(6), 065006, 1-8 (2010).

WALT, "Recommended treatment doses for Low Level Laser Therapy". URL: <http://www.walt.nu/dosage-recommendations.html>. (2010) Consultado em 17 de janeiro de 2011.

Wang L, Jacques SL, "Monte Carlo Modeling of light Transport in Multi-layered Tissues in Standard C", University of Texas (1992). <http://omlc.ogi.edu/software/mc/> Consultado em 20 de março de 2008.

Wang LH, Jacques SL, Zheng LQ, "CONV – Convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues", *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 54, 141-150 (1997).

Wang LH, Jacques SL, Zheng LQ, "MCML – Monte Carlo modeling of photon transport in multi-layered tissues", *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 47, 131-146 (1995).

Xu T, Zhang C, Wang X, Zhang L, Tian J, "Measurement and analysis of light distribution in intralipid -10% at 650 nm", *Applied Optics*, Vol. 42, n° 28 (2003).

Yokoi N, Aizu Y, "Motion imaging of objects in layers hidden by scattering media using low-coherence speckle interferometry", *Optics & Laser Technology* 40: 52-57, (2008).