UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto
Departamento de Física

Diego Ronaldo Thomaz Sampaio

Formação de Imagem Fotoacústica Induzida por
Laser e Raios X

Ribeirão Preto – SP

2020

DIEGO RONALDO THOMAZ SAMPAIO

Formação de imagem fotoacústica induzida por laser e raios X

**Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título
de Doutor em Ciências.**

Área de concentração:

Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador:

Prof. Dr. Theo Zeferino Pavan

Co-orientadora:

Profa. Dra. Juliana Fernandes Pavoni

Versão Corrigida

Versão Original disponível em FFCLRP - USP

Ribeirão Preto

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Sampaio, Diego Ronaldo Thomaz

Formação de imagem fotoacústica induzida por laser e raios-X .
Ribeirão Preto, 2020.

142 f. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP.
Programa de Pós-graduação em Física Aplicada à Medicina e
Biologia.

Orientador: Pavan, Theo Zeferino

Co-orientadora: Pavoni, Juliana Fernandes

1. Raios-X acústico. 2. Fotoacústica. 3. Ultrassom. 4.
Radioterapia.

Nome: Sampaio, Diego Ronaldo Thomaz

Título: Formação de imagem fotoacústica induzida por laser e raios X

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Obrigado, Senhor.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Theo Zeferino Pavan, agradeço por ter confiado e me orientado como aluno de doutorado, dando-me oportunidade de crescimento científico, permitindo aprender novos conhecimentos e desenvolver meu projeto de pesquisa com paciência e liberdade.

Ao Profa. Dra. Juliana Fernandes Pavoni, agradeço pela concretização de experimentos que utilizaram o acelerador linear no ambiente de radioterapia e discussão referente aos resultados de raios X acústico.

Ao Prof. Dr. Antonio Adilton Oliveira Carneiro, agradeço pela atenção ao longo de quase uma década e a oportunidade de fazer parte do Grupo de Inovação em Instrumentação Médica e Ultrassom – GIIMUS, que permitiu meu crescimento científico desde do período de iniciação científica.

Agradeço aos técnicos, Agnelo Bastos, Carlos Renato da Silva e Sérgio Oliveira Bueno da Silva.

My special appreciation and thanks to my advisor at Houston/MD Anderson Cancer Center (Photoacoustic Imaging Research Lab, Department of Imaging Physics) Professor. Dr. Richard Robert Bouchard, you have been an extraordinary mentor for me. I would like to thank you for encouraging me as a scientist and for sharing your time, knowledge and experience with me by imaging, grabbing data, matlabin and staying at night in the Lab to help me. Your example and advice have been priceless. I would like to thank my good friends Trevor Mitcham and Cayla Wood. I cannot express how grateful I am to you guys. You've helped me since I've got in Houston, helping me on both Lab stuff as well as housing issues. Thank you for supporting me on everything I needed.

I would like to thank Mohamed Naser. You have been there to support me since I've started working in the so-called noise project.

I would like to thank Mohab Elmor, Riccardo Muzzioli and Qurat Aniee, I will always remember our travels and hang out nights.

Agradeço aos alunos do Grupo de Inovação em Instrumentação Médica e Ultrassom – GIIIMUS, obrigado por acreditar e apoiar durante os altos e baixos da minha vida pessoal e profissional. Em meio a tantas dificuldades e cobranças, os momentos de descontração foram muito compensadores, meu muito obrigado, pois é muito legal fazer ciência com vocês! Em especial, Felipe Wilker Grillo, Guilherme Braz, João Henrique Uliana, Yaser Hadadian e Luciana Camargo.

Agradeço aos meus amigos Alan Rodrigo Panosso, Fabricio Hirota Hada, Myrko Araujo Micali e Vinicius Galvão dos Santos, pelas risadas e divertidas aventuras. Agradeço minha família Maria do Carmo Thomaz Sampaio, Wilson José dos Santos, Nazaré Tomaz dos Santos (*in memoriam*) pelo amor, carinho e compreensão ilimitados.

Agradeço a meu primo-irmão Michel Goes de Melo Sampaio por ser meu amigo e companheiro de todas as horas e a minha irmã Rita de Cássia Sampaio por ter me motivado a sair de Belém – PA para ingressar na Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto (USP-RP), para sempre serei grato.

Agradeço a minha esposa Paula Filipini Thomaz Sampaio por estar sempre do meu lado em todos os momentos.

Agradeço à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, pela oportunidade de ingresso no programa de pós-graduação em Física Aplicada a Medicina e Biologia.

Agradeço à CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e especialmente a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão das bolsas de Iniciação Científica, Mestrado, Doutorado (**processo nº 2015/05684-0**) e Estágio de Pesquisa no Exterior (**processo nº 2016/22720-3**).

Obrigado Deus por me dar forças dia após dia para poder superar todas as dificuldades. Eu vou continuar confiando em você, olhai por meu futuro. Obrigado, Senhor.

Resumo

SAMPAIO, D. R. T. **Formação de imagem fotoacústica induzida por laser e raios X.** 2020. 142 f. Tese (Doutorado em Ciências na área Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2020.

Em aplicações biomédicas, a imagem fotoacústica (IFA) por laser vem sendo utilizada para caracterização físico-química de tecidos biológicos, abrangendo estudos em nível anatômico, microscópico e molecular por propiciar uma imagem com contraste óptico e resolução ultrassônica. Recentemente, a imagem raios-X acústica (IXA) vem sendo proposta como técnica de dosimetria para radioterapia de feixe externo com acelerador linear (AL) terapêutico, fornecendo informação da distribuição espacial de dose imediatamente após sua entrega por feixes raios X. Ambas as técnicas de imagem fotoacústica induzida por laser e raios X tem grande potencial para ciência aplicada, física médica e biomedicina.

Nessa tese, primeiramente, investigamos a formação de IXA por meio de equipamento de ultrassom (US) diagnóstico por imagem para obter estimativas de dose para radioterapia por feixe externo de raios-X. Desenvolvemos simulações e arranjos experimentais para avaliar a viabilidade de formar IXA, estudamos a sensibilidade da IXA em função da dose em materiais como metais e osso em diferentes configurações de irradiação (*e.g.*, profundidade em água, tamanho de campo de raios-X e taxa de dose). Descobrimos que o equipamento de US diagnóstico por imagem é capaz de formar IXAs, porém com baixo SNR e, para resolver essa condição, propomos um método de redução de ruído por meio de *wavelets*. Os resultados obtidos são importantes para avaliar o potencial uso da IXA no ambiente da radioterapia e confirmaram a viabilidade de formação de IXA com o equipamento de US diagnóstico por imagem de metais (alumínio, latão e chumbo), contudo não possibilitaram estimar no gradiente de dose em água, que ocorre nas bordas do campo de raios-X.

Na segunda parte dessa tese investigamos a IFA por múltiplos comprimentos de onda, estudamos métodos de redução de erro na estimativa de saturação de oxigênio (SO_2) e uso de agentes de contraste para IFA, especificamente sua influência na estimativa de SO_2 . Propomos observar a influência do ruído eletrônico por meio de experimento com um roedor *post-mortem* no qual tubos continham sangue animal com SO_2 conhecidos e em profundidade de aquisição da ordem de um centímetro. Desenvolvemos dois métodos que consuem máscaras de remoção de pontos do mapa de SO_2 , um deles caracteriza o ruído com estatística e cálculo de SNR e outro considera o ruído como um cromóforo causador de viés

na estimativa de SO_2 . Reduzimos o erro das estimativas de SO_2 por meio da aplicação de ambos os métodos.

Paralelamente, estudamos o uso de agentes de contraste para IFA. Realizamos experimentos em *phantoms* simulando condições de administração de agente de contraste em região de interesse que imita tumores vascularizados com tecidos saudáveis em suas cercanias. Nessas condições, mostramos que o Lipo-JICG, um novo agente de contraste, que foi construído com substâncias aprovadas pelo FDA para uso clínico, cria um viés na estimativa de SO_2 menos evidente do que o ICG, agente de contraste que vem sendo utilizado e é aprovado pelo FDA. Além disso, foram obtidas IFAs em profundidades clinicamente relevantes na ordem de um centímetro. Os resultados obtidos são importantes para avaliar o potencial uso do Lipo-JICG em estudo do câncer por meio de IFAs.

Palavras-chaves: 1. Raios-X acústico. 2. Fotoacústica. 3. Ultrassom. 4. Radioterapia.

Abstract

SAMPAIO, D. R. T. Laser and X-Ray induced photoacoustic imaging. 2020. 142 f. Thesis (PhD in Sciences in the field Applied Physics to Medicine and Biology) – Faculty of Philosophy, Sciences and Letters at Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2020.

In biomedical applications, Laser-based photoacoustic imaging (PAI) has been used for physical and chemical characterization of biological tissues, providing for studies at anatomical, microscopic and molecular scales; because of providing an image with optical contrast and ultrasonic resolution. Recently, the X-ray-based PAI has been proposed as a dosimetric technique for external beam radiotherapy, providing information on the spatial dose distribution at the same time that it is delivered by X-ray beams. Both PAI induced by laser or X-rays have great potential for applied science, medical physics and biomedicine.

In this thesis, we first investigated the formation of X-ray-based PAI by using diagnostic ultrasound (US) imaging equipment to obtain dose estimates for radiotherapy. We developed simulations and experimental arrangements to evaluate the feasibility of forming images as a function of dose in materials such as metals and bone at different irradiation configurations (*e.g.*, water depth, X-ray field size and dose rate). We found that the diagnostic US imaging equipment is capable of forming images with dose sensitivity, but with low SNR; therefore, to solve this limitation, we proposed a method of noise reduction by means of wavelets. The results obtained are important to assess the potential use of X-ray-based PAI in the radiotherapy. Also, confirmed the feasibility of obtaining dose of metals (aluminum, brass and lead) and bone through X-ray-based PAI, however US imaging equipment did not make it possible to form images of the water dose gradient, which occurs at the edge of the X-ray field.

In the second part of this thesis, we investigated multi-wavelength PAI noise in order to provide methods of reducing errors in the estimation of oxygen saturation (SO_2). Also, the use of contrast agents and their influence in the estimation of SO_2 is investigated. First, we proposed to observe the influence of electronic noise in PAI. We performed an experiment with a *post-mortem* rodent in which tubes with animal blood with known SO_2 at a depth of the order of one centimeter, and then, we developed two methods of characterization of noise by means of statistic calculation of SNR and another one considering noise as a chromophore, which bias the SO_2 estimates. We reduced the bias in the SO_2 estimates by applying noise removal masks.

Moreover, we studied the use of contrast agents for PAI. We carried out experiments in phantoms, simulating conditions of administration of contrast agent in a region of interest that mimics vascularized tumors and healthy tissues in its surroundings. In these conditions, we showed that Lipo-JICG, a new contrast agent, which was built with substances approved by the FDA for clinical use, does not create a bias in the estimation of SO_2 as evident as ICG,

which has been approved by FDA already. Also, we obtained PAI of Lipo-JICG at clinically relevant depths in the order of one centimeter. The results obtained are important for assessing the potential use of Lipo-JICG in cancer studies by using PAI at clinically relevant depth.

Keywords: 1. X-ray acoustic imaging. 2. Photoacoustic imaging. 3. Ultrasound. 4. Radiotherapy.

Lista de Figuras

Figura 1. Ilustração do espectro eletromagnético.	2
Figura 2. IFA da década de 1990 obtida ao iluminar um absorvedor de 3 milímetros inserido em meio lipídico com um laser operando em 1064 nm.	4
Figura 3. (a) Ilustração de um transdutor ultrassônico multielementos acoplado a uma fibra ótica, que fornece um feixe de luz e detecta ondas fotoacústicas provenientes de um absorvedor localizado a 1,0 cm de profundidade e (b) IFA do cérebro de um rato, que foi estimulado do lado esquerdo e direito.	6
Figura 4. (a) Coeficiente de absorção da oxi-/deoxi-hemoglobina e de um agente de contraste com nanopartículas (NP) de ouro. (b) Concentração de cromóforos (HbO ₂ , Hb e NP) e SO ₂ obtidos através do processamento de IFAs obtidas em múltiplos comprimentos de onda sobrepondo uma imagem de ultrassom convencional de um tumor de aproximadamente um centímetro de diâmetro. Note que a deoxi-hemoglobina aqui é abreviada por Hb.	8
Figura 5. (a) Aparato experimental de Bowen e seus colaboradores (BOWEN et al., 1991) utilizado para detectar (b) sinais raios X acústico.	10
Figura 6. Representações gráficas mostrando a forma de onda do sinal fotoacústico ao longo do tempo para a largura do pulso τ_l maior que τ_c	17
Figura 7. Ilustração dos mecanismos de geração de ondas fotoacústicas. (a) A elongação do meio absorvedor (setas) gera um transiente de pressão pelo mecanismo de eletrostrição e expansão térmica. Em (b) ilustra-se a forma do sinal fotoacústico em função da duração do pulso: nanossegundos e microssegundos.	18
Figura 8. Ilustração dos métodos de formação de imagens raios X acústica: (a) XACT e (b) IXA. Em (a), um elemento sensor é transladado ao redor do alvo, enquanto em (b) transdutor multielementos é utilizado para formar a imagem do alvo.	25
Figura 9. Coeficiente de absorção em massa de Alumínio, Osso, Latão, Chumbo e Água, no intervalo de energia entre 0.001 e 20 MeV. (b) Ilustração dos cilindros de diferentes metais com diâmetro 10 mm e altura 40 mm e (c) da placa de chumbo com dimensões 20 x 1,5 x 95 mm ³ . Dados compilados de ("NIST: X-Ray Mass Attenuation Coefficients - Introduction", [s.d.]).	28
Figura 10. Características do AL. (a) Um pulso de raios X de duração de 3,25 μ s em função do tempo. (b) Espectros de energia gerada por um AL em diferentes configurações de 6, 10, 15 e 20 MV. Em pontilhado os espectros com FFF de 6 e 10 MV.	30
Figura 11. Sinal FA de um fio de cabelo em modo RF e magnitude da transformada de Fourier resultantes do método para obter a resposta em frequência do ultrassom e transdutor L14-5/38 diagnóstico por imagem.	34
Figura 12. A interface gráfica da aplicação de aquisição de dados e formação de IFA ou IXA, que roda diretamente do equipamento de ultrassom diagnóstico por imagem.	36
Figura 13. Ilustração do experimento simulado utilizando a ferramenta GATE para simular a deposição de dose na placa de chumbo e k-Wave, para simular a propagação das ondas acústicas dentro do tanque.	43
Figura 14. Ilustração do sistema de detecção e formação de IXA e do aparato experimental utilizado para obter imagens da placa de chumbo.	44
Figura 15. (a) Ilustração do posicionamento do transdutor em relação a placa de chumbo. (b) Ilustração das profundidades em água, que são medidas da superfície do tanque e foram alternadas entre cada irradiação.	44
Figura 16. Considerando (a) o espectro do AL em 6 MV para obter a (b) PDP indicando as profundidades em água de 05, 10 e 20 cm. Em (c), observa-se a energia absorvida normalizada pelo	

valor máximo da face de maior área do plano xz em 05 cm de profundidade em água, enquanto em (d) mostra-se um gráfico da energia absorvida ao longo do eixo y dentro da placa de chumbo.	45
Figura 17. Imagem dos sinais XA detectados por um transdutor ultrassônico (a) virtual ideal (sem limitação de banda de frequências) e (b) realístico com banda limitada. Arranjo em paralelo como da Figura 15(a).	48
Figura 18. Imagem dos sinais XA detectados por um transdutor ultrassônico (a) virtual ideal (sem limitação de banda de frequências) e (b) realístico com banda limitada. Arranjo perpendicular como da Figura 15(a).	48
Figura 19. (a) Sinal XA comparando a amplitude nas profundidades em água de 05, 10 e 20 cm. (b) Relação de amplitude dos sinais XA normalizada em 05 cm e o aumento da profundidade em água.	48
Figura 20. (a) A comparação entre as IXA para o arranjo perpendicular e paralelo como da Figura 15(a). Em (b), o perfil do sinal obtido a partir da IXA da placa de chumbo, apresentando diminuição de amplitude em maiores profundidades em água.	49
Figura 21. (a) PDP e (b) D_{FRP} para a configuração de 6 MV e 15 MV.	50
Figura 22. A comparação entre as imagens modo-B e IXA em 6 MV para o arranjo (a) perpendicular e (b) paralelo em uma profundidade em água de 5 cm.	50
Figura 23. (a) Perfil do sinal XA obtido a partir da IXA da placa de chumbo, apresentando diminuição de amplitude normalizada em maiores profundidades em água. (b) Comparação entre as amplitudes normalizadas dos sinais XA obtidas com diferentes energias.	52
Figura 24. (a) amplitude normalizada e (b) amplitude normalizada acumulada da IXA em função da dose fornecida, permanecendo a placa de chumbo em 5 cm de profundidade em água.	53
Figura 25. Comparação entre a amplitude normalizada dos sinais XA obtidos experimentalmente e através de simulação numérica em função da dose fornecida.	53
Figura 26. (a) Ilustração do sistema de detecção e formação de IXA e do aparato experimental para obter imagens de cilindros posicionados em profundidades em água de 1,5; 2,5 e 5,0 cm. Em (b), o transdutor linear como estava posicionado para realizar o experimento é ilustrado, mostrando as posições do campo de raios X e o FOV.	56
Figura 27. (a) Conjunto de PDP mono - energéticas de 0,5 a 15 MeV. (b) Espectro de 6 MV do AL obtido de maneira iterativa com o algoritmo Cimmino. Dados: $\langle E \rangle = 1,51$	56
Figura 28. (a) A PDP obtida pelo método Cimmino e MC de 1,5 MeV são comparadas com a PDP do serviço de radioterapia. (b) O erro da PDP Cimmino é menor que 1% para as profundidades em água de interesse, ou seja, entre 10 mm e 50 mm.	57
Figura 29. (a) Posição dos detectores na malha da simulação MC e a curva de fluência de energia média calculada para os materiais de interesse em 15 mm e 50 mm de profundidade em água.	58
Figura 30. (a) Resultados numéricos obtidos para diferentes durações de pulsos de irradiação quando $L = 10$ mm. Em (b), vários diâmetros de uma amostra de chumbo considerando $\tau l = 3,25 \mu s$. (c) Máxima amplitude em função de τl para diferentes valores de L . Observa-se uma linha vertical tracejada indicando os valores de máxima amplitude para τl de $3,25 \mu s$	61
Figura 31. (a) Forma da onda XA para diferentes materiais de interesse quando $L = 10$ mm e $\tau l = 3,25 \mu s$. Em (b), a máxima amplitude é normalizada pelo chumbo e é comparada com a dose absorvida para cilindros em uma profundidade em água de 15 mm.	61
Figura 32. Resultados numéricos com o k-Wave. (a) Ondas XA simuladas para diferentes materiais, indicando por setas os instantes de tempo referentes aos transientes de pressão provenientes do gradiente de dose na água e da interface do material em água. Em (b), os envelopes dos sinais XA capturados pelo transdutor linear do US diagnóstico por imagem são mostrados normalizados pelo pico de máxima amplitude do chumbo.	62

Figura 33. IXAs simuladas de (a) um cilindro de chumbo, (b) um osso de suíno em formato cilíndrico e (c) três cilindros de alumínio (lateral = -15 mm), latão (lateral = 0 mm) e chumbo (lateral = 15 mm), dispostos lado a lado.	63
Figura 34. IXA em 6 MV de (a) um cilindro de chumbo e (b) um osso de suíno.	64
Figura 35. Resultado da aplicação do método de redução de ruído na IXA em 6 MV de (a) um cilindro de chumbo e (b) um osso de suíno.	64
Figura 36. Amplitude normalizada do envelope do sinal XA sobrepondo o modo RF. (a) chumbo e (b) osso.	65
Figura 37. Perfis laterais de um cilindro de chumbo e um osso de suíno em formato cilíndrico (a) simulado e (b) experimental, onde as linhas finas são obtidas antes de proceder com o método de redução de ruído.	65
Figura 38. IXA de cilindros de alumínio, latão e chumbo dispostos lado a lado (a) antes e (b) depois de aplicar o método de redução de ruído.	66
Figura 39. Gráfico da análise das IXAs simuladas. (a) Amplitude normalizada do sinal XA e (b) amplitude acumulada do sinal XA para diferentes materiais de interesse em função da dose normalizada para cilindros em uma profundidade em água de 15 mm.	67
Figura 40. Gráficos da análise das IXAs em 6 MV. (a) Amplitude normalizada do sinal XA e (b) amplitude acumulada do sinal XA para diferentes materiais de interesse em função da dose normalizada para cilindros em uma profundidade em água de 1,5 cm.	68
Figura 41. Amplitudes normalizadas dos sinais XA obtidos de alumínio, latão e chumbo em função da profundidade em água. Os valores estão normalizados em d_{max} . Linhas sólidas com marcadores quadrados se referem ao AL-B, enquanto linhas pontilhadas e “x” ao AL-C.	69
Figura 42. Gráficos do coeficiente de absorção do sangue oxigenado e desoxigenado, água e gordura.	75
Figura 43. Diagrama da metodologia desenvolvida para obter máscaras de ruído através da imagem do resíduo, R , e relação sinal ruído SNR.	81
Figura 44. Representação esquemática do arranjo experimento de aquisição de (a) ruído e experimentos (b) musculo bovino e roedor post-mortem. São indicados os tubos de PE e a região do campo de visão do transdutor – em inglês: field-of-view (FOV).	84
Figura 45 (a) Um histograma observado da série temporal do ruído é apresentado. Esse histograma foi ajustado usando PDFs normal, lognormal, Rician e Rayleigh e, como resultado do teste de qualidade de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (CDFs no interior), a PDF lognormal é ideal para caracterizar o comportamento do ruído com valor- p de 0,37 para 225 amostras. (b) Uma análise ao longo da profundidade (15 mm, 20 mm e 25 mm) mostra que as estimativas de ruído são dependentes do TGC, além de poderem ser influenciadas por diferentes tempos de aquisição.	85
Figura 46. (a) $\sigma_n \cdot \mu_n - 1$ e $SR\%$ são mostrados em função de N_{total} , apontando flutuações e valores acima de 10% quando $N_{total} < 100$ e valores constantes e menores que 8% dentro de um intervalo de $200 < N_{total} < 400$. (b) Comparação entre o espectro estimado e do sangue com 85% de SO_2	86
Figura 47. (a) Série de IFAs (primeira imagem em 800 nm) em imagem de SO_2 de uma amostra de sangue com SO_2 conhecido de 77,8% injetada em um tubo que foi colocado dentro de um <i>phantom</i> de músculo bovino (setas).	87
Figura 48. Para uma única fatia, (a) SNR em 800 nm e (b) imagem de SO_2 mascaradas com máscara SNR sobreposta ao modo-B.	87
Figura 49. Para uma única fatia, (a) R e (b) imagem de SO_2 mascaradas com máscara R sobreposta ao modo-B.	87
Figura 50. (a) As diferenças das estimativas de SO_2 em análise 3D para máscaras (b) nenhuma, (c) SNR e (d) R . (e) Uma análise do VOI compara as estimativas de SO_2 de um volume de apenas de	

ruído (preta) e de um VOI cilíndrico (pontilhada) para nenhuma máscara (azul), SNR (vermelha) e R (verde).	89
Figura 51 . Ilustração representativa do Lipo-JICG e (b) espectro de absorção óptica da água, lipídio, ICG ($2\mu\text{M}$), Lipo-JICG ($2\mu\text{M}$), Hb e HbO_2	94
Figura 52. (a) Caracterização UV-VIS de amostras de ICG e Lipo-JICG diluídas em PBS. Em (b), comparação de duas soluções de ICG ($5,1\ \mu\text{M}$) e Lipo-JICG ($1,7\ \mu\text{M}$), mostrando a diferença de absorbância de apenas 0,1	96
Figura 53. (a) Amostras de sangue suíno que foram diluídas para obter condições similares encontradas <i>in vivo</i> . (b) <i>Phantom</i> cilíndrico de 4 tubos sendo colocado no interior da câmara do MSOT para análise de estabilidade da amostra de sangue diluído em PBS.	97
Figura 54. Fotografias tiradas durante o experimento com o MSOT. (a) <i>Phantom</i> cilíndrico com diâmetro de 3,40 cm e 1,90 cm, (b) amostras de ICG e Lipo-JICG diluídos em PBS e sangue 10%-v/v com valor conhecido de SO_2 entre 50% e 70%.	98
Figura 55. (a) IFA em 800 nm do <i>phantom</i> de 4 tubos, onde se observa uma ROI sobrepondo o tubo com sangue 10%-v/v e (b) estimativas de SO_2 ao longo do tempo para as amostras 5, 10, 50 e 100%-v/v.	99
Figura 56. (a) IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa do ICG, mostrando um <i>phantom</i> de 1,9 cm de diâmetro com um tubo em seu centro. O tubo foi preenchido com a mostra controle de sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (esquerda) e uma solução 1:5 de ICG e sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (direita). Em (b), mostra-se a comparação entre a intensidade do ICG para as amostras 50% SO_2 – controle, 50% SO_2 – 0,3 OD, 50% SO_2 – 0,9 OD, 70% SO_2 – controle, 70% SO_2 – 0,9 OD. Seta aponta para a barra que representa a amostra escolhida para normalizar o gráfico de barras.....	101
Figura 57. (a) IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa do Lipo-JICG, mostrando um <i>phantom</i> de 1,9 cm de diâmetro com um tubo em seu centro. O tubo foi preenchido com a mostra controle de sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (esquerda) e uma solução 1:5 de ICG e sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (direita). Em (b), mostra-se a comparação entre a intensidade do ICG para as amostras 50% SO_2 – controle, 50% SO_2 – 0,3 OD, 50% SO_2 – 0,9 OD, 70% SO_2 – controle, 70% SO_2 – 0,9 OD. Seta aponta para a barra que representa a amostra escolhida para normalizar o gráfico de barras.	101
Figura 58. (a) Os mapas de Lipo-JICG e ICG após processamento de extração de espectro com o software viewMSOT sobrepondo IFA em 800 nm. As imagens são apresentadas o mesmo range dinâmico. (b) Cálculo do contraste para as imagens de Lipo-JICG e ICG para as amostras de 50% SO_2 – 0,3 OD, 50% SO_2 – 0,9 OD e 70% SO_2 – 0,9 OD. ROI: região de interesse e B: região das bordas do phantom. Seta aponta para as barras das amostras de mesma concentração molar.	102
Figura 59. (a) IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa de Lipo-JICG, mostrando um <i>phantom</i> de 3,4 cm de diâmetro que contém um tubo em seu interior. O tubo foi preenchido com a amostra controle de sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (esquerda) e uma solução 1:5 de Lipo-JICG e sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (direita). Em (b), mostra-se a comparação entre a intensidade do Lipo-JICG para as amostras 70% SO_2 – controle, 70% SO_2 – 0.9 OD, 100% SO_2 – controle, 100% SO_2 – 0.9 OD. Seta aponta para a amostra escolhida para normalizar o gráfico de barras.....	104

Lista de Tabelas

Tabela 1. Parâmetros termomecânicos dos materiais de interesse.	28
Tabela 2. Configuração de energia do AL da Varian. Os valores característicos de energia mais provável e a energia média do espectro.	30
Tabela 3. Especificações do ultrassom diagnóstico por imagem	33
Tabela 4. Especificações do transdutor linear multielementos.	33
Tabela 5. SNR-I em função da dose fornecida em cada profundidade em água.	51
Tabela 6. Diferença percentual da amplitude normalizada do sinal XA para 6 MV e 15 MV.	52
Tabela 7. SNR-I em função da dose fornecida para cada material.	66
Tabela 8. Valores de ΔSO_2 para amostras de 50% $SO_2 - 0,3 OD$, 50% $SO_2 - 0,9 OD$ e 70% $SO_2 - 0,9 OD$	103

Lista de Abreviaturas

2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
AFE	Front-end analógico
AL	Acelerador linear
CV	Coeficiente de Variação
DAS	Delay and Sum / Atraso e soma
EBRT	External beam radiation therapy / Radioterapia por feixe externo
FA	Fotoacústica
FFT	Fast Fourier Transform / Transformada rápida de Fourier
FOV	Field-of-view / Campo de visão
FRP	Frequência de repetição de pulso
Hb	Desoxi-Hemoglobina / Hb-desoxigenada
HbO ₂	Oxi-Hemoglobina / Hb-oxigenada
IFA	Imagem fotoacústica
IR	Infrared / Infravermelho
IXA	Imagem raios X acústica
LPF	Filtro passa baixa
MC	Monte Carlo
MSOT	Multispectral optoacoustic tomography / Tomografia optoacústica multiespectral
MV	Megavoltagem
PC	Personal Computer / Computador Pessoal
PDP	Porcentagem de dose profunda
PRP	Período de repetição de pulso
RF	Radiofrequência
ROI	Region of interest / Região de interesse
SNR	Signal to noise ratio / Relação sinal ruído
SO ₂	Saturação de oxigênio
SSD	Source to surface distance / Distancia fonte superfície

TTL	Nível logico compatível com Lógica transistor-transistor
UM	Unidade monitora
US	Ultrassom
UV	Ultravioleta
VIS	Visível
XA	X-ray acoustic / Raios X acústico
XACT	X-ray acoustic computer tomography / tomográfica computadorizada por raios X acústico

Lista de Símbolos

A	Absorção de raios X
W	Absorção específica
s_j ¥	Amplitude capturada pelo j-ésimo elemento do transdutor ultrassônico
p_0	Amplitude de pressão inicial da onda fotoacústica
C_p	Capacidade térmica específica a pressão constante
C_v	Capacidade térmica específica a volume constante
μ_a	Coeficiente de absorção
$\frac{\mu_{en}}{\rho}$	Coeficiente de absorção de energia em massa
β	Coeficiente térmico de expansão volumétrico
κ	Compressibilidade isotérmica
L	Comprimento
λ	Comprimento de onda
E	Densidade de energia
ds	Diferencial infinitesimal de sinal raios X acústico
dV	Diferencial infinitesimal de volume
D_t	Difusividade térmica
δ	Dimensão espacial arbitrária
f	Distancia da fonte até a superfície
D	Dose absorvida
D_{cal}	Dose de calibração de um acelerador linear na profundidade em água d_{cal}
τ_c	Duração de um pulso de irradiação curto
τ	Duração de um pulso de irradiação de laser ou raios X
τ_l	Duração de um pulso de irradiação longo
ϵ_i^*	Energia cinética
ϵ^A	Energia média de elétrons Auger
E	Energia radiante

H	Energia térmica absorvida
F	Fator de correção de Mayneord
ψ	Fluência de energia
α_i^*	Fração da energia cinética que é transformada em energia térmica
f_s	Frequência de amostragem do sinal capturado pelo transdutor ultrassônico
I_{img}	Intensidade da imagem
I_j^{32}	Intensidade de uma coluna da imagem, após o método DAS para 32 elementos adjacentes de um transdutor ultrassônico
I	Irradiação durante o pulso de raios X
ρ	Massa específica
Γ	Parâmetro de Gruneisen
$x_j^{\text{¥}}$	ponto do sinal captado por um transdutor ultrassônico como é representado o longo do eixo lateral
$z_i^{\text{§}}$	ponto do sinal captado por um transdutor ultrassônico como é representado o longo do eixo axial
p	Pressão
p^F	Probabilidade de ocorrência de Florescência
p^A	Probabilidade de ocorrência de processo Auger
w_i^*	Probabilidade de possuir energia cinética ϵ_i
d_{max}	Profundidade de máxima dose
d_{cal}	Profundidade em água de calibração de um acelerador linear
s	Sinal raios X acústico
s_{sim}	Sinal raios X acústico simulado
$\dot{D}$	Taxa de dose
$\dot{D}_{FRP}$	Taxa de dose em função da frequência de repetição de pulso
T	Temperatura
Θ	Transformada de Fourier da função pulso
P_d	Transformada de Fourier da pressão detectada pelo transdutor ultrassônico
P_0	Transformada de Fourier da resposta em frequência do transdutor
S_{sim}	Transformada de Fourier do sinal fotoacústico simulado

v_p	Velocidade da onda fotoacústica
$\mathbf{r}$	Vetor posição
V	Volume

* O subíndice i é o índice do i -ésimo elétron. § O subíndice i é o índice do i -ésimo ponto do sinal capturado do transdutor ultrassônico. ¥ O subíndice j é o índice do j -ésimo elemento adjacente do transdutor ultrassônico.

Sumário

Resumo.....	viii
Abstract.....	x
Lista de Figuras	xii
Lista de Tabelas	xvi
Lista de Abreviaturas	xvii
Lista de Símbolos	xix
Sumário.....	xxii
1. Introdução	1
1.1. Fotoacústica: panorama introdutório e cronológico	1
1.1.1. Imagem fotoacústica por laser	3
1.1.2. Imagem fotoacústica por raios X.....	9
1.2. Equipamentos comerciais de ultrassom em fotoacústica e a relevância de estudos da formação de imagens fotoacústicas por laser e raios X	11
1.3. Formação de imagens fotoacústicas por laser e raios X	13
2. Justificativa e Objetivos	15
3. Fundamentos teóricos	17
4. Formação de imagem raios X acústica	25
4.1. Introdução	25
4.2. Materiais e métodos.....	27
4.2.1. Características dos materiais e a fonte de raios X	27
4.2.2. Estimativas de espectro da fonte primária de raios X de um acelerador linear.	30
4.2.3. Cálculo de dose por pulso de raios X	31
4.2.4. Sistema de detecção de sinal raios X acústico produzido por feixe de acelerador linear terapêutico utilizando equipamento de ultrassom por imagem.....	32
4.2.5. Métodos de formação da imagem raios X acústica.....	36
4.2.6. Simulação de imagem raios X acústica	38
4.2.7. Redução de ruído da imagem raios X acústica	40
4.2.8. Análise da imagem raios X acústica	41
4.3. Estimativas de dose por imagem raios X acústica, experimento com placa de chumbo em diferentes profundidades em água.....	42
4.3.1. Simulação	42
4.3.2. Experimento	43
4.3.3. Resultados e discussão	44
4.4. Estimativas de dose por imagem raios X acústica, experimento com cilindros de alumínio, osso, latão e chumbo.....	55
4.4.1. Simulação	55
4.4.2. Experimento	55
4.4.3. Resultados e discussão	56

4.5.	Conclusões.....	72
5.	Formação de imagens fotoacústicas por laser.....	73
5.1.	Tecidos biológicos.....	73
5.2.	Máscara de limiar de ruído para aprimorar estimativas de saturação de oxigênio por imagem fotoacústica.....	76
5.2.1.	Introdução.....	76
5.2.2.	Materiais e métodos	78
5.2.2.4.	Extração da concentração dos cromóforos resolvendo um sistema linear	81
5.2.2.5.	Valor de corte com o método de Otsu.....	82
5.2.2.6.	Experimento com diferentes concentrações de SO ₂ , obtenção de imagens fotoacústicas induzidas por laser com múltiplos comprimentos de onda e imagem de ruído 82	
5.2.3.	Resultados.....	84
5.2.4.	Discussão e conclusão.....	89
5.3.	Caracterização de agentes de contraste através de imagens fotoacústicas.....	92
5.3.1.	Introdução.....	92
5.3.2.	Materiais e métodos	95
5.3.3.	Resultados.....	99
5.3.4.	Discussão e conclusão.....	104
6.	Conclusões e perspectivas futuras.....	106
7.	Produção científica	107
7.1.	Congressos	107
7.2.	Artigos publicados.....	109
7.3.	Em processo de submissão ou submetido	110
8.	Referências.....	111

1. Introdução

1.1. Fotoacústica: panorama introdutório e cronológico

O efeito fotoacústico¹ é um fenômeno físico segundo o qual um meio absorvedor aquece devido absorção de energia eletromagnética e, em seguida, vibra emitindo ondas acústicas. A primeira observação deste fenômeno foi realizada por Alexander Graham Bell no ano de 1880. Naquele século, Bell realizou diversos experimentos utilizando diferentes materiais, por exemplo, selênio, latão, chumbo e borracha para verificação do efeito fotoacústico e propôs a construção e utilização de equipamentos comunicadores que eram capazes de codificar luz em som e vice-versa, o fotofone (BELL, 1880).

O equipamento de comunicação proposto e desenvolvido a partir da ideia de Bell para emprego do efeito fotoacústico não foi implementado como um moderno meio comunicação, no entanto, o efeito fotoacústico é o princípio físico básico da imagem fotoacústica (IFA) e das técnicas biomédicas, baseadas em fotoacústica (FA), posteriormente desenvolvidas e que serão abordadas nessa tese.

Para uma melhor compreensão da IFA é preciso destacar os seus mecanismos físicos. De acordo com (WANG; WU, 2012), o fenômeno fotoacústico ocorre devido à absorção de uma quantidade de fótons² pelo material absorvedor (e.g., líquidos, sólidos e tecidos biológicos).

A Figura 1 mostra o espectro eletromagnético, onde fótons são classificados de acordo com suas energias, que são representadas de forma proporcional a sua frequência ou inversamente proporcional ao seu comprimento de onda, destacando-se o espectro óptico visível entre 400 nm e 700 nm, infravermelho próximo (780 – 2500 nm) e os raios X compreendidos com comprimento de onda inferior a 8,82 nm (LIMA; BAKKER, 2011).

¹ Alexander Graham Bell se referiu ao efeito fotoacústico (ou, no passado, efeito fotofônico) como a emissão sonora proveniente da absorção da luz por um meio absorvedor.

² Fótons são pequenos pacotes de onda eletromagnéticas que se propagam no espaço carregando energia.

Figura 1. Ilustração do espectro eletromagnético.

Fonte: Wikipédia <https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_spectrum> Acesso em: 01 de setembro de 2018.

Considerando fótons incidentes de um comprimento de onda arbitrário, propagando-se em um dado meio, o efeito fotoacústico acontece quando os fótons são absorvidos por este material, causando um aumento da temperatura local. Este aquecimento provoca o efeito vibracional que por conseguinte causa a emissão de ondas acústicas, sendo dependente da absorção, dimensão e forma do alvo, além das propriedades físico-químicas (termomecânicas) do material (SUN; GERSTMAN, 1999).

Ondas FAs apresentam comportamento semelhante ondas ultrassônicas geradas por ultrassom pulso-eco. Tais ondas são longitudinais e se propagam com velocidade longitudinal constante, tendo sua amplitude atenuada pelo meio na qual se propagam de acordo com sua frequência (RICHARD S. C. COBBOLD, 2006). Além disso, a amplitude e a banda de frequências que a compõe dependente de características associadas à fonte de fótons, por exemplo, fluência e duração do pulso de iluminação, que ao ser absorvido pelo material causou a emissão (SUN; GERSTMAN, 1999; WANG; WU, 2012).

Atualmente a detecção das ondas FAs é realizada se empregando transdutores ultrassônicos, que são capazes de detectar essas ondas em formas de sinais FAs. Em seguida, tais sinais são processados para formar uma imagem, mostrando uma imagem com contraste óptico / raios X (ou absorção de radiação eletromagnética) e resolução espacial ultrassônica.

1.1.1. Imagem fotoacústica por laser

A IFA começou a se estabelecer como técnica de imagem em medicina e biologia a partir da década de 1990. Kruger (KRUGER, 1994) utilizou transdutores ultrassônicos com frequência nominal de 0,50 MHz para detectar sinais FAs. Nesse trabalho, os sinais FAs foram gerados em meio lipídico (Liposyn®) por pulsos de lâmpadas de Xenon com duração de pulso de aproximadamente 1 μ s. Posteriormente, utilizou laser infravermelho (IR) com comprimento de onda em 1064 nm e duração de pulso menor que 10 ns e transdutor ultrassônico com frequência nominal de 2,25 MHz para realizar uma varredura bidimensional (2D) e formar a imagem de um absorvedor esférico de 3 milímetros de diâmetro inserido em Liposyn®.

(KRUGER; LIU, 1994) foram os primeiros autores que denominaram por IFA e assim como pode ser observado na Figura 2, a IFA da década de 1990 era formada por meio de varredura translacional do transdutor ultrassônico.

Figura 2. IFA da década de 1990 obtida ao iluminar um absorvedor de 3 milímetros inserido em meio lipídico com um laser operando em 1064 nm.

Fonte: (KRUGER; LIU, 1994).

Os transdutores ultrassônico são disponíveis comercialmente, variando em número de elementos sensores (um elemento, vetores e matrizes de elementos adjacentes) e formas geométricas (lineares, convexas e côncavas), que possuem banda de frequência de frações a dezenas de MHz podendo atingir até centenas de MHz (WANG; YAO, 2016), permitindo um limite de resolução espacial da ordem de micrometros.

A fonte de luz mais comumente utilizada é o laser pulsado operando na faixa do espectro eletromagnético do ultravioleta-visível (UV-VIS) até o infravermelho (IR) próximo, com energia da ordem de milésimos de Joules por pulso e duração de pulso da ordem de nanossegundos.

A IFA pode ser comparada com imagens puramente ópticas, por exemplo, a tomografia de coerência óptica (ARRIDGE, 1999; SCHMITT, 1999) com a qual pode-se obter resolução espacial micrométrica, contudo a profundidade de aquisição obtida é da ordem de alguns milímetros e também com imagem por difusão óptica, na qual a combinação de múltiplos comprimentos de onda, proporcionam obter uma imagem

funcional por exemplo de hemoglobina em sua forma oxigenada (HbO_2) e desoxigenada (Hb) em órgãos (GIBSON; HEBDEN; ARRIDGE, 2005). A IFA em múltiplos comprimentos³ vem sendo empregadas para obter informações funcionais de órgãos e tecidos biológicos, por exemplo, câncer de mama (XU; WANG, 2006), ultrapassando a barreira da profundidade de aquisição de imagens puramente ópticas.

O motivo pelo qual IFA vem sendo estudada como imagem biomédica é o fato de harmonizar as características de uma imagem óptica e imagem acústica, ultrapassando a profundidade de aquisição das técnicas ópticas supracitadas, o motivo pelo qual essa vantagem é obtida parte das características físicas intrínsecas como o espalhamento das ondas acústicas em meios biológicos que é de duas a três ordens de grandeza menores do que o espalhamento da luz nos comprimentos do IR e UV-VIS, fornecendo resolução espacial de imagens ultrassônicas convencionais, que é da ordem de micrometros (RICHARD S. C. COBBOLD, 2006).

Nos anos 2000 em estudos pré-clínicos, houve destaque na relevância da IFA para obtenção imagens funcionais e moleculares. Estes estudos obtiveram, através da análise das imagens obtidas em diferentes comprimentos de onda, estimativas de concentração de cromóforos de interesse como hemoglobina e agentes de contraste, que apresentem espectros de absorção óptica com picos bem definidos em comprimentos de onda de interesse (EMELIANOV; LI; O'DONNELL, 2009; NTZIACHRISTOS et al., 2005; WANG et al., 2003).

A Figura 3(a) mostra uma ilustração de um transdutor com múltiplos elementos adjacentes, conhecido como transdutor linear, no qual foi acoplada a uma fibra ótica para iluminar o alvo. Em um primeiro momento, a fibra ótica direciona a luz proveniente de uma fonte, por exemplo, laser UV-VIS, para um meio espalhador de luz, onde há, em seu interior, um absorvedor com grande coeficiente de absorção. Observa-se que a luz é atenuada pelo meio alvo e, em seguida, dada a características de absorção ($\mu_a \gg$) do absorvedor, que está localizado a 1 cm de distância da face do transdutor. A absorção ocorre causando a emissão de ondas FAs, que são detectadas pelo transdutor na forma de sinal FA que são processados para formar as IFAs.

³ Espectroscopia por FA consiste em aplicar múltiplos comprimentos de onda para caracterizar meios materiais ou tecidos biológicos por sinal ou imagem fotoacústica.

A Figura 3(b) mostra duas IFAs lado a lado. Tais imagens mostram o contraste da IFA quando são estimulados o lado esquerdo e depois do lado direito de bigodes de um roedor. Para obtenção dessa imagem, foi obtida uma IFA em 532 nm sem nenhum estímulo, em seguida, os bigodes do roedor foram estimulados para que novamente IFAs fossem obtidas, mostrando em uma imagem final a sobreposição da imagem com estímulo pela imagem sem estímulo.

Figura 3. (a) Ilustração de um transdutor ultrassônico multielementos acoplado a uma fibra ótica, que fornece um feixe de luz e detecta ondas fotoacústicas provenientes de um absorvedor localizado a 1,0 cm de profundidade e (b) IFA do cérebro de um rato, que foi estimulado do lado esquerdo e direito.

Fonte: adaptado de (EMELIANOV; LI; O'DONNELL, 2009)

Recentemente, a caracterização físico-química da microestrutura vascular de tecidos biológicos (HU; WANG, 2010) foi realizada através da análise de IFA em múltiplos comprimentos de onda, resultando em estimativas de concentração relativa de hemoglobina. Além disso, outros estudos buscam avaliar características mecânicas dos tecidos biológicos por meio da análise do espectro de frequências espaciais do sinal FA relacionado a cada comprimento de onda (XU et al., 2012). Tais estudos combinam de maneira avançada a características básicas das IFAs, que são o contraste óptico e a acústico em profundidade. Essas informações não são obtidas de forma direta, necessitando processamento de IFA em múltiplos comprimentos de onda.

De maneira avançada, a análise das características acústicas consiste de realizar o ajuste linear do espectro de frequências acústicas do sinal FA, em seguida, obter os valores de coeficiente angular, coeficiente linear e relações obtidas destes valores numéricos que refletem a dimensão e concentração do cromóforo (XU et al., 2012). Contudo, o método rotineiramente estudado, aprimorado e conseqüentemente

utilizado em FA se dá por meio da solução de um sistema linear que considera as características ópticas, no qual as entradas são a fluência de luz, o sinal FA e o coeficiente de extinção molar do cromóforo (HU; WANG, 2010).

A estimativa da concentração de Hb e HbO₂ é relacionada matematicamente para obter a saturação de oxigênio (SO₂) *in vivo*, que é um biomarcador⁴ de câncer (LI; TANG; YAO, 2018), fornecendo a possibilidade de identificar e quantificar o SO₂ por meio de IFA, correlacionando com a oxigenação do tumor.

(RICH; SESHADRI, 2016) monitoraram por meio de IFA fases do tratamento do câncer, sendo possível a correlação de baixo nível de oxigenação do tumor para poder determinar a utilização de alta dose de radiação para o tratamento, sendo os tecidos tumorais com maiores níveis de oxigenação mais sensíveis ao dano provocado com irradiação por radiação ionizante (ABRANTES et al., 2014; STEWART et al., 2010).

O desenvolvimento de agentes de contraste vem acompanhando o desenvolvimento da IFA como método de imagem biomédica. Assim, diversos estudos mostraram que estimativas de concentração de corantes (e.g., indocianina verde, azul de metileno) (GEHRUNG; BOHNDIEK; BRUNKER, 2019), porfirinas (AMADO et al., 2020) e nanopartículas de ouro (HOMAN et al., 2011; LI; CHEN, 2015) vêm sendo estudados para serem utilizadas em favor do contraste molecular da IFA.

A Figura 4(a) mostra um gráfico que compara o coeficiente de absorção da Hb e HbO₂ e a absorbância de um agente de contraste constituído de nanopartículas de ouro. Neste gráfico, são destacados por círculos os comprimentos de onda 740, 760, 780, 800, 820 e 840 nm, que consistem no grupo de comprimentos de onda comumente utilizados para aquisição de IFAs

A Figura 4(b) mostra a imagem resultante do algoritmo para extração da concentração do cromóforo, que foi obtida através do processamento da IFA em múltiplos comprimentos de onda, sobrepondo uma imagem de ultrassom convencional

⁴ Biomarcador é um indicador quantitativo de um organismo que pode estar relacionado a um estado/doença.

do flanco direito de um roedor com um tumor de aproximadamente um centímetro de diâmetro.

Figura 4. (a) Coeficiente de absorção da oxi-/deoxi-hemoglobina e de um agente de contraste com nanopartículas (NP) de ouro. (b) Concentração de cromóforos (HbO_2 , Hb e NP) e SO_2 obtidos através do processamento de IFAs obtidas em múltiplos comprimentos de onda sobrepondo uma imagem de ultrassom convencional de um tumor de aproximadamente um centímetro de diâmetro. Note que a deoxi-hemoglobina aqui é abreviada por Hb.

Fonte: adaptado de (KIM et al., 2011)

Embora a profundidade de aquisição da IFA supere o de imagens obtidas por técnicas ópticas, ainda há busca para aprimorar a profundidade de aquisição da IFA, para que possam superar o limite de 1,0 cm de profundidade, tornando-se relevantes para terapias (e.g., IFA de melanoma) e teranóstica⁵ (ZHOU et al., 2014; LI; CHEN, 2015; XU et al., 2016).

Além disso da profundidade de aquisição, outros estudos buscam aprimorar as estimativas de SO_2 , pois, embora, os equipamentos disponíveis para obtenção de IFA já fornecem meios de acessar SO_2 , faz-se necessário correções do SO_2 . Em (MITCHAM et al., 2015, 2017) as estimativas de SO_2 por meio de IFA são profundamente estudadas para avaliar o quão são precisas e acuradas. Nesses estudos, verificaram que IFAs em profundidades de aquisição da ordem de centímetro precisam ser corrigidas pela fluência para que o erro associado à estimativa de SO_2 diminua em mais de 10%, favorecendo a correlação com o nível de oxigenação do tecido.

⁵ Conceito de teranóstica consiste de forma genérica em uma associação de métodos diagnósticos a métodos de terapia.

Por fim, novos métodos analíticos e numéricos que possam ser aplicados a IFA para correção de fluência local estão em desenvolvimento e permitem melhorar as estimativas de SO_2 (NASER et al., 2019) e, em uma outra abordagem, Hussain e seus colaboradores (HUSSAIN et al., 2016) realizaram um estudo para obter as características físico-químicas de um *phantom* sem informações a priori e desenvolveram uma maneira de aprimorar a utilização de IFA para entregar medidas absolutas de SO_2 , utilizando técnica acusto-óptica em dois comprimentos de onda para correção de fluência.

Todos os estudos supracitados permitem introduzir a IFA como método de imagem em ascensão no âmbito biomédico, que vem sendo utilizada em estudo pré-clínicos para estimativas de SO_2 e agentes de contraste como alternativa a outras técnicas ópticas, superando a questão de profundidade de aquisição. Tais resultados sugerem que o avanço nos estudos de aquisição e análise favorecem uso clínico da IFA nos próximos anos.

Considerando estes avanços, nessa tese são apresentados uma máscara de limiar de ruído para aprimorar estimativas de SO_2 por IFA, que reduzem o erro das estimativas, permitindo estimativas em profundidade e outro para caracterização de agentes de contraste em diferentes concentrações de SO_2 por meio de IFA.

1.1.2. Imagem fotoacústica por raios X

A dosimetria por técnica FA inicia-se em meados da década de 1980, quando estudos observaram que a interação de radiação ionizante com o meio gera ondas FAs. Tais estudos não se resumem a raios X e abordam diversos tipos de radiação ionizante (BAILY, 1992; SACHSE; KIM, 1983).

Bowen e seus colaboradores foram pioneiros (BOWEN et al., 1991) quando detectaram sinais FAs nas bordas de feixes de raios X provenientes de um acelerador linear (AL) terapêutico, mostrando uma maneira de relacionar a irradiação com os sinais FAs.

A Figura 5(a) mostra um diagrama esquemático do sistema experimental de detecção de sinais FAs induzidos por raios X. Tal sistema consiste em uma fonte de raios X, que é representada por um colimador que envolve um alvo irradiado por um feixe de elétrons, originando os raios X. Ao irradiar um tanque de água, as bordas

do feixe de raios X, representados pelas letras A e B foram detectadas ao longo do eixo axial de um transdutor ultrassônico de 0,5 MHz.

A Figura 5(b) mostra a amplitude dos sinais FAs detectados nos pontos A, B e C, que correspondem ao limite superior, limite inferior do feixe de raios X e a reflexão no fundo do tanque, respectivamente.

Figura 5. (a) Aparato experimental de Bowen e seus colaboradores (BOWEN et al., 1991) utilizado para detectar (b) sinais raios X acústico.

Fonte: (BOWEN et al., 1991)

O efeito FA proveniente da interação de raios X é modernamente denominado efeito raios X acústico (XA), que, conforme observado por Bowen e seus colaboradores na década de 1980, possui característica de obter um sinal proporcional a absorção de radiação ionizante em tempo real, sugerindo a técnica XA para o âmbito da dosimetria em radioterapia.

Nos tratamentos de radioterapia por feixe externo, os pulsos de raios X entregues pelo AL devem tratar o paciente, irradiando apenas o tecido doente, e reduzir os efeitos biológicos, por exemplo morte de tecido celular, nas regiões onde hajam apenas tecidos saudáveis (FOWLER, 2010; OKUNO, 2013). Assim, no âmbito da terapêutica, o médico e físico médico montam o plano de irradiação, denominado planejamento da radioterapia, que modernamente é computadorizado e baseado em imagens anatômicas de ressonância magnética nuclear e tomografia computadorizada, objetivando delimitar a região do tumor, onde a dose absorvida no tecido doente esteja de acordo com a demanda determinada pelo médico.

Com o avanço nas técnicas de tratamento, novos métodos verificação de dose absorvida, que denominamos dosimetria, vêm sendo desenvolvidos, especialmente para a dosimetria em duas ou três dimensões (LOW et al., 2011), por

exemplo dosimetria por cintilação (BEAULIEU; BEDDAR, 2016), dosimetria por luz Cherenkov (GLASER et al., 2014), gel (BALDOCK et al., 2010), *electronic portal imaging devices* (EPIDs) (VAN ELMPT et al., 2008), filmes (MIJNHEER et al., 2013), e MOSFET (SCARANTINO et al., 2004) para dosimetria em tempo real ou *in vivo*.

No contexto de dosimetria, uma nova modalidade de IFA o qual foi denominada de imagem raios X acústica (IXA) vem sendo analisada como um método ultrassônico de dosimetria, fornecendo imagens que têm objetivo de medir deposição de dose (ou absorção de raios X) em tempo real.

Xiang e colaboradores (XIANG et al., 2013) desenvolveram um método tomográfico para formar IXA de uma placa de chumbo envolta por tecido muscular *ex vivo*. Além disso, simulações e novos experimentos apresentaram imagens capazes de detectar sinais XAs que podem ser relacionados com a deposição de dose em diversos materiais absorvedores, por exemplo, chumbo, latão, alumínio e phantoms⁶ de água, proporcionando o uso de IXA tomográfica para fins de dosimetria e verificação da geometria de campos de radiação utilizados nos tratamentos de radioterapia (HICKLING et al., 2016; HICKLING; LEGER; NAQA, 2016).

Todos os estudos supracitados permitem introduzirmos a IXA como método de dosimetria, que fornece estimativas de dose depositadas por AL em radioterapia em tempo real. Tais resultados sugerem que o próximo passo da IXA é ser compatível com sistemas de ultrassom comerciais. Nessa tese, apresentamos os métodos e resultados de estimativa de dose em radioterapia por IXA obtida através de AL e ultrassom diagnóstico por imagem.

1.2. Equipamentos comerciais de ultrassom em fotoacústica e a relevância de estudos da formação de imagens fotoacústicas por laser e raios X

Na IFA empregam-se pulsos de laser com duração da ordem de nanossegundos e espectro mono-energético com a possibilidade de usar múltiplos comprimentos de onda; enquanto que para gerar IXA, aproveita-se de pulsos de raios

⁶ Phantoms são objetos simuladores de tecidos biológicos. Em dosimetria, um tanque de água de dimensões antropométricas é utilizado para fins de calibração de equipamentos de radioterapia, que são utilizados em tratamentos.

X com duração da ordem de microssegundos e espectro poli-enérgico, que são produzidos por AL terapêuticos. Ambos os efeitos, FA e XA, geram ondas ultrassônicas com ampla faixa de frequências e sua amplitude depende tanto da eficiência FA ou XA como dos equipamentos utilizados para sua detecção (BAILY, 1992; SUN; GERSTMAN, 1999).

Os equipamentos de ultrassom comercial são desenvolvidos para obter imagens ultrassônicas processando sinais de grande amplitude, que são gerados por técnica de emissão/recepção conhecida como ultrassom (US) pulso-eco. Entre as diferenças da imagem de US pulso-eco em relação à imagem FA ou XA, a mais importante é maneira de excitação, na qual o transdutor transmite um pulso ultrassom, em uma frequência selecionada, para em seguida detectar o sinal de um eco originado nas inomogeneidades do meio (tecido) alvo. Este sinal então é processado para formar a imagem anatômica ponderada na amplitude dos ecos, conhecida como modo-B. Assim, os equipamentos de imagem de US são amplamente comercializados e estão bem estabelecidos para diagnóstico em diversas especialidades médicas.

Os equipamentos comerciais para formação de IFA ainda estão em desenvolvimento, embora já existam no mercado algumas opções, as quais vem sendo utilizadas em estudos pré-clínicos (BEARD, 2011; NEUSCHMELTING et al., 2016) e, recentemente, os primeiros equipamentos desenvolvidos especificamente para humanos começaram a ser usados em estudos clínicos (KIM et al., 2016).

Usualmente, em termos de montagem, o equipamento de formação de IFA consiste basicamente de um laser pulsado acoplado a um grupo de fibras óticas, que é posicionado para iluminar uma região de interesse dentro do campo de visão do transdutor ultrassônico, e um equipamento de ultrassom ligado ao transdutor. A sequência para detecção consiste em uma iluminação, que é feita por meio de pulsos de energia da ordem de milésimos de Joules (e.g., 40 mJ medidos na saída do grupo de fibras óticas) para um dado comprimento de onda, sincronizando ao mesmo tempo o equipamento de ultrassom para iniciar a detecção de sinais FA, que em seguida são processados em IFA – ver Figura 3(a) e 3(b).

Não existem equipamentos comerciais para formação de IXA como os equipamentos comerciais para IFA, seu desenvolvimento deve considerar a compatibilidade com o AL, que consiste em métodos de sincronização com os

equipamentos diagnóstico por imagem de US e seus transdutores, podendo serem utilizados os mesmos que já tem sido utilizados para formação de IFA.

Quanto aos transdutores de US diagnóstico por imagem existentes, todos são específicos para um determinado fim, por exemplo, obter imagens de abdômen ou por exemplo imagem relacionada a doenças cardíacas, por esse motivo apresentam uma limitação tanto para IFA como IXA, porque respondem em uma faixa finita de frequências especiais. Assim, os transdutores acabam filtrando as frequências contidas nos sinais FAs e XAs reduzindo assim a amplitude do mesmo.

Modernamente, os equipamentos de US diagnóstico por imagem possuem mais de um canal de recepção, por exemplo, trinta e dois ou mais canais, permitindo que múltiplos elementos adjacentes que são programáveis, possibilitando assim determinar uma abertura variável da ordem de milímetros até centímetros, facilitando a formação de imagens. Por outro lado, equipamentos laboratoriais que geralmente possuem apenas 1 canal ligado a um osciloscópio, tem abertura de fixa de alguns milímetros ou centímetros, necessitando translação para formação de imagens. Contudo esses dispositivos geralmente são mais versáteis em termos da frequência de recepção, podendo ostentar uma faixa ampla de frequências de recepção, por exemplo, hidrofone⁷.

Os equipamentos de US de diagnóstico por imagem são controlados por uma interface de usuário que é utilizada para controle de parâmetros do laser (energia, frequência de repetição de pulso e comprimento de onda) e ultrassônicos (TGC, frequência de amostragem e etc.) e também os parâmetros utilizados para finalmente realizar o processamento do sinal para formação da imagem, como por exemplo, velocidade de som, abertura do transdutor, campo de visão, correções de conversão de geometria do transdutor e etc. (NEEDLES et al., 2013a; NEUSCHMELTING et al., 2016; XU; WANG, 2006).

1.3. Formação de imagens fotoacústicas por laser e raios X

Cientistas buscam fornecer avanços científicos e tecnológicos para promover novas técnicas de imagem que possam vir a ser complementares ou

⁷ Hidrofone: é um transdutor de som para utilização submersa em água que comumente possui uma ampla faixa de frequência de recepção de sinais acústicos.

alternativas às atuais, assim como desenvolvem técnicas de monitoramento de tratamentos, que possam trazer benefícios para a sociedade.

Os estudos de formação de IFAs por laser e raios X oferecem grande relevância para o avanço científico em áreas biomédicas e dosimétricas, uma vez que novas aplicações proporcionam a quantificação de informações funcionais de tecidos biológicos ou dosimetria.

Assim como exposto anteriormente, dada as suas vantagens em relação a técnicas ópticas (profundidade de aquisição superior e capaz fornecer contraste óptico e resolução espacial ultrassônica) a IFA vem se estabelecendo como técnica de imagem biomédica no âmbito de estudos pré-clínicos para em seguida conseguir avançar como modalidade de imagem clínica. Contudo, ainda existem alguns problemas a serem contornados, como por exemplo, correções de estimativas de SO_2 tanto em profundidade quando em meio ao uso de agentes de contraste. Dessa forma, para mostrar que é possível a utilização da IFA em um ambiente clínico, são propostos métodos para aprimorar as estimativas de SO_2 e é avaliada a influência da concentração de agentes de contraste para mostrar que a IFA pode vir a ser utilizada no âmbito clínico.

Com o mesmo intuito de trazer a IFA para a clínica, trabalhos no sentido de trazer a IXA para o ambiente da radioterapia por meio do desenvolvimento de um sistema de formação de IXA, utilizando um US de diagnóstico por imagem que posse vir a ser utilizada no ambiente da radioterapia para fornecer estimativas de dose em tempo real.

Nesta tese, apresenta-se os resultados dos estudos para formação de IFAs por laser e raios X, exibindo uma nova modalidade de imagem dosimétrica a IXA, onde o objetivo é identificar a dose depositada no momento do tratamento de radioterapia por feixe externo e IFA com múltiplos comprimento de onda para obter medições de SO_2 em profundidade e em meio a utilização de agentes de contraste.

2. Justificativa e Objetivos

A necessidade de desenvolver modernos métodos de dosimetria com potencial de fornecer imagens e volumes que refletem a dose absorvida em tempo real e, além disso, pudessem ser formadas com sistemas acessíveis à hospitais e clínicas, é de extrema importância no contexto da rotina da radioterapia, onde, segundo a Comissão Nacional de Energia Nuclear, no Brasil, seis de cada dez pacientes diagnosticados com algum tipo de tumor terão, recomendação de tratamento por radioterapia que são disponíveis por meio de AL no Sistema Único de Saúde (SUS) nas regiões: 55% Sudeste, 19% Sul, 13% Nordeste, 7% Centro-Oeste e 6% Norte de acordo com a Sociedade Brasileira de Radioterapia. Portanto, métodos que possam garantir que os tratamentos estão entregando a dose determinada podem vir a determinar a sobrevivência do paciente com o mínimo de efeitos colaterais.

A primeira parte dessa tese irá avaliar métodos de obtenção de IXA por meio de sistema de formação de IXA que compreende US de diagnóstico por imagem e AL terapêutico para formar imagens de absorção de dose em tempo real.

Assim como foi introduzido no capítulo anterior, a IFA por laser com múltiplos comprimentos de onda fornece imagens com contraste óptico e resolução espacial acústica que resultam em estudos relacionados ao câncer em ensaios pré-clínicos e vem caminhando para a sua utilização na clínica e, além disso, seu uso é associado ao desenvolvimento de agentes de contraste, que resultam em imagens com profundidades de aquisição maiores que a barreira do centímetro e a nível molecular. Tais características promovem estudos de formação de IFA no contexto da biomedicina e engenharia biomédica, onde poderá substituir métodos mais caros como ressonância magnética nuclear e métodos puramente ópticos que limitam a profundidade de aquisição.

A segunda parte dessa tese irá aplicar métodos de processamento e análise em IFA para avaliar as estimativas de SO_2 em função da profundidade de aquisição e uso de agentes de contrastes para IFA. A pesquisa irá procurar por reduzir o erro associado as medidas de SO_2 .

Esperamos atrair a atenção para o tema e contribuir para o uso de dosimetria ultrassônica em tempo real por meio de IXA e medidas de SO_2 por meio de IFA com múltiplo comprimento de onda. Além disso, nossas conclusões podem servir

de base para outros estudos da área de dosimetria, física médica e engenharia biomédica.

A seguir listamos nossos objetivos em tópicos:

- Estudo do aspecto teórico dos princípios físicos da FA por laser e raios X;
- Desenvolvimento de sistema experimental de detecção ultrassônica compatível com equipamento US de diagnóstico por imagem e AL terapêutico;
- Desenvolvimento de software para aquisição de dados, formação de IXA e análise de IFA e IXA;
- Utilização da plataforma desenvolvida em experimentos e análise de IXAs para dosimetria e análise de IFAs de *phantoms* e amostras *ex vivo* de tecidos biológicos para estudos de quantificação de SO₂ e agentes de contraste.

Os próximos capítulos deste documento reportam as metodologias, resultados e as discussões obtidas nesta tese, visando alcançar os objetivos supracitados.

A formação de IXA, os aspectos teóricos do sinal XA, simulações MC e k-Wave e os experimentos realizados no setor de radioterapia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto-SP e no Hospital do Amor de Barretos-SP para detecção do sinal XA e formação de IXA são descritos no Capítulo 4.

A obtenção de IFAs de *phantoms* e *ex vivo* por laser através do uso de equipamento comercial de IFA, modelo VEVO-LAZR, do MD Anderson Cancer Center de Houston-TX, métodos de caracterização e remoção de ruído da IFA e a influência do ruído na quantificação de SO₂ são reportados no Capítulo 5. Também neste capítulo, é abordado o estudo da influência do agente de contraste Lipo-JICG na quantificação de SO₂ por meio da análise de IFAs de *phantoms* obtidas com o tomógrafo optoacústico multiespectral, modelo InVision-MSOT, do MD Anderson Cancer Center de Houston-TX.

Por fim, no Capítulo 6, conclusões e perspectivas futuras dos trabalhos gerados nesta tese.

3. Fundamentos teóricos

O sinal FA é uma representação da onda FA e tem suas características relacionadas com a duração do intervalo de tempo de iluminação ou irradiação de acordo com o rendimento do efeito fotoacústico. A classificação da duração do pulso de irradiação é feita de acordo com sua ordem de grandeza (KRUGER, 1994), por exemplo, de microssegundos, o sinal FA que é classificado como longo (τ_l) ou, no caso do intervalo de tempo da ordem de nanossegundos o sinal FA é classificado como curto (τ_c).

A Figura 6 mostra as formas de onda do sinal FA para pulsos de curta e longa duração. É importante ressaltar que o sinal FA, em termos da radiação óptica fornecida por laser, depende da relação da profundidade de penetração da luz (WALSH et al., 2010). Essa relação determina os regimes de confinamento de pressão e térmico, ambos os regimes são considerados para o detalhamento da geração da onda FA e consequentemente da forma sinal FA.

Figura 6. Representações gráficas mostrando a forma de onda do sinal fotoacústico ao longo do tempo para a largura do pulso τ_l maior que τ_c

Fonte: adaptada de (KRUGER, 1994).

Sobre os mecanismos de geração do efeito fotoacústico, (TAM, 1986) pode-se enumerar em ordem crescente de eficiência: eletrostrição⁸, expansão termoelástica e transformações fotoquímicas. A eletrostrição ocorre quando um metal mau condutor dielétrico é exposto a um campo elétrico externo. Na rede cristalina do metal, os íons são deslocados de forma polarizada, gerando uma pequena elongação, enquanto a expansão termoelástica tem maior eficiência que a eletrostrição e ocorre em meios sólidos ou líquidos devido a variação de temperatura. A amplitude da

⁸ A eletrostrição é a elongação de um meio dielétrico sob a influência de campo elétrico.

variação de temperatura precisa ser suficientemente capaz de causar a vibração atômica ou molecular, resultando em uma elongação das ligações moleculares e causando a expansão das dimensões do meio. Assim, não havendo mudanças de estado ou químicas, o mecanismo de expansão termoelástica é o mecanismo predominante do efeito fotoacústico desde metais até tecidos biológicos.

A Figura 7 mostra uma ilustração dos mecanismos supracitados, que vem por determinar a constrição e expansão do material e também os gráficos que representam a duração do pulso de excitação e a perspectiva da forma do sinal FA, quanto a duração de microssegundos e nanossegundos.

Figura 7. Ilustração dos mecanismos de geração de ondas fotoacústicas. (a) A elongação do meio absorvedor (setas) gera um transiente de pressão pelo mecanismo de eletrostrição e expansão térmica. Em (b) ilustra-se a forma do sinal fotoacústico em função da duração do pulso: nanossegundos e microssegundos.

Fonte: ilustração baseada em (TAM, 1986).

Atualmente, lasers com Q-switch⁹ fornecem pulsos com duração da ordem de microssegundos até nanossegundos e energia da ordem de joules, quando medida na saída do equipamento, que são especificamente utilizados para a IFA. Assim, o sinal FA tem forma bipolar e sua eficiência está relacionada matematicamente com a fluência E $<J/cm^2>$ e duração de pulso τ $<ns>$. À medida que é entregue um valor maior de E , a amplitude do sinal FA aumenta. Essa amplitude decresce para valores crescentes de τ , determinando um intervalo de tempo equivalente a τ que separa a porção positiva e negativa descaracterizando a forma bipolar (ver Figura 6). Agora, é

⁹ Q-switch é uma técnica usada para aumentar a potência de pico do laser.

pertinente ressaltar que do ponto de vista experimental E e τ são ajustáveis, porém, dependentes da fonte.

Considerando um meio absorvedor no qual incide-se um pulso de laser com comprimento de onda λ , duração curta τ_c da ordem de nanossegundos e energia fornecida E da ordem de mJ. Para satisfazer o regime do confinamento de pressão, a duração do pulso de irradiação τ_c deve ser menor que a razão entre a velocidade da onda FA v_p <m/s> e o comprimento da dimensão espacial δ <mm> de propagação do pulso do laser pelo meio absorvedor. Além disso, no regime de confinamento de pressão, o regime de confinamento térmico também é satisfeito, pois o tempo de difusão térmica $\delta^2/4D_t$, que depende da difusividade térmica D_t <m²/s>, é, na maioria das vezes, maior que a razão δ/v_p , portanto o aumento de temperatura é local durante a irradiação, tal que:

$$\tau_c < \frac{\delta}{v_p} < \frac{\delta^2}{4D_t}. \quad (1)$$

No regime de confinamento de pressão, é obtida a solução matemática da onda FA de amplitude de pressão inicial p_0 <Pa>, onde se relacionam as características, mecânicas e térmicas do absorvedor, considerando que uma fração de volume $\frac{dV}{V}$ <adimensional> localizada em $\mathbf{r}$ <m> expande-se devido às mudanças de pressão p <Pa> e temperatura T <K>:

$$\frac{dV}{V} = -\kappa p(\mathbf{r}) + \beta T(\mathbf{r}), \quad (2)$$

sendo κ a compressibilidade isotérmica <1/Pa>, β o coeficiente térmico de expansão volumétrico <1/K>, p e T a mudança de pressão e temperatura, respectivamente.

Nos regimes de confinamento de pressão e térmico, a fração de volume que sofre expansão é desprezível durante a irradiação, portanto, a partir da Equação (2), a mudança de pressão imediatamente após o pulso de irradiação é:

$$\begin{cases} p(r, t) \equiv p_0(r) \\ p_0(r) = \frac{\beta T(r)}{\kappa} \end{cases} \quad (3)$$

Dessa forma, a solução de $p(\mathbf{r}, t)$ é aproximada pela solução de pressão inicial $p_0(\mathbf{r})$ na qual assume-se a energia entregue foi absorvida pelo absorvedor. Esse absorvedor pode ser caracterizado por sua massa específica ρ <kg/m> e a capacidade térmica específica a volume constante C_v <J/kg.K>, portanto o aumento de temperatura é:

$$T(r) = \frac{W(r)}{\rho C_v}, \quad (4)$$

em que $W(r)$ é a absorção específica <J/cm³>.

A absorção específica é dada pelo produto entre o coeficiente de absorção, que depende do comprimento de onda, μ_a <1/cm> e a densidade de energia fornecida pelo pulso de irradiação E :

$$W(r) = \mu_a(r)E(r). \quad (5)$$

Através de manipulação algébrica das Equações (3), (4) e (5) obtêm-se:

$$p_0(r) = \frac{\beta}{\kappa \rho C_v} \mu_a(r)E(r). \quad (6)$$

A temperatura e a pressão são propriedades intensivas, assim como, a compressibilidade isotérmica κ , portanto não depende das dimensões locais (GASKELL, 2008), substituindo $\kappa = \frac{C_p}{C_v} \frac{1}{\rho v_p^2}$ em (6) obtém-se o parâmetro adimensional de Grüneisen Γ , que é definido como $\Gamma = \frac{v_p^2 \beta}{C_p}$ e relaciona o coeficiente de expansão volumétrico β , velocidade da onda FA v_p e a capacidade térmica específica C_p .

Para um absorvedor, o parâmetro Γ representa características mecânicas e térmicas e o coeficiente de absorção μ_a representa a característica óptica dependente do comprimento de onda. Portanto, o sinal FA é a relação entre essas características físicas do absorvedor e a energia fornecida pelo laser E (GAO; YANG; XING, 2011):

$$p_0(r) = \Gamma \mu_a(r)E(r). \quad (7)$$

Finalmente, a Equação (7) representa, a menos de uma constante de calibração, a amplitude do sinal FA gerado por um pulso curto de irradiação. Tal sinal tem uma forma bipolar e apresenta uma banda-larga no espectro de frequências ultrassônicas. Entretanto, o sinal FA é detectado por um transdutor ultrassônico de banda finita, limitando o espectro de frequências e interferindo na sua forma (TAM, 1986; WALSH et al., 2010; WANG, 2010).

Conforme apresentado, sabe-se que o mecanismo termoelástico é eficiente para geração do sinal FA, de tal forma que não depende da classe da energia eletromagnética empregada durante a irradiação, assim feixes pulsados de: radiofrequência, magnéticas (ALIROTEH; SCOTT; ARBABIAN, 2014), raios X (HICKLING; LEGER; EL NAQA, 2014) ou até partículas como elétrons e prótons (ASSMANN et al., 2015) produzem efeito FA, pois este inicia-se pelo aumento de temperatura.

Em física médica, por exemplo, empregam-se feixes pulsados de radiação ionizante para o tratamento do câncer; trata-se de radioterapia de feixe externo de raios X, na qual pulsos de raios X terapêutico com energia da ordem de mega elétron-volts, que são produzidos pelo AL operando em megavoltagem e têm duração de pulso longo que é da ordem microssegundos, são administrados no paciente. Neste cenário, pode-se assumir que o efeito FA ocorre, aumenta-se a temperatura local pela absorção de raios X, que oferecem penetração em tecidos maior que a luz UV-VIS-IR. Entretanto, quando as condições de confinamento não são satisfeitas, as características físicas e geométricas do meio absorvedor influenciam criticamente a forma e a amplitude do sinal FA, dificultando a sua detecção.

Em termos teóricos, tendo em vista que a interação da radiação ionizante com o absorvedor é diferente da interação da radiação não ionizante (ATTIX, 2008), o efeito FA recebe um tratamento teórico diferente. Garcia e seus colaboradores (GARCIA; PASTOR; BENNEMANN, 1988) apresentaram uma teoria para a geração de sinais FAs por absorção de raios X. Em sua abordagem, a absorção dos raios X ocorre em níveis atômicos, resultando novamente no mecanismo termoelástico. Porém, o aumento de temperatura ocorre devido ao movimento cinético de elétrons: fotoelétrons, elétrons Auger e elétrons secundários. Esses elétrons propagam-se por

um caminho livre médio¹⁰, que é da ordem de angstroms, transferindo sua energia cinética para o absorvedor em forma de energia térmica, gerando sinal FA, que posteriormente foi chamado de sinal raios X acústico (XA). Em sua teoria, o sinal XA é dado em unidades arbitrárias e representado na forma infinitesimal pela diferencial ds , onde em um dado ponto x sua amplitude infinitesimal é dada pela relação:

$$ds(h\nu, x) = \frac{1}{d \rho C_v} \sum_i w_i(h\nu, x) \alpha_i(h\nu, x) \epsilon_i(h\nu, x), \quad (8)$$

sendo inversamente proporcional à dimensão d <m>, capacidade térmica específica C_v e massa específica ρ do meio absorvedor. O sub-índice i é o índice do i -ésimo elétron que tem probabilidade w_i de possuir energia cinética ϵ_i <J> e α_i é a fração da energia cinética que é transformada em energia térmica.

O sinal XA, S , é a integral em coordenadas esféricas do volume irradiado do absorvedor, representando o aumento da temperatura na superfície do absorvedor. Após algumas considerações para tratar o problema de forma mais simples, a forma integral da Equação (9) representa as transformações de energia cinética em calor que ocorrem nas camadas atômicas K e L (GARCIA; PASTOR; BENNEMANN, 1988):

$$S(h\nu) = \frac{1}{d \rho C_v} \left\{ \begin{aligned} &[(1 - e^{-\mu_K d}) \alpha_1(h\nu - \epsilon_K) + (1 - e^{-\mu_L d}) \alpha_2(h\nu - \epsilon_L)] + \\ &[(1 - e^{-\mu_K d}) \alpha_2 p_K^A \epsilon_K^A + (1 - e^{-\mu_L d}) \alpha_1 p_L^A \epsilon_L^A] + \\ &\left[\iint \mu_K e^{-\mu_K x} p_K^F \alpha_2 P_L(x, \theta) (\epsilon_K - 2\epsilon_L) dr d\Omega \right] \end{aligned} \right\} \quad (9)$$

$$P_L(x, \theta) \begin{cases} 1 - \exp \left[\frac{\mu_L (x - d)}{\cos \theta} \right] & (0 < \theta < \frac{\pi}{2}) \\ 1 - \exp \left[\frac{\mu_L x}{\cos \theta} \right] & (\frac{\pi}{2} < \theta < \pi) \end{cases}$$

¹⁰ Caminho livre médio é a tradução do termo em inglês: “*mean free path*”, que significa a distância percorrida por uma partícula (ou fóton) no qual ocorrem sucessivas colisões, modificando a energia e a direção da partícula.

em que se representa por μ_K (e μ_L) coeficiente de absorção referente a um elétron na camada K (e L), ϵ^A a energia média dos elétrons Auger e a probabilidade de ocorrência de processo Auger por p^A ou fluorescência por p^F . Em ambos, ϵ e p , o índice K (ou L) representa as camadas atômicas. Por fim, as frações de energia cinética que são transformadas em calor α_1 e α_2 são parâmetros empíricos que diferenciam a energia dos elétrons provenientes das camadas K e L, respectivamente.

De forma simplificada, podemos entender a Equação (9) como uma soma de 3 termos (que estão entre os colchetes), representando os processos que contribuem para o sinal XA: o primeiro termo representa o processo devido a ocorrência de fotoelétrons, o segundo representa o processo devido a ocorrência dos elétrons Auger e o terceiro representa a reabsorção de fótons emitidos por processo de fluorescência. Dessa forma, entende-se que a amplitude do sinal deve aumentar à medida que se aumenta a energia dos raios X e/ou o coeficiente de absorção de raios X.

De maneira macroscópica assumindo que a energia dos raios X foi absorvida por um absorvedor localizado em r , pode-se considerar a energia térmica local absorvida é proporcional ao sinal XA. Xiang e seus colaboradores (XIANG et al., 2013) apresentaram as primeiras IXA tomográficas, observando uma característica dos raios X terapêuticos provenientes do AL, o espectro poli energético, que entrega pacotes pulsados de raios X, retirando elétrons do repouso, que transferem sua energia cinética para um absorvedor de coeficiente de expansão volumétrica β , capacidade térmica específica a pressão constante C_p no qual a onda XA propaga-se com velocidade v_p . Assim, a pressão gerada $p(r, t)$ por XA que é detectada por um transdutor posicionado na origem do sistema de coordenadas tem forma integral:

$$p(r, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iiint \frac{dr}{r} \frac{\partial}{\partial t'} H(r, t') \quad (10)$$

onde a pressão p localizada em r no tempo t , que é representado pelo tempo retardado $t' = t - \frac{r}{v_p}$, e $H < J/m^3.s >$ é a energia térmica que foi absorvida.

Hickling e seus colaboradores (HICKLING; LEGER; NAQA, 2016) fundamentaram o entendimento da dosimetria por XA. Todavia, ressaltaram a ausência da condição do regime de confinamento de pressão e, portanto,

aproximaram uma solução que depende do coeficiente de Gruneisen, Γ , e massa específica do absorvedor e dose absorvida, D $\langle J/kg \rangle$. Porém, a descrição em (HICKLING; LEGER; NAQA, 2016) é válida a menos de uma operação de convolução do sinal XA com a forma do pulso de irradiação, deduzindo uma expressão direta, semelhante a Equação (7) para a deposição de dose durante a teleterapia:

$$p(r) = \Gamma \rho(r) D(r), \quad (11)$$

onde relaciona-se a dose depositada D e a massa específica com o parâmetro de Gruneisen.

O sinal FA e XA estão fundamentalmente descritos pelas Equações (9) ou (11), respectivamente. Embora sejam provenientes de interações e, consequentemente, teorias diferentes, pode-se dizer que a variação da energia térmica causa a expansão termoelástica, que em ambos os casos, são soluções da equação de onda:

$$\nabla^2 p(r, t) - \frac{1}{v_p^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(r, t) = -\frac{\beta}{C_p} \frac{\partial}{\partial t} H(r, t) \quad (12)$$

4. Formação de imagem raios X acústica

4.1. Introdução

Recentemente, estudos foram realizados para entender como os sinais XAs (DIAO et al., 2015) poderiam ser utilizados para formar IXAs, visando fornecer estimativas de dose absorvida por análise das IXA. Por exemplo, a tomografia computadorizada por raios X acústico (XACT – abreviação do termo em inglês *X-ray acoustic computer tomography*) (XIANG et al., 2013; HICKLING; LEGER; EL NAQA, 2014), que consiste na translação de um transdutor ao redor de um alvo de interesse para a aquisição dos sinais XA, tais sinais são processados por método de formação de imagem por retroprojeção, resultando na IXA tomográfica, e a IXA (SAMPAIO et al., 2015), que consiste em capturar sinais XA dentro de um campo de visão (FOV – abreviação do termo em inglês *Field of View*) retangular, aplicando o método de formação de feixe, por exemplo, atraso e soma para formação de IXA. Ambas as técnicas foram propostas como estratégias de dosimetria e para serem utilizadas dentro em radioterapia de feixe externo - *external beam radiation therapy* (EBRT).

A Figura 8(a) mostra a forma que é determinado o FOV da XACT, por meio da translação do transdutor ultrassônico, que possui apenas um elemento sensor, enquanto a Figura 8(b) mostra o FOV da IXA, que é determinado pelo número de elementos adjacentes do transdutor linear de diagnóstico por imagem.

Figura 8. Ilustração dos métodos de formação de imagens raios X acústica: (a) XACT e (b) IXA.

Em (a), um elemento sensor é transladado ao redor do alvo, enquanto em (b) transdutor multielementos é utilizado para formar a imagem do alvo.

Alguns estudos utilizaram XACT para obter imagens de matérias com alto coeficiente de absorção de energia em massa, nos quais também se utilizou um transdutor composto por um único elemento não focalizado (HICKLING; LEGER; NAQA, 2016) e focalizado (KIM et al., 2017) com o objetivo de aprimorar a relação sinal ruído (SNR) do sinal XA detectado, oferecendo melhor sensibilidade à dosimetria baseada na amplitude do sinal XA.

O XACT mostrou bom potencial para fornecer uma distribuição espacial da dose em um *phantom* de água, mostrando que imagens formadas por meio de algoritmos de retroprojeção fornecem informação espacial da dose fornecida por EBRT (HICKLING et al., 2016), usando um transdutor ultrassônico composto por um único elemento não focalizado, que foi mantido em uma posição estacionária, rotacionando o campo de raios X de 4 x 4 cm² 6 graus por 60 vezes, e avaliando experimentalmente a proposta de viabilidade do uso de XACT em um fluxo de trabalho de EBRT.

Além disso, foi desenvolvido XACT sobrepondo US em modo-B, que utilizava um transdutor ultrassônico com uma banda de frequência entre 1 e 4 MHz e que foi rotacionado ao redor de um alvo compreendido por simuladores de tecidos para fornecer estimativas de doses, sobrepondo pela primeira vez imagens de US com mapas de doses (LEI et al., 2018). Contudo, o hardware do US diagnóstico por imagem foi modificado, acrescentando-se amplificadores para observar o sinal XA em água, que se mostrou suscetível ao ruído, dificultando a formação da XACT devido ao baixo SNR, embora, forneceu estimativas de dose por meio da amplitude do sinal XA.

Esses estudos abriram oportunidades para o uso do XA, como uma técnica em tempo real para a medição da dose durante o EBRT. Dessa forma, entendemos que mostrar o potencial de gerar essas IXAs com sistemas de US diagnóstico por imagem com transdutores multielementos, em vez dos sistemas laboratoriais mais utilizados nos estudos citados no parágrafo anterior, é um próximo passo natural para avaliar a implementação dessa tecnologia em EBRT. Quanto ao SNR, embora ainda não tenham sido aplicados a IXA, o método de reduzir ruído por *wavelet* mostrou-se eficiente e de simples implementação, resultando em aumento nos valores de SNR enquanto mantém as características do sinal FA da glicose, que apresenta baixa amplitude (REN; LIU; XIONG, 2016) e, nesse aspecto, pode ser comparável aos sinais XA.

Nesse capítulo, mostra-se o uso de um equipamento de US diagnóstico por imagem e de técnicas de formação de feixe aplicadas a transdutores lineares para formação de IXAs, já que tais equipamentos e técnicas de imagem ainda não foram totalmente explorados no âmbito da IXA, enquanto seu uso era explorado em experimentos, a sua relação com as estimativas de dose foram detalhadamente estudadas através de simulações, que foram realizados considerando que tal sistema associado as características do AL terapêutico. Além disso, é proposto utilizar um método de redução de ruído por *wavelet* para aumentar o SNR das IXAs obtidas experimentalmente.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Características dos materiais e a fonte de raios X

Os materiais de interesse foram escolhidos de acordo com a absorção dos raios X, que é tabelada para cada material pelo coeficiente de transferência de energia em massa e coeficiente de absorção de energia em massa $\frac{\mu_{tr}}{\rho}$ e $\frac{\mu_{en}}{\rho}$. Essas grandezas são dadas em função da energia dos raios X e representam a energia média transferida considerando ou desprezando, a fração média de energia perdida por interações radioativas g , tais como *bremsstrahlung* (ATTIX, 2008).

$$\frac{\mu_{en}}{\rho} = \frac{\mu_{tr}}{\rho} (1 - g). \quad (13)$$

Sabe-se que a ocorrência do efeito raios X acústico está diretamente relacionada com a absorção de raios X, por isso considerou-se o coeficiente de absorção de energia em massa dos materiais: chumbo (Pb, $Z = 82$), a liga de cobre (Cu, $Z = 29$) e zinco (Zn, $Z = 30$) denominada latão, alumínio (Al, $Z = 13$) e de osso ($Z_{eff} = 13.8$) – (MANOHARA; HANAGODIMATH; GERWARD, 2011).

Em geral, todos os coeficientes de absorção em massa dos sólidos são maiores que o da água líquida, excetuando a faixa de sobreposição dos espectros entre os valores de 1,0 e 1,2 MeV.

A Figura 9(a) mostra o gráfico do coeficiente de absorção em massa em função da energia dos raios X para metais sólidos, osso cortical e da água líquida. Tais materiais foram utilizados nos experimentos e contemplaram os metais citados e osso de costela suína.

A Figura 9(b) mostra amostras cilíndricas que foram construídas para os experimentos e possuíam 10 mm em diâmetro e 40 mm em altura.

A Figura 9(c) mostra uma amostra que consiste de uma placa retangular de chumbo com 95 mm em largura, 20 mm em altura e 1,5 mm em espessura.

A Tabela 1 lista algumas propriedades físicas relevantes para o presente estudo, por exemplo, o parâmetro de Gruneisen. Além disso, massa específica e o número atômico ou número atômico efetivo estão relacionados com a absorção de radiação ionizante pelo material absorvedor (ATTIX, 2008).

Figura 9. Coeficiente de absorção em massa de Alumínio, Osso, Latão, Chumbo e Água, no intervalo de energia entre 0.001 e 20 MeV. (b) Ilustração dos cilindros de diferentes metais com diâmetro 10 mm e altura 40 mm e (c) da placa de chumbo com dimensões 20 x 1,5 x 95 mm³.

Tabela 1. Parâmetros termomecânicos dos materiais de interesse.

Material absorvedor	Número atômico / número atômico efetivo	Massa específica (g/cm ³)	Coefficiente de Gruneisen	Velocidade longitudinal (m/s)
Tecido mole	7,78*	1,08	0,7-0,9	1540
Sangue	7,61*	1,05	0,13	1575
Água	7,51*	1,00	0,11	1480
Osso	12,22*	1,90	0,75	4080
Acrílico	5,85*	1,18	0,38	2670
Alumínio	13	2,70	3,11	6420
Chumbo	82	11,34	3,17	2160
Cobre	29	8,68	2,92	3810
Zinco	30	7,00	2,06	4200
Latão [§]	29,3-32,2	8,40-8,70	2,75	4280

[§]Liga de zinco e cobre na proporção 30% e 70%, respectivamente. *Número atômico efetivo na média até 200 keV. Fonte: (YANG; LEICHNER; HAWKINS, 1987; HALLENBECK, 1994; KAYE; LABY, 1995; SHIVARAMU, 2002; YAO et al., 2014). Nota: valores a temperatura ambiente.

Em EBRT, os raios X terapêuticos são produzidos por diferentes modelos de AL, que são para tratamentos de câncer. Estes equipamentos provem de diferentes fabricantes e produzem raios X de alta energia (i.e., da ordem de dezenas de MeV), conformando (campos) regiões de raios X, que são administrados quase uniformemente na região delimitada e de forma pulsada. Os pulsos de raios X possuem duração nominal menor que $5 \mu s$ (KHAN, 2010).

A Figura 10(a) mostra a forma do pulso de raios X e sua duração para um AL terapêutico. Tais pulsos de raios X são entregues com período de repetição de pulso (PRP) da ordem de milissegundos (de 4,5 até 20 ms).

Outra característica dos ALs é o espectro poli energético de raios X da fonte primária, que varia de acordo com a configuração do aparelho. As configurações da energia dos ALs são determinadas pela sua megavoltagem, sendo 6 MV, 10 MV, 15 MV ou 20 MV as configurações mais comuns.

A Figura 10(b) mostra que o espectro de 6 MV proporciona fluência de fótons com pico de máxima fluência entre 1 e 2 MeV e praticamente nula em 6 MeV. Além disso, a energia mais provável e a energia média dos espectros são características que mudam para cada configuração de energia do AL e ainda é possível que o AL disponibilize a configuração *flattening-filter-free* (FFF), que altera as características energética e geométrica do campo de raios X.

Em geral, valores de energia média, $\langle E \rangle$ <MeV>, e energia mais provável, E_p <MeV>, apresentam pequenas variações entre fabricantes de AL (FOSTER; SPEISER; SOLBERG, 2014; SONTAG; STEINBERG, 1999).

Brualla e seus colaboradores (BRUALLA et al., 2019) apresentaram os valores de energia média e mais provável para um AL da fabricante Varian que permite configurações em 6, 10, 15 e 20 MV e disponibiliza em modo FFF as configurações de 6 e 10 MV. Estes valores são mostrados na Tabela 2.

Figura 10. Características do AL. (a) Um pulso de raios X de duração de $3,25 \mu\text{s}$ em função do tempo. (b) Espectros de energia gerada por um AL em diferentes configurações de 6, 10, 15 e 20 MV. Em pontilhado os espectros com FFF de 6 e 10 MV.

Fonte: adaptado de (BRUALLA et al., 2019; HICKLING; LEGER; NAQA, 2016).

Tabela 2. Configuração de energia do AL da Varian. Os valores característicos de energia mais provável e a energia média do espectro.

Configuração de energia do AL da Varian (MV)	Energia mais provável (MeV)	Energia média fornecida (MeV)
6	0,45	1,51
10	0,55	2,74
15	1,20	3,49
20	1,30	4,36
6-FFF	0,30	1,26
10-FFF	0,45	2,17

4.2.2. Estimativas de espectro da fonte primária de raios X de um acelerador linear.

Os espectros da fonte de raios X do AL precisam ser considerados para que os resultados das simulações pudessem ser aproximados das situações experimentais. Dessa forma, a IXA simulada considera um espectro de fluência de energia dos fótons absorvidos em profundidades em água de interesse, que inicialmente é obtido de um espectro obtido por uma solução analítica ou por meio de uma abordagem empírico-numérica.

Fippel e colaboradores (FIPPEL et al., 2003) obtiveram uma solução analítica, que é uma maneira simples de se obter uma probabilidade do espectro da fonte para produção primária de raios X do AL, p , em função da energia:

$$p(E)dE = NE^l \exp(-bE) dE, E_{min} \leq E \leq E_{m\acute{a}x}, \quad (14)$$

em que E_{min} é a energia mínima do espectro, E_{max} é a energia máxima do espectro, N é o fator de normalização e os parâmetros b e l são ajustados de acordo com a energia média fornecida $\langle E \rangle = \frac{l+1}{b}$ e a energia mais provável do espectro $E_p = \frac{l}{b}$.

Além do método analítico supracitado, foi utilizado o método uma abordagem empírico-numérico baseada em Monte Carlo (MC), algoritmo iterativo Cimmino (BLOCH et al., 2000) e a curva de porcentagem de dose profunda (PDP) do AL. Tais métodos foram combinados para obter a estimativa do espectro da fonte de raios X do AL.

De maneira que a PDP, $\mathbf{B}$, formam um sistema linear com PDPs mono energéticas (i.e., PDPs de 0,5 MeV até 15 MeV em passos de 0,5 MeV) geradas por simulações MC, $\mathbf{A}$, para resolver um sistema linear do tipo $\mathbf{A} s_{AL} = \mathbf{B}$. Esse sistema linear é então resolvido de forma iterativa para estimar o espectro do AL, s_{AL} . O critério de parada para o método consiste em considerar os valores de $\langle E \rangle$ e E_p , conforme listados na Tabela 2.

4.2.3. Cálculo de dose por pulso de raios X

A dosimetria é a medida da quantidade de dose fornecida por uma fonte radioativa e é estimada por técnicas que utilizam dosímetros capazes de medir essa quantidade de maneira relativa ou absoluta (JOHNS; CUNNINGHAM, 1983). Em EBRT, a fonte de radiação do AL se localiza no *gantry* e as práticas de dosimetria seguem o padrão do protocolo de determinação de dose de EBRT publicado no documento da Agencia Internacional de Energia Atômica TRS-398 (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2000). Este documento, descreve todo o procedimento de dosimetria de ALs. Definindo os dosímetros adequados para cada tipo e energia de feixe de raios X, além das condições de referência para as medidas. Com isso, consegue-se definir, para cada energia de feixe de raios X, a dose absorvida na água, na profundidade de máxima dose (D_{cal}), que é rotineiramente definida em 1 cGy/UM para a profundidade em água onde obtém-se a máxima dose nas condições de referência, d_{max} .

Por exemplo, em uma configuração típica mede-se a dose fornecida em uma distância da fonte até a superfície (SSD, *source surface distance*), considerando

o tamanho do campo de raios X, a profundidade em água do dosímetro até a superfície da água, configuração do AL e a taxa de dose de $\dot{D}$, que é dada em função de unidade monitora (UM) por minuto <UM/min>, respectivamente, 100 cm, 10x10 cm²; 1,5 cm; 6 MV; 200 UM/min.

Considerando o sinal XA como um método de dosimetria e suas características de ser gerado pela interação de cada pulso de raios X com o meio absorvedor, definiu-se a taxa de dose em função da frequência de repetição de pulso em Hertz (FRP), $\dot{D}_{FRP}$, em termos de unidade monitora por pulso:

$$\dot{D}_{FRP} = \frac{\dot{D}}{60 FRP}, \quad (15)$$

onde FRP é a frequência de repetição de pulso e $\dot{D}$ é a taxa de dose em UM/min.

Para se obter uma estimativa de dose fornecida em termos do número de pulsos, adapta-se o formalismo de cálculo de UM (KHAN, 2010) para estimar a dose fornecida por pulso. Por exemplo, quando é dada uma quantidade de pulsos para uma PDP na profundidade em água, d , calcula-se:

$$D_{FRP} = D_{cal} \left[\dot{D}_{FRP} \left(\frac{SSD_{cal} + d_{cal}}{f + d_{max}} \right)^2 \right] PDP(d) F(SSD_{cal}, d_{cal}, f, d) \quad (16)$$

onde D_{cal} é a dose de calibração na profundidade em água d_{cal} , SSD_{cal} é a distância fonte superfície da calibração, f é a distância fonte até a superfície, d_{max} é a profundidade de máxima dose e F é o fator de correção de Mayneord.

4.2.4. Sistema de detecção de sinal raios X acústico produzido por feixe de acelerador linear terapêutico utilizando equipamento de ultrassom por imagem

4.2.4.1. Aceleradores lineares

Os experimentos foram conduzidos usando três diferentes modelos de ALs provenientes de dois fabricantes. Enquanto A e B são fabricados pela Siemens e se encontravam no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, C é fabricado pela Varian e se encontrava no Hospital de Amor de Barretos. Tais ALs são listados a seguir, acompanhando informações de FRP e taxas de dose, na seguinte lista:

- A. AL (Oncor, Siemens Medical Solutions Inc., EUA) para fornecer feixes de raios X em 6 MV ou 15 MV. A frequência de repetição de

pulso é ~222 Hz. As taxas de dose usadas foram 300 UM/min e 500 UM/min para 6 MV e 15 MV, respectivamente.

B. AL (Primus, Siemens Medical Solutions Inc., Malvern, PA, EUA) para fornecer feixes de 6 MV, taxa de 200 UM/min e frequência de repetição de pulso de ~222 Hz

C. AL (TrueBeam, Varian Medical Systems Inc., CA, EUA) para fornecer feixes de 6 MV e 10 MV, taxa de dose de 400 até 1600 UM/min, com frequência de repetição de pulso variando entre 120 Hz e 360 Hz.

Os ALs estavam todos calibrados em água para entregar uma dose de 1 cGy/UM na distância de máxima dose $d_{máx} = 1,5$ cm em 6 MV / 10 MV (ou 3,0 cm em 15 MV) para SSD = 100 cm e um campo quadrado de 10 x 10 cm².

4.2.4.2. Ultrassom diagnóstico por imagem

O equipamento de US diagnóstico por imagem (Sonix RP, Ultrasonix, Canadá), que possui características de aquisição específicas listadas na Tabela 3, foi sincronizado com a emissão de pulsos de raios X pelo AL, adquirindo um sinal XA por pulso. O transdutor linear (L14-5/38, Ultrasonix, Canadá) é composto por 128 elementos piezelétricos que podem ser agrupados em até 32 canais. As características desse transdutor estão listadas na Tabela 4.

Tabela 3. Especificações do ultrassom diagnóstico por imagem

Equipamento US diagnóstico por imagem	Especificação
Modelo	Sonix RP
Transdutor	128-(Linear)
Canais (TX - transmissão)	128
Canais (RX - recepção)	32
Frequência de amostragem	40 MHz
ADC	10-bit
Memória de armazenamento	128 MB

Tabela 4. Especificações do transdutor linear multielementos.

Transdutor linear	Especificação
Modelo	L14-5/38
Elementos	128 Elementos
Largura de Banda	14-5 MHz
Frequência Central	7,2 MHz
Profundidade	20 mm até 90 mm
Raio	-
<i>Pitch</i>	0,30 mm
Abertura	-

Dessa forma, um sinal XA foi adquirido a cada pulso de raios X do AL, formando uma coluna na imagem, necessitando, por exemplo, 128 pulsos de raios X para formar uma imagem com FOV completo, uma vez que o transdutor utilizado possuía 128 elementos sensores.

Uma questão relevante sobre o transdutor linear que abordamos é sua resposta em frequência limitada, funcionando como um filtro limitador da banda de frequência do sinal XA. Uma metodologia que pode ser utilizada para obter empiricamente a resposta em frequência do transdutor. Tal metodologia consiste em colocar um objeto absorvedor com $\mu_a \gg \mu_{\text{água}}$ e de dimensão diminuta dentro de um tanque de água, em seguida, posiciona-se transdutor de forma que o objeto esteja no centro do FOV do transdutor. Por fim, direciona o feixe de luz para incidir sobre o objeto, gerando um sinal que pode ser aproxima a uma função impulso. A magnitude da transformada de Fourier do sinal é semelhante a resposta em frequência do ultrassom e transdutor diagnóstico por imagem.

A Figura 11 mostra a representação do sinal FA capturado pelo transdutor linear no experimento de resposta ao impulso. Além disso, a sua resposta em frequência é mostrada, apresentando pico de máxima magnitude em 4.1 MHz.

Figura 11. Sinal FA de um fio de cabelo em modo RF e magnitude da transformada de Fourier resultantes do método para obter a resposta em frequência do ultrassom e transdutor L14-5/38 diagnóstico por imagem

Essa aproximação é válida pois força a condição de resposta ao impulso, que é obtida utilizando um fio de cabelo posicionado em um tanque de água a 20 mm de distância da face do transdutor. Sabemos que a dimensão do fio de cabelo é diminuta ($<50\mu\text{m}$), no limite de resolução espacial do transdutor, assim o sinal FA que foi gerado por um pulso curto, de tal forma que as condições de confinamento de pressão e térmica são satisfeitas, tem uma banda frequência larga, compreendendo um número maior de frequências do que a banda de frequências do ultrassom e transdutor diagnóstico por imagem. Ao observar a magnitude da transformada de Fourier do sinal FA, todas as frequências detectáveis pelo ultrassom e transdutor diagnóstico por imagem estarão presentes.

4.2.4.3. Desenvolvimento de um software para aquisição dos sinais XA

Desenvolveu-se um sistema de aquisição de dados em modo radiofrequência (RF) pré-processados. Este sistema contemplou um equipamento de US diagnóstico por imagem (Sonix RP, Ultrasonix, Canadá), que vem sendo utilizado como plataforma de pesquisa em ultrassom (WILSON et al., 2006).

O US diagnóstico por imagem executa um *software* dedicado, que consiste de uma aplicação dotada de interface de pesquisa e aquisição previamente desenvolvida (SAMPAIO et al., 2016) com as bibliotecas Texo 5.7.4 (Ultrasonix, Canadá) em C++ e Qt (Digia, EUA) para ser executada diretamente na Sonix RP. Essa aplicação foi atualizada e adaptado para aquisição de dados de FA / XA, funcionando com o transdutor L14-5/38.

A vantagem de desenvolver uma aplicação para o sistema de US diagnóstico por imagem é a capacidade de programar o seu *font-end* analógico e o amplificar controlado por voltagem, permitindo ajustes dos amplificadores de baixo ruído, amplificadores e filtros passa baixa / passa alta. Tais amplificadores e filtros do equipamento de US foram ajustados para otimizar a aquisição de sinais FA / XA, de modo que os amplificadores de baixo ruído e de ganho programáveis foram ajustados para máxima amplificação e os filtros foram desligados.

Em modo FA / XA, cada sinal adquirido é uma soma de sinais adquiridos individualmente por elementos adjacentes do transdutor. Tal soma é programada pela aplicação em tempo real de modo que a sequência de aquisição de elementos adjacentes utilize número máximo de canais disponíveis. Considerando o transdutor

L14-5/38, a IFA / IXA com FOV cheio é formada repetindo aquisição da soma para cada um dos seus elementos.

Após a aquisição, os dados que estão na memória RAM são mostrados nas janelas de imagens. A imagem pulso-eco é mostrada no quadro da esquerda, enquanto a IFA / IXA é mostrada no quadro da direita. O quadro é um widget do Qt4, que utiliza o motor gráfico para que as imagens sejam mostradas a medida que elas vão se formando. De maneira mais específica, os dados que ficam armazenados na memória RAM oferecem precisão computacional *int16*, em seguida, a aplicação lança um *thread* para mostrar a imagem em um quadro gráfico do Qt4.

A Figura 12 mostra a interface gráfica destinada a interação de usuário com o US diagnóstico por imagem, oferecendo oportunidades de aquisição de dados e visualização de imagens em modo pulso-eco, FA e XA.

Figura 12. A interface gráfica da aplicação de aquisição de dados e formação de IFA ou IXA, que roda diretamente do equipamento de ultrassom diagnóstico por imagem.

4.2.5. Métodos de formação da imagem raios X acústica

O método de formação de imagens utilizado para reconstruir a IFA / IXA foi o método de atraso-e-soma (DAS do termo em inglês delay-and-sum) (PARK et al.,

2008). Na seção anterior, descrevemos que o sinal FA/XA capturado consiste de uma soma de sinais adquiridos de elementos adjacentes. Contudo, não mencionamos que, quando compensado o atraso causado pela geometria do transdutor, tal soma é conhecida e referenciada como o método DAS.

O sinal é amostrado com frequência de amostragem f_s , onde a amplitude em função do tempo é capturada por vários elementos adjacentes, tendo valor número variando entre $\pm s_j$ para cada j -ésimo elemento do transdutor.

Em seguida, definimos as duas dimensões da imagem, considerando que o sinal é amostrado em N pontos, cada ponto ao longo do eixo z é representado como:

$$z_i = \frac{N_i}{f_s} v_p, \quad (17)$$

onde v_p é a velocidade da onda FA (e.g., na água é de 1480 m/s), o índice inteiro positivo i e $\frac{1}{f_s}$ é igual ao inverso da frequência de amostragem.

Pode-se nomear o eixo z de eixo axial e, dessa forma, assumir que a resolução axial é $\Delta z = \frac{1}{f_s} v_p$ e os limites axiais estão entre $\left[0, \frac{N}{f_s} v_p\right]$.

Quanto a segunda dimensão pode-se nomear o eixo x como lateral. Nesse caso a posição de um elemento do transdutor linear de tamanho M é dada de acordo com o índice inteiro j de cada elemento:

$$x_j = \Delta x M_j, \quad (18)$$

onde Δx é a distância física entre o elemento de índice inteiro j e $j \pm 1$ e é numericamente igual a um *pitch* do transdutor.

Por exemplo, assumindo $f_s = 40$ MHz, obtém-se a resolução axial e lateral em $37 \mu m$ e $0,3$ mm, respectivamente. Nota-se que na ausência de técnicas avançadas de formação de imagens os valores de resolução lateral e o *pitch* são numericamente iguais.

Para uma imagem, I_{img} , $N \times M$, formada com o método DAS aplicado por 32 elementos adjacentes, o sinal da posição axial x_j com o índice $j = j_c$ tem amplitude $I_{j_c}^{32}$ tal que $j \in [j_c - 15, j_c + 16]$ e $I_j^{32} = \sum_{j_c-15}^{j_c+16} P_j I_j(\Delta t_j)$, sendo sua amplitude dada pela soma dos sinais capturados ao redor de x_{j_c} compensados do atrasado $\Delta t_j =$

$v_p \Delta x_j \cos \theta_j$, sendo θ_j o ângulo formado entre o eixo axial de x_{jc} e os elementos adjacentes j . Além disso, P_j é uma função de apodização, por exemplo, que tem forma de uma função Gaussiana, Hamming ou Hanning.

Uma aplicação de formação e análise foi desenvolvida em MATLAB para reconstruir imagens a partir dos dados que foram salvos no disco rígido do equipamento de US diagnóstico por imagem e transferidos para o PC. Nos experimentos, o método DAS foi aplicado para 32 elementos, resultando em uma abertura de aproximadamente 1,0 cm com apodização do tipo Hamming e velocidade base de 1480 m/s.

4.2.6. Simulação de imagem raios X acústica

A simulação das IXAs considerou o espectro primário da fonte de raios X proveniente do AL e as condições experimentais, combinando a interação de raios X em megavoltagem (SARDARI et al., 2010; SEMP AU et al., 1997) com os materiais de interesse, conforme listados anteriormente na seção 4.2.1.

Os resultados numéricos foram obtidos por meio de soluções analíticas (CYWIAK et al., 2013) para estudos de emissão de ondas XA e também por método de simulação com o código aberto k-Wave, que foi utilizado para detecção de sinais XA e formação de IXAs (TREEBY; COX, 2010).

As simulações por método MC utilizaram dois códigos GATE e PENELOPE. Os resultados relacionados com o uso do GATE foram obtidos em parceria com o aluno de doutorado em Física Aplicada a Medicina e Biologia M.Sc. André Augusto de Farias Martins. De forma sucinta, o GATE que é uma interface que engloba o toolkit MC Geant4, que é escrito em C/C++ e contempla paradigma de orientação a objetos para sua programação. Além disso, é um software de código aberto desenvolvido especificamente para simulação no campo da física de partículas de alta energia e é capaz de modelar geometrias em movimento, por exemplo, os feixes externos usados em tratamento de radioterapia (SARDARI et al., 2010).

As simulações MC que utilizaram o PENELOPE foram realizadas em colaboração com a residente em radioterapia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto M.Sc. Carolina Cariolatto Yaly. Trata-se de um código fonte MC, escrito em FORTRAN, que vem sendo utilizado desde o final da década de noventa para simulações de transporte de elétrons-fótons em meios materiais (SEMP AU et al.,

1997). PENELOPE e GATE são utilizados para modelar a propagação de raios X e estudar os espectros das fontes de raios X dos ALs (BRUALLA et al., 2019).

A amplitude da onda XA é proporcional à absorção de raios X por um dado material de coeficiente de absorção em massa, conforme a Equação (11). Considerando raios X de espectro de fluência conhecido incidindo em um material de interesse que está imerso em água, o cálculo da pressão inicial, p_0 , da onda XA foi obtido através do desenvolvimento do trabalho de (CYWIAK et al., 2013), que consideram as dimensões do material (meio absorvedor) e duração do pulso de raios X, oferecendo uma solução unidimensional para a Equação (12).

O cálculo da pressão inicial foi modificado para compreender o âmbito da dosimetria em termos da compressibilidade volumétrica κ , o coeficiente de expansão volumétrica β , a capacidade térmica C_p , o coeficiente de absorção em massa μ_{en}/ρ_m e a fluência de energia entregue ao material:

$$p_0 = \frac{\beta\kappa}{C_p} (\mu_{en}/\rho)_m \Psi_0 . \quad (19)$$

Pode-se notar que a Equação (19) é exclusiva para absorção de raios X, removendo a parte da energia que é perdida por interações da radiação com o meio do tipo *bremsstrahlung*, que não contribui para o efeito XA. Além disso, essas grandezas fundamentais dependem da energia em sua forma integral em termos da fluência de energia de um espectro poli energético entregue a um dado material $\psi(E)$:

$$p_0 = \frac{\beta\kappa}{C_p} \int [\mu_{en}(E')/\rho]_m \psi(E') dE' . \quad (20)$$

As estimativas de dose foram calculadas considerando o equilíbrio das partículas carregadas (KHAN, 2010). Dessa forma, a energia absorvida é proporcional à dose em um volume de um material homogêneo com coeficiente de absorção em massa conhecido e, portanto, pode-se calcular a estimativa de dose avaliando a integral em (20) ou uma aproximação através do produto $(\mu_{en}/\rho)_m \Psi_0$ em (19) (MA; LI, 2011).

O k-Wave é um código aberto para simulação de propagação de ondas acústicas (TREEBY; COX, 2010), que é escrito em MATLAB (MathWorks Inc.) dentro do paradigma orientado a objetos. Este código foi utilizado para resolver o problema

de propagação das ondas XA variantes no tempo por meio do método do espaço k (pseudo-espectral). Contudo, o método do espaço k parte de um valor de amplitude inicial, portanto valores numéricos obtidos através da Equação (20) foram utilizados como parâmetro de entrada para a simulação da propagação de ondas acústicas.

Ainda se faz necessário levar em consideração a ausência do confinamento de pressão, dessa forma, fez-se necessário o método da convolução para estimar a leitura do transdutor com largura de banda finita após detectar o sinal XA. Primeiramente, o resultado da simulação foi convoluido com uma função pulso de duração de $3,25 \mu s$ (ver Figura 10) que representa a irradiação e, em seguida, foi convoluido com a resposta em frequência do transdutor (ver Figura 11) para obter o sinal XA, s_{sim}

$$s_{sim}(t) = \mathcal{F}^{-1}\{[S_{sim}(\omega j) \Theta(\omega j)] P_0(\omega j)\}, \quad (21)$$

onde $S_{sim}(\omega j)$ é a transformada de Fourier do sinal XA simulado, $\Theta(\omega j)$ é a transformada de Fourier da função de irradiação e $P_0(\omega j)$ é a resposta em frequência do transdutor ultrassônico.

4.2.7. Redução de ruído da imagem raios X acústica

As IXAs geradas experimentalmente foram submetidas a uma rotina de processamento de sinal para aumentar a relação sinal ruído (SNR). Este procedimento consistiu em caracterizar o ruído eletrônico gerado pelo AL e US diagnóstico por imagem.

A caracterização foi feita adquirindo o ruído eletrônico de um FOV, enquanto o AL não irradiava a região de interesse, com o equipamento de US com a configuração de aquisição dos sinais XA. Tal aquisição resulta em imagens do ruído eletrônico esperado durante os experimentos.

Durante a aquisição as imagens não possuem nível de processamento, sendo dados em modo RF, que são degradados pelo ruído eletrônico. Uma forma de melhorar o SNR é computar médias de imagens, que são aplicadas para aumentar o SNR por um fator de $\sqrt{n}$, onde n é número de aquisições consecutivas. Além disso, a imagem de ruído eletrônico é subtraída da imagem em modo RF. Por fim, foi aplicado um método de redução de ruído baseado em *wavelets*.

A transformada de *wavelet* consiste no uso de *wavelets* ortogonais, que são funções matemáticas quadrado integráveis de representação no domínio do tempo, para decompor um dado sinal em coeficientes de escala, onde coeficientes que se relacionam com ruído tem amplitude menor amplitude do que os coeficientes que se relacionam com o sinal. Uma característica relevante da transformada de *wavelet* é manter a localização temporal do sinal de interesse. Assim, o cálculo da transformada de *wavelet* foi utilizado para eliminar os coeficientes relacionados com o ruído e depois foi possível reconstruir um sinal com o SNR aumento por meio da transformada inversa. Em termos da FA, a transformada de *wavelet* já foi aplicada como método para redução de ruído aditivo e aprimoramento do SNR (REN; LIU; XIONG, 2016), preservando partes importantes do sinal ou imagem, enquanto remove o ruído.

O método de redução de ruído da IXA é baseado em um limiar de corte para eliminar os coeficientes de escala que se identificam com o ruído. Tal limiar foi escolhido de maneira empírica, considerando a menor redução obtida do pico de máxima amplitude do sinal XA. A implementação foi desenvolvida com o *Wavelet Toolbox* (MATLAB, MathWorks), que foi aplicado escolhendo a função *wavelet* de Daubechies para o índice 2 e nível 4 e com um limiar de corte 25% maior que o valor da amplitude do ruído de fundo da IXA.

4.2.8. Análise da imagem raios X acústica

A análise das IXAs consistiu em utilizar uma região de interesse de área igual 1,5 mm² que foi utilizada enquadrando um alvo com uma região de interesse (ROI_T) que contém o pico de máxima amplitude da IXA. As estatísticas calculadas por meio da análise da ROI_T considera os dez valores de maior amplitude para calcular o SNR da imagem (SNR-I), que consiste na relação das estatísticas $(\bar{T} - \bar{b})/\sigma_b$, onde $\bar{T}$ é a média dentro de ROI_T, $\bar{b}$ é a média de uma região de ruído de fundo (ROI_B), e σ_b é o desvio padrão de ROI_B. Além disso, a razão entre o desvio padrão e a média de uma região de ruído de fundo é o coeficiente de variação (CV), $\frac{\sigma_b}{\bar{b}}$, que pode ser entendido como uma medida de controle da instrumentação e está relacionado exclusivamente com o nível de ruído fundo. Como critério de qualidade, considerou-se uma IXA possível para análise se o valor numérico de SNR-I fosse maior ou igual a cinco ($\text{SNR-I} \geq 5$), este valor é conhecido como critério de Rose (BUSHBERG et al.,

2011), podendo ser utilizado para diferenciar um sinal de uma região de interesse do ruído de fundo.

4.3. Estimativas de dose por imagem raios X acústica, experimento com placa de chumbo em diferentes profundidades em água

4.3.1. Simulação

Considerando o espectro poli energético do AL-A configurado para 6 MV e pulso de raios X definido com duração de $3,25 \mu s$. Foi simulada a situação experimental da placa de chumbo em diferentes profundidades em água, onde o AL irradiava a superfície de um tanque de acrílico que continha água a $24^\circ C$. Dentro do tanque, havia uma placa de chumbo de dimensões $20 \times 1,5 \times 95 \text{ mm}^3$, posicionada sobre o eixo central do *gantry*. O tanque de acrílico foi simulado com espessura de 3 mm e dimensões de $60 \times 60 \times 60 \text{ cm}^3$. O campo de raios X foi definido como sendo retangular de dimensões $10 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ na superfície externa do tanque. Foi definida a distância entre a fonte e a superfície do tanque em 55 cm e a distância de 3 cm entre o transdutor virtual e a extremidade superior da placa de chumbo, que foi simulada de forma que sua superfície de maior área fosse paralela ao campo de raios X.

Foram simulados os casos em que placa estava posicionada nas profundidades em água (d na Figura 13) de 5 cm, 10 cm e 20 cm. A profundidade em água é definida como a distância entre a superfície interna do tanque e a superfície da placa de chumbo. Embora o transdutor virtual esteja indicado na ilustração, este não foi incluído na simulação MC, pois não era irradiado, sendo considerado somente na simulação com o k-Wave.

A Figura 13 mostra a ilustração de um tanque de acrílico contendo água a temperatura de $24^\circ C$ e, em seu interior, uma placa de chumbo é posicionada a uma distância d da superfície do tanque que está sendo irradiada pelo AL, que está posicionado a uma distância de 55 cm da superfície do tanque. Tal situação experimental foi simulada com o GATE e k-Wave.

Figura 13. Ilustração do experimento simulado utilizando a ferramenta GATE para simular a deposição de dose na placa de chumbo e k-Wave, para simular a propagação das ondas acústicas dentro do tanque.

4.3.2. Experimento

Considerando o AL-A e US diagnóstico por imagem, foi conduzido um experimento, no qual uma placa de chumbo foi imersa em um tanque de acrílico, de dimensões $40 \times 40 \times 30 \text{ cm}^3$ e paredes de espessura em 3 mm, que continha água a 24° C . A placa de chumbo foi posicionada com um suporte feito de acrílico, que manteve a face que contem os elementos sensores do transdutor e a extremidade da placa de chumbo a uma distância de 3 cm. Tal suporte permitia que a placa e o transdutor fossem alinhados em dois arranjos distintos: perpendicular e paralelo em referência a dimensão de maior comprimento do transdutor.

A placa de chumbo foi confeccionada com as dimensões $20 \times 1,5 \times 95 \text{ mm}^3$, estando a superfície com área de $94,5 \times 20,3 \text{ mm}$, de frente para a superfície irradiada do tanque. O tanque foi colocado a uma distância de 55 cm do *gantry* do AL-A, estando o mesmo posicionado em 90° . Em seguida, foram realizadas irradiações sucessivas para aquisições de dados nas profundidades em água de $d = 5 \text{ cm}$, $d = 10 \text{ cm}$ e $d = 20 \text{ cm}$, que foram repetidas alternando a energia dos raios X do AL de 6 MV para 15 MV.

A Figura 14 mostra o sistema de detecção e formação de IXA, que foi desenvolvido combinando um computador pessoal (PC), equipamento comercial de ultrassom por imagem (SONIX RP), um sincronizador de pulso (SINC.) e o AL terapêutico, que será referenciado pelo seu *gantry*.

Figura 14. Ilustração do sistema de detecção e formação de IXA e do aparato experimental utilizado para obter imagens da placa de chumbo.

A Figura 15(a) mostra a ilustração do posicionamento do transdutor e da placa de chumbo nos arranjos perpendicular e paralelo, enquanto a Figura 15(b) ilustra o campo de raios X irradiando a placa de chumbo de acordo com as três medidas realizadas, que consistiram em variar a profundidade em água para as posições 5, 10 e 20 cm.

Figura 15. (a) Ilustração do posicionamento do transdutor em relação a placa de chumbo. (b) Ilustração das profundidades em água, que são medidas da superfície do tanque e foram alternadas entre cada irradiação.

4.3.3. Resultados e discussão

A Figura 16(a) mostra o espectro do AL para a configuração de 6 MV, que foi obtido através da Equação (14) com os parâmetros de energia em MeV: $\langle E \rangle = 1,51$; $E_{\min} = 0,25$ e $E_{\max} = 20$ e a razão entre os parâmetros do modelo, $l/b = E_p = 0,45$.

A Figura 16(b) mostra a PDP normalizada em 5 cm de profundidade em água para a configuração de 6 MV, enquanto a Figura 16(c) compara a energia absorvida no plano xz pela placa de chumbo nas profundidades em água de 5 cm, 10 cm e 20 cm. O plano xz corresponde ao sistema de referência como mostrado na Figura 15(a) e consiste na face de maior área da placa de chumbo.

Considerando o espectro virtual do AL, três simulações distintas foram realizadas, nas quais a placa de chumbo foi transladada para profundidades em água diferentes. O valor médio de energia absorvida ao longo do plano xz é proporcional à dose absorvida, que é apresentada normalizada em 5 cm de profundidade em água para proporcionar comparação.

A Figura 16(d) mostra a dose normalizada ao longo do eixo y na placa de chumbo, indicando que a energia absorvida reduziu ao longo de sua extensão de 1,5 mm. A redução percentual da dose normalizada ao longo da profundidade em água é semelhante a redução percentual da PDP, apresentando diferença percentual de no máximo 3%.

Figura 16. Considerando (a) o espectro do AL em 6 MV para obter a (b) PDP indicando as profundidades em água de 05, 10 e 20 cm. Em (c), observa-se a energia absorvida normalizada pelo valor máximo da face de maior área do plano xz em 05 cm de profundidade em água, enquanto em (d) mostra-se um gráfico da energia absorvida ao longo do eixo y dentro da placa de chumbo.

A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(a) mostra o sinal XA obtido por meio da simulação com o k-Wave, onde se considerou a pressão inicial como sendo proporcional a dose normalizada em 05 cm, conforme a Figura 16(d). Nessa imagem **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(a), o eixo x representa os elementos de um transdutor virtual com as mesmas dimensões que o transdutor linear usado nos experimentos.

A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(b) mostra o sinal XA obtido por meio da simulação com o k-Wave, quando se considera a banda limitada do transdutor linear usado nos experimentos. Observa-se que o padrão de modulação de baixa frequência é filtrado pela resposta em frequência do transdutor linear. Essas imagens da **Erro! Autoreferência de indicador não válida.** mostram os resultados para o arranjo em paralelo, conforme a Figura 15(a).

As Figura 17. Imagem dos sinais XA detectados por um transdutor ultrassônico (a) virtual ideal (sem limitação de banda de frequências) e (b) realístico com banda limitada. Arranjo em paralelo como da Figura 15(a).

Figura 18(a) e Figura 17. Imagem dos sinais XA detectados por um transdutor ultrassônico (a) virtual ideal (sem limitação de banda de frequências) e (b) realístico com banda limitada. Arranjo em paralelo como da Figura 15(a).

Figura 18(b) mostram os resultados numéricos de maneira similar as Figuras 17(a) e 17(b), mudando a simulação para considerar o arranjo perpendicular, conforme a Figura 15(a). Observa-se que o padrão de reverberação não é intenso como o padrão observado na A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(a) mostra o sinal XA obtido por meio da simulação com o k-Wave, onde se considerou a pressão inicial como sendo proporcional a dose normalizada em 05 cm, conforme a Figura 16(d). Nessa imagem **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(a), o eixo x representa os elementos de um transdutor virtual com as mesmas dimensões que o transdutor linear usado nos experimentos.

A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(b) mostra o sinal XA obtido por meio da simulação com o k-Wave, quando se considera a banda limitada do transdutor linear usado nos experimentos. Observa-se que o padrão de modulação de baixa frequência é filtrado pela resposta em frequência do transdutor linear. Essas imagens da **Erro! Autoreferência de indicador não válida.** mostram os resultados para o arranjo em paralelo, conforme a Figura 15(a).

(a), resultando em um sinal XA centralizado na posição da interface entre a água e o chumbo.

A Figura 19(a) mostra uma janela de $10 \mu s$ do sinal XA em função do tempo, tal sinal é proveniente da interface água/chumbo. É possível observar a redução do valor do pico de máxima amplitude para as profundidades em água de 05 cm, 10 cm e 20 cm. Além disso, nota-se a diferença de tempo de 3,25 microssegundos entre dois picos de máxima amplitude consecutivos, tal diferença de tempo corresponde ao tempo de duração do pulso de raios X.

A Figura 19(b) mostra um gráfico de amplitude do sinal XA em função do aumento da profundidade em água, comparando os valores de amplitude para arranjos perpendicular e paralelo, conforme a Figura 15(a).

Figura 17. Imagem dos sinais XA detectados por um transdutor ultrassônico (a) virtual ideal (sem limitação de banda de frequências) e (b) realístico com banda limitada. Arranjo em paralelo como da Figura 15(a).

Figura 18. Imagem dos sinais XA detectados por um transdutor ultrassônico (a) virtual ideal (sem limitação de banda de frequências) e (b) realístico com banda limitada. Arranjo perpendicular como da Figura 15(a).

Figura 19. (a) Sinal XA comparando a amplitude nas profundidades em água de 05, 10 e 20 cm. (b) Relação de amplitude dos sinais XA normalizada em 05 cm e o aumento da profundidade em água.

A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(a) mostra duas IXAs simuladas lado a lado, à esquerda se observa a XIA formada dos sinais XA simulados para o arranjo perpendicular e à direita para o arranjo paralelo.

A **Erro! Autoreferência de indicador não válida.**(b) mostra uma janela temporal de $6 \mu s$ correspondente a um corte axial da IXA de aproximadamente 9,3 mm, tal corte contempla uma região da IXA em que o sinal XA apresente um pico de máxima amplitude que é localizado na interface água/chumbo.

Figura 20. (a) A comparação entre as IXA para o arranjo perpendicular e paralelo como da Figura 15(a). Em (b), o perfil do sinal obtido a partir da IXA da placa de chumbo, apresentando diminuição de amplitude em maiores profundidades em água.

Considerando as configurações possíveis do AL-A de 6 MV e 15 MV, a taxa de dose é de 300 UM/minuto e 500 UM/minuto, respectivamente, foram calculados os valores de $\dot{D}_{FRP}$ por meio da Equação (15), resultando em $22,5 \times 10^{-3}$ e $37,5 \times 10^{-3}$ UM por pulso para 6 MV e 15 MV, respectivamente.

A Figura 21(a) mostra as curvas de PDPs do AL-A que são apresentadas normalizadas em pelo valor em uma profundidade em água de 5 cm da PDP de 6 MV, enquanto a Figura 21(b) mostra os valores de D_{FRP} , que foram calculados com a Equação (16) para os valores de D_{cal} e da PDP em $d_{max} = 1,5$ cm e $f = 55$ cm.

Figura 21. (a) PDP e (b) D_{FRP} para a configuração de 6 MV e 15 MV.

As Figura 22(a) e 22(b) mostram imagens obtidas em pulso-eco e XA, no arranjo perpendicular e paralelo, respectivamente. À esquerda uma imagem em modo-B e à direita lado a lado duas IXAs em 6 MV. As IXAs são formadas considerando a média de 70 imagens em modo RF, após formada, a IXA de um mesmo arranjo é submetida ao método de redução de ruído.

Figura 22. A comparação entre as imagens modo-B e IXA em 6 MV para o arranjo (a) perpendicular e (b) paralelo em uma profundidade em água de 5 cm.

Para obter a IXA média mostrada nas imagens supracitadas são necessários 8960 pulsos de irradiação, pois se tratam de 70 médias de imagens que são formadas por 128 elementos adjacentes (Figura 22).

Considerando 70 irradiações com um campo de tamanho 10x10 cm² operando em 6 MV, são fornecidas $\approx 1,58$ UM. Para essa mesma quantidade de unidades monitoras, calculou-se o SNR-I antes e depois da aplicação do método de redução de ruído. Nessas condições, a dose fornecida nas profundidades em água de

5, 10 e 20 cm foram calculadas e os valores SNR-I antes e depois do método de redução de ruído foram de $17,9 \pm 1,0$ e $42,8 \pm 2,5$, respectivamente, para o arranjo paralelo, enquanto o SNR-I foi de $20,9 \pm 1,7$ e $53,6 \pm 3,4$ para o arranjo perpendicular. Os valores de SNR-I em função da dose fornecida para as configurações de 6 MV e 15 MV do AL são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. SNR-I em função da dose fornecida em cada profundidade em água.

Configuração do AL	Profundidade em água (cm)	Dose (mGy)	SNR-I	SNR-I (após redução de ruído)
6 MV	5	47,2	20,9	53,6
	10	39,3	18,0	46,3
	20	25,8	13,8	39,1
15 MV	5	82,4	26,0	63,6
	10	70,8	21,5	52,3
	20	52,1	18,3	46,6

A Figura 23(a) mostra uma janela temporal de $6 \mu\text{s}$ de uma linha de interesse da IXA em 6 MV onde está contido pico de máxima amplitude do sinal XA da interface água chumbo. Os valores de amplitude normalizada são relativos à normalização pelo pico de máxima amplitude do sinal XA obtido com a placa de chumbo na posição perpendicular em 5 cm de profundidade em água. Além disso, a energia do AL foi alternada de 6 MV para 15 MV para cada mudança na profundidade em água.

A Figura 23(b) mostra a amplitude normalizada do sinal XA em função da profundidade em água para as energias de 6 MV e 15 MV. Comparando-se as amplitudes normalizadas em diferentes profundidades em água, observa-se um aumento do pico de máxima amplitude para menores profundidades. Além disso, todos os sinais XA apresentaram o intervalo de tempo entre os picos de $3,15 \mu\text{s}$, que se mostrou corresponde à duração do pulso de raios X. Enquanto que ao aumentar da energia do AL, observa-se um aumento na amplitude.

Figura 23. (a) Perfil do sinal XA obtido a partir da IXA da placa de chumbo, apresentando diminuição de amplitude normalizada em maiores profundidades em água. (b) Comparação entre as amplitudes normalizadas dos sinais XA obtidas com diferentes energias.

Foram determinadas distâncias: Δd_1 é a variação de profundidade em água de 5 cm, entre 5 cm e 10 cm de profundidade em água, e Δd_2 é a variação de profundidade em água 15 cm, entre as posições 5 cm e 20 cm de profundidade em água, conforme a Figura 15(b), que ilustra as posições da placa do chumbo em profundidade em água que foram adotadas durante o experimento.

Considerando os valores de D_{FRP} mostrados no gráfico na Figura 21(b), a diferença percentual de redução da dose fornecida após Δd_1 foi de 18,2% (06 MV) e 15,1% (15 MV) e 58,6% (06 MV) e 45,0% (15 MV) para Δd_2 .

Considerando as variações de profundidade em água $\Delta d_1 = 5$ cm e $\Delta d_2 = 15$ cm, calculou-se a diferença percentual da amplitude normalizada dos sinais XA, estes valores são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Diferença percentual da amplitude normalizada do sinal XA para 6 MV e 15 MV.

Variação da distância em água	06 MV	15 MV
5 cm (Δd_1)	19,1%	24,3%
15 cm (Δd_2)	41,8%	38,5%

A Figura 24(a) mostra um gráfico da amplitude normalizada do sinal, que foi obtido de uma IXA média de 30 imagens, em função da dose fornecida para 6 MV e 15 MV, permanecendo a placa de chumbo na profundidade em água de 5 cm. Cada valor do gráfico da Figura 24(b) mostra a amplitude acumulada do sinal XA, representando a soma cumulativa da amplitude normalizada do gráfico da Figura 24(a). Além disso, o coeficiente angular do ajuste linear representa a resposta XA por

dose fornecida. Esse resultado corresponde a respostas diferentes em termos da energia do AL, indicando dependência energética no sinal XA. Para 6 MV, o valor do coeficiente angular foi de $1,5 \text{ mGy}^{-1}$, enquanto o valor do coeficiente angular para 15 MV foi de $1,0 \text{ mGy}^{-1}$.

Figura 24. (a) amplitude normalizada e (b) amplitude normalizada acumulada da IXA em função da dose fornecida, permanecendo a placa de chumbo em 5 cm de profundidade em água.

A Figura 25 mostra o gráfico de amplitude normalizada em função da dose fornecida em 5, 10 e 15 cm de profundidade em água, comparando os experimentos e a simulação.

Figura 25. Comparação entre a amplitude normalizada dos sinais XA obtidos experimentalmente e através de simulação numérica em função da dose fornecida.

Hickling e seus colaboradores (HICKLING; LEGER; NAQA, 2016) observaram que a amplitude do sinal XA diminui à medida que a profundidade em água aumentava, e quando se aumentou a energia do AL a amplitude do sinal XA aumentou, neste caso o aumento em da taxa de dose por pulso acompanhou o aumento da dose fornecida assim como em (XIANG et al., 2013). Com o sistema de

formação de IXA observamos experimentalmente a redução da amplitude do sinal XA com o aumento da profundidade em água e o aumento da amplitude do sinal XA com o aumento da energia do feixe de raios X do AL, que está relacionada com o aumento da dose fornecida.

Os resultados numéricos que foram obtidos por meio de métodos analíticos e simulações de k-Wave e GATE se mostraram suficientes para estudar o sinal XA, obtendo concordância com resultados experimentais de formação de imagens, que apresentaram o mesmo padrão de localização espacial dos sinais, excetuando a atenuação do sinal dentro do placa de chumbo. Pois, não foi possível simular a atenuação do ultrassom dentro dos metais, já que tal coeficiente de atenuação é cerca de 10 mil vezes maior que o coeficiente de atenuação do ultrassom na da água, que é utilizado como parâmetro de referência da malha de simulação. Assim, em termos computacionais, precisaríamos de uma variável com a precisão maior que quatro pontos flutuantes, aumentando drasticamente o tempo computacional necessário para obter as imagens simuladas. Nosso método, sustenta a precisão simples da malha computacional, que foi mantida condicionando a atenuação do ultrassom dentro do chumbo com um valor de 100 vezes o coeficiente de atenuação da água, evitando a divergência da lei de potência de Kramers-Kronig.

A análise da amplitude do sinal XA considerou dez pontos ao redor do pico de máxima amplitude do sinal XA dentro de uma região de interesse da IXA. Tal método é sensível a redução percentual da amplitude do sinal XA, que foi de aproximadamente 19%, enquanto a redução esperada era de aproximadamente 18% para $\Delta d_1 = 5$ cm de profundidade em água em 6 MV, enquanto a redução percentual para 15 MV foi de aproximadamente 24% quando o esperado era de aproximadamente 19%, resultando em um erro absoluto de 1% para 6 MV e 5% para 15 MV.

A IXA em 6 MV obtida de uma média de 30 IXAs tem SNR-I de 13,1, que é obtida fornecendo $\approx 0,67$ UM, ou seja, dose fornecida de 20,2 mGy (em 6 MV) ou 35,8 mGy (em 15 MV). Após aplicarmos o método de redução de ruído, o SNR-I aumentou para 32,3; sendo 6 vezes maior que o critério de Rose ($\text{SNR-I} \geq 5$). O aumento do SNR-I que foi obtido não causou deformações na forma do sinal XA ou reduziu a sensibilidade da IXA.

4.4. Estimativas de dose por imagem raios X acústica, experimento com cilindros de alumínio, osso, latão e chumbo.

4.4.1. Simulação

Simulou-se as condições do experimento para obtenção de IXAs de cilindros de alumínio, latão, chumbo e osso nas profundidades em água de 1,5; 2,5 e 5,0 cm. Considerou-se o espectro poli energético de um AL operando em 6 MV, tendo duração de pulso de irradiação de $3,25 \mu s$ e irradiando a superfície de um tanque feito de acrílico, que continha água a temperatura de $24^{\circ}C$ e cilindros com altura de 40 mm e diâmetro de 10 mm. O tanque de acrílico foi simulado com dimensões de $80 \times 80 \times 80 \text{ cm}^3$ e o campo de raios X foi definido como sendo quadrado de dimensões 10 cm x 10 cm na superfície da água. Foi definida a SSD de 100 cm. Em termos do FOV da IXA, foi definida a distância da extremidade do campo de radiação até a face do transdutor em 2 cm e a distância entre extremidade do cilindro e o transdutor foi definida em 5 cm.

4.4.2. Experimento

A Figura 26(a) mostra uma ilustrações do experimento para formação de IXA, o mesmo sistema de detecção e formação do experimento anterior (Figura 14) foi configurado com o *gantry* a uma SSD de 100 cm. O tanque de dimensões $80 \times 40 \times 20 \text{ mm}^3$ foi preenchido com volume de água controlado para obter as profundidades em água de 1,5; 2,5 e 5,0 cm e o cilindro foi colocado dentro do tanque de água, alinhando o eixo do cilindro para coincidir com o eixo central do campo. Por fim, o sistema de detecacao de sinais XA foi configurado da mesma forma do experimento anterior, excetuando o a substituição do AL-A pelo AL-B e AL-C.

A Figura 26(b) mostra o FOV do transdutor linear como foi posicionado para adquirir IXAs. Observa-se que o cilindro foi posicionado de forma a obter sinais de diferentes materiais de interesse a uma distância de 5 cm e o sinal das bordas do campo de raios X a uma distância de 1 cm.

Figura 26. (a) Ilustração do sistema de detecção e formação de IXA e do aparato experimental para obter imagens de cilindros posicionados em profundidades em água de 1,5; 2,5 e 5,0 cm. Em (b), o transdutor linear como estava posicionado para realizar o experimento é ilustrado, mostrando as posições do campo de raios X e o FOV.

4.4.3. Resultados e discussão

Os resultados numéricos foram obtidos utilizando o código MC PENELOPE, com o qual se obteve um conjunto de curvas PDP mono energéticas para serem utilizadas como entrada do método empírico-numérico Cimmino de extração de espectro do AL. Tal método ainda considera PDP do AL, que é obtida pelo serviço de radioterapia, durante o procedimento de calibração do AL.

A Figura 27(a) mostra um conjunto de curvas PDP mono energéticas variando a energia do feixe de 0,5 até 15 MeV, que foram normalizadas na distância de máxima dose.

A Figura 27(b) mostra o resultado do método Cimmino, trata-se de um espectro da fonte de Raios X do AL. Este resultado foi obtido de maneira iterativa, considerando as condições de parada $\langle E \rangle = 1,51$ MeV com tolerância de 0,25 MeV.

Figura 27. (a) Conjunto de PDP mono - energéticas de 0,5 a 15 MeV. (b) Espectro de 6 MV do AL obtido de maneira iterativa com o algoritmo Cimmino. Dados: $\langle E \rangle = 1,51$.

Com o espectro da fonte de Raios X mostrado na Figura 27(b), uma nova simulação MC é realizada para obtenção de uma PDP. Essa PDP que foi obtida por método empírico-numérico foi denominada de PDP Cimmino, sendo semelhante a PDP do AL, que é obtida por procedimento de calibração do serviço de radioterapia.

A Figura 28(a) mostra um gráfico que contem as curvas PDP obtidas de três formas distintas, sendo as curvas PDP do serviço de radioterapia, Cimmino e a MC de 1,5 MeV. Nesse gráfico é mostrado que os resultados do método Cimmino possuem erro percentual menor que 1% nas profundidades em água de interesse, entre 10 até 50 mm.

A Figura 28(b) mostra o erro calculado das curvas PDPs obtidas pelo método Cimmino e MC de 1,5 MeV com a PDP do serviço. Esse gráfico mostra que as profundidades em água em que o erro é maior que 1% são profundidades em que ocorre alto gradiente de dose, porém considerando os tratamentos de radioterapia por feixe externo, essas profundidades são conhecidas como região de *build up*, onde não se faz planejamento de tratamento (KHAN, 2010).

Figura 28. (a) A PDP obtida pelo método Cimmino e MC de 1,5 MeV são comparadas com a PDP do serviço de radioterapia. (b) O erro da PDP Cimmino é menor que 1% para as profundidades em água de interesse, ou seja, entre 10 mm e 50 mm.

Considerando a Equação (20) para calcular a dose absorvida em diferentes profundidades em água, foi realizada simulação MC para obter o espectro de fluência de energia, colocando detectores ao redor das posições de interesse na malha de simulação.

A Figura 29(a) mostra uma representação 2D da malha de simulação MC, onde são posicionados detectores de fluência de fótons, que são formados por uma

matriz de detecção de tamanho 3 x 3. Tais detectores foram posicionados na região de borda do campo de raios X (água) e na região onde se encontrava o cilindro de um dado material de interesse. O resultado da detecção é uma curva média calculada a partir das nove curvas de fluência de energia, uma para cada índice da matriz de detecção, que foram obtidas.

A Figura 29(b) mostra as curvas médias de fluência de energia em uma profundidade em água de 15 mm (profundidade de máxima dose) para todos os materiais de interesse, enquanto a Figura 29(c) mostra estas mesmas curvas para uma profundidade em água de 50 mm.

Figura 29. (a) Posição dos detectores na malha da simulação MC e a curva de fluência de energia média calculada para os materiais de interesse em 15 mm e 50 mm de profundidade em água.

Os valores de dose absorvida na profundidade de máxima dose ($d = 15$ mm) foram calculados, resultando em 0,15 mGy; 0,13 mGy; 0,14 mGy; 0,13 mGy e 0,20 mGy na água, alumínio, osso, latão e chumbo, respectivamente, enquanto, os valores de dose foram 0,13 mGy; 0,11 mGy; 0,12 mGy; 0,10 mGy e 0,17 mGy para $d = 50$ mm.

Os resultados anteriores mostram os métodos numéricos para obter a dose absorvida nas mesmas condições experimentais de formação de IXA. Contudo, ainda existe a possibilidade de variação das características do AL. Essas características refletem na amplitude do sinal XA, que podem ser obtidas por meio da solução analítica da equação de onda FA (ver Equação (19)) proposta por Cywiak e seus colaboradores (CYWIAK et al., 2013), que considera o tamanho da amostra L , duração do pulso de irradiação τ_l e a amplitude inicial p_0 . Essa equação foi adaptada para atender aos parâmetros relevantes da formação de IXA, conforme:

$$\begin{aligned}
 p(z, t) = \frac{p_0}{2} \Theta(t) \{ & \exp \left[-\mu_{en} v_p \left(t - \frac{z}{v_p} \right) \right. \\
 & + \left(\frac{\mu_{en} v_p \tau_l}{4} \right)^2 \left. \right] P_-(z, t) + \exp \left[\mu_{en} v_p \left(t + \frac{z}{v_p} \right) \right. \\
 & + \left(\frac{\mu_{en} v_p \tau_l}{4} \right)^2 \left. \right] P_+(z, t) \} \quad (22)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 P_{\pm}(z, t) = \pm \left\{ \operatorname{erf} \left[\frac{2}{\tau_l} \left(t \pm \frac{z}{v_p} \right) \pm \frac{\mu_{en} v_p \tau_l}{4} \pm \frac{2L}{v_p \tau_l} \right] \right. \\
 \left. - \operatorname{erf} \left[\frac{2}{\tau_l} \left(t \pm \frac{z}{v_p} \right) \pm \frac{\mu_{en} v_p \tau_l}{4} \right] \right\}
 \end{aligned}$$

A Equação (22) é uma solução unidimensional para a equação de onda XA, que foi utilizada para estudar teoricamente as variações da amplitude do sinal XA em função de τ_l e L , onde t é o tempo, z é a distância axial de um detector que observa a onda XA, no qual $z = 0$ é a origem, μ_{en} é coeficiente de absorção em massa dos raios X multiplicado pela massa específica dos materiais de interesse.

Considerando $z = -60$ mm (distância entre o ponto de observação), $v_p = 1480$ m/s e que o cilindro de chumbo foi posicionado em uma profundidade em água de 15 mm foram obtidos os resultados mostrados na Figura 30.

A Figura 30(a) mostra a forma da onda XA obtida para o cilindro chumbo com diâmetro $L = 10$ mm em função do valor da duração do pulso de irradiação para o intervalo de $1 \leq \tau_l \leq 5 \mu s$. Observa-se que a amplitude do sinal XA apresenta redução a medida em que se aumenta o valor da duração do pulso de irradiação, acompanhando a mudança da forma da onda XA.

A Figura 30(b) mostra a forma da onda XA obtida para diferentes diâmetros do material no intervalo de $0,1 \leq L \leq 20$ mm e mantendo fixo o valor de duração do pulso de irradiação em $\tau_l = 3,25 \mu s$. Observa-se que para um valor de $L > 10$ mm não há mudanças no valor da máxima amplitude da onda XA, por outro lado quando $L < 10$ mm existe uma redução no valor de sua amplitude.

A Figura 30(c) mostra as variações da máxima amplitude para diferentes diâmetros do material de interesse no intervalo de $0,1 \leq L \leq 20$ mm em função da duração do pulso de irradiação no intervalo de $1 \leq \tau_l \leq 5 \mu s$. Observa-se que se a duração do pulso de irradiação é aumentada de 1 até $5 \mu s$ ocorre uma redução de aproximadamente 5% da máxima amplitude da onda XA para o diâmetro da amostra de $L = 10$ mm. Essa diminuição é maior se o diâmetro da amostra reduz de 10 mm para 0,5 mm.

Considerando possível que haja uma variação entre a duração do pulso de irradiação entre os AL-B e AL-C, sendo os valores nominais de 2 até $5 \mu s$ (KHAN, 2010), os resultados mostraram que se os experimentos fossem realizados com cilindros de diâmetro igual a 10 mm, não haveriam reduções significativas na amplitude do sinal XA decorrentes de possíveis variações na duração do pulso de irradiação. Além disso, sendo $L = 10$ mm, não há incompatibilidade com o FOV do transdutor linear que seria utilizado nos experimentos, este transdutor ostenta um FOV de aproximadamente 40 mm.

A Figura 31(a) mostra a onda XA com $\tau_l = 3,25 \mu s$ para alumínio, osso, latão e chumbo com diâmetro $L = 10$ mm e a água líquida com diâmetro $L = 100$ mm, considerando uma profundidade em água de 15 mm. Observa-se que a máxima amplitude da onda XA é sensível a características termomecânicas dos materiais de interesse, enquanto na Figura 31(b), a dose absorvida é mostrada ao lado da amplitude normalizada do chumbo, que foi 60% maior do que o valor obtido para o latão e foi aproximadamente 80% maior do que o alumínio.

Figura 30. (a) Resultados numéricos obtidos para diferentes durações de pulsos de irradiação quando $L = 10$ mm. Em (b), vários diâmetros de uma amostra de chumbo considerando $\tau_l = 3,25 \mu s$. (c) Máxima amplitude em função de τ_l para diferentes valores de L . Observa-se uma linha vertical tracejada indicando os valores de máxima amplitude para τ_l de $3,25 \mu s$.

Figura 31. (a) Forma da onda XA para diferentes materiais de interesse quando $L = 10$ mm e $\tau_l = 3,25 \mu s$. Em (b), a máxima amplitude é normalizada pelo chumbo e é comparada com a dose absorvida para cilindros em uma profundidade em água de 15 mm.

Considerando os resultados numéricos supracitados, que indicam que o cilindro de 10 mm de diâmetro seria indicado para nossos experimentos, foram obtidas IXAs com o k-Wave. Tais simulações consideram o diâmetro do cilindro em $L = 10$ mm, a convolução da função pulso de irradiação correspondente a duração do pulso do AL e uma segunda convolução da resposta em frequência do transdutor linear para obter o mapa de sinais XA, que por fim foram processados com o DAS para formar a IXA.

A Figura 32(a) mostra a forma da onda XA obtida com o k-Wave, após a convolução com a função pulso de período $\tau_l = 3,25 \mu s$, considerando os valores de p_0 como sendo a amplitude da onda XA para os materiais de interesse. Neste gráfico, a primeira seta está indicando o instante de tempo decorrido até que a chegada da

onda XA proveniente do gradiente de dose em água, enquanto a segunda seta está indicando o tempo decorrido até a chegada da onda XA proveniente da interface entre o material e a água.

A Figura 32(b) mostra as formas dos envelopes dos sinais XA capturados pelo transdutor linear do US diagnóstico por imagem para os cilindros de osso e o chumbo, que são mostrados em uma janela temporal dentro do intervalo de tempo de 29 e 34 μs , a amplitude está normalizada pela máxima amplitude do envelope do sinal XA do chumbo.

Figura 32. Resultados numéricos com o k-Wave. (a) Ondas XA simuladas para diferentes materiais, indicando por setas os instantes de tempo referentes aos transientes de pressão provenientes do gradiente de dose na água e da interface do material em água. Em (b), os envelopes dos sinais XA capturados pelo transdutor linear do US diagnóstico por imagem são mostrados normalizados pelo pico de máxima amplitude do chumbo.

Observa-se dos resultados 1D que a sensibilidade do sinal XA ao material se matem com o k-Wave, portanto, em seguida, foram realizaas simulações 2D para obter IXA. Tais IXAs foram simuladas posicionando a borda do campo de raios X a uma distância de 10 mm da face do transdutor (localizada na posição de origem do eixo axial) e o cilindro a uma distância de 50 mm.

As simulações foram esquematizadas conforme ilustrado na Figura 26, sendo adotada a profundidade em água $d = 15$ mm. Em todas as IXAs mostradas na Figura 33 é possível observar o sinal XA proveniente do gradiente de dose em água na distância no eixo axial de 10 mm, sendo a amplitude de cada IXA normalizada pelo valor da máxima amplitude da IXA obtida do cilindro de chumbo.

A Figura 33(a) e 33(b) mostram as IXAs simuladas de um cilindro de chumbo e de osso suíno que preparado em formato cilíndrico, enquanto a Figura 33(c) mostra a IXA simulada de três cilindros: alumínio, latão e chumbo, que foram posicionados lado a lado nas posições -15 mm, 0 mm e 15 mm do eixo lateral, respectivamente.

Figura 33. IXAs simuladas de (a) um cilindro de chumbo, (b) um osso de suíno em formato cilíndrico e (c) três cilindros de alumínio (lateral = -15 mm), latão (lateral = 0 mm) e chumbo (lateral = 15 mm), dispostos lado a lado.

Durante as experiências para obter a IXA experimentalmente, os cilindros estavam posicionados alinhados com eixo de simetria do campo de raios X e em uma profundidade em água de 1,5 cm. Essa profundidade em água foi gradualmente aumentada despejando água até a próxima profundidade em água à temperatura ambiente. Ainda, o *gantry* do AL-B estava posicionado em $SSD = 100$ cm com a taxa de dose de 200 UM/min, fornecendo dose em água de 0,15 mGy por pulso.

A Figura 34(a) mostra a IXA em 6 MV para o cilindro de chumbo, enquanto a Figura 34(b) mostra a IXA em 6 MV para o osso. Essas imagens consistem de uma média de 70 IXAs.

As Figura 35(a) e Figura 35(b) mostram as IXAs para o chumbo e o osso depois de aplicar o método de redução de ruído. Observa-se nas imagens mostradas

que o método de redução de ruído parte de um valor médio, que é obtido tomando a média da amplitude do ruído de fundo indicada pelo quadrado azul denominado de ROI_B , este valor foi utilizado para obter o limiar de corte, que foi definido como sendo 25% maior que a amplitude em ROI_B . Além disso, empiricamente, verificou-se que quando aplicada a *wavelet* de Daubechies do índice 2, tanto a localização quanto a máxima amplitude da IXA foi preservada, sendo, portanto, uma escolha apropriada para reduzir o ruído da IXA, não perdendo a sensibilidade a dose ou sua localização espacial.

Figura 34. IXA em 6 MV de (a) um cilindro de chumbo e (b) um osso de suíno.

Figura 35. Resultado da aplicação do método de redução de ruído na IXA em 6 MV de (a) um cilindro de chumbo e (b) um osso de suíno.

As Figura 36(a) e Figura 36(b) mostram a forma do envelope do sinal XA sobrepondo o sinal em modo RF, mostrando o pico de máxima amplitude para o experimento com o cilindro de chumbo e osso, respectivamente. Esse detalhamento, mostra que o método de redução de ruído não é necessário para análise do sinal XA do chumbo, contudo é essencial para análise da amplitude do sinal XA do osso.

Figura 36. Amplitude normalizada do envelope do sinal XA sobrepondo o modo RF. (a) chumbo e (b) osso.

A Figura 37 mostra uma comparação entre os perfis laterais obtidos das IXAs simuladas e experimentais. A Figura 37(a) mostra os perfis laterais simulados do cilindro de chumbo e do osso, enquanto na Figura 37(b) observa-se os perfis laterais experimentais antes e depois da aplicação do método de redução de ruído.

Figura 37. Perfis laterais de um cilindro de chumbo e um osso de suíno em formato cilíndrico (a) simulado e (b) experimental, onde as linhas finas são obtidas antes de proceder com o método de redução de ruído.

Considerando a comparação entre os resultados experimentais e simulados, pode-se observar que o perfil lateral da IXA simulada é similar ao perfil lateral da IXA experimental.

A Figura 38(a) mostra a IXA de 6 MV para os cilindros de alumínio, latão e chumbo, que foram posicionados lado a lado nas posições -15 mm, 0 mm e 15 mm do eixo lateral, respectivamente. Neste experimento, foi possível visualizar as posições dos cilindros assim como a resposta XA de diferentes materiais em um mesmo FOV. Além disso, observa-se que o método de redução de ruído pôde ser aplicado mesmo com mais de alvo, podendo a análise proceder com mais de uma região de interesse na IXA, como pode ser observado na Figura 38(b).

Figura 38. IXA de cilindros de alumínio, latão e chumbo dispostos lado a lado (a) antes e (b) depois de aplicar o método de redução de ruído.

Foi realizada a análise do SNR-I para cada uma das IXAs, onde foi selecionada uma região de interesse ao redor do pico de máxima amplitude na IXA. Essa região é indicada nas IXAs por um quadrado verde denominado ROI_T , que é de mesmo tamanho da outra região que compreende o ruído de fundo e é indicada por ROI_B – ver Figura 35(a). Os valores SNR-I antes e depois da aplicação do método de redução de ruído, dose e material foram obtidos, conforme listado na Tabela 7.

Tabela 7. SNR-I em função da dose fornecida para cada material.

Configuração do AL	Material do cilindro	Dose (mGy)	SNR-I	SNR-I (redução de ruído)
6 MV	Alumínio	9,1	8,6	32,8
	Chumbo	12,6	13,8	41,5
	Latão§	9,8	9,3	33,8
	Osso	9,1	4,6	11,6

As amplitudes normalizadas das IXAs para chumbo e osso foram de $1,00 \pm 0,13$ e $0,24 \pm 0,04$. Os valores de SNR-I antes do método de redução de ruído para o chumbo e o osso foram de $13,8 \pm 0,4$ e $4,6 \pm 0,6$, respectivamente, e depois da aplicação do método de redução de ruído, os valores de SNR-I foram de $41,5 \pm 1,0$ e $11,6 \pm 0,8$; obtendo-se valores de SNR-I acima do critério de Rose. Também foram calculados valores de amplitude e SNR-I para alumínio $0,36 \pm 0,05$ e SNR-I = $32,8 \pm 0,9$ ($8,6 \pm 0,4$) e latão $0,58 \pm 0,06$ (SNR-I = $33,8 \pm 0,8$ ($9,3 \pm 0,6$)).

A Figura 39(a) e 39(b) mostram a amplitude normalizada do sinal XA e a soma cumulativa da amplitude normalizada do sinal XA, respectivamente, que foram simuladas para os materiais de interesse em uma profundidade em água de 15 mm.

A Figura 40(a) e Figura 40(b) mostram a amplitude normalizada do sinal XA e a soma cumulativa da amplitude normalizada do sinal XA, que foram adquiridas experimentalmente para os materiais de interesse em uma profundidade em água de 15 mm.

Observa-se que a amplitude acumulada do sinal XA em função da dose normalizada exibe resposta linear ao longo de 70 irradiações consecutivas, como podemos observar na Figura 40(b) da mesma forma observada nas simulações, como podemos observar na Figura 39(b).

Figura 39. Gráfico da análise das IXAs simuladas. (a) Amplitude normalizada do sinal XA e (b) amplitude acumulada do sinal XA para diferentes materiais de interesse em função da dose normalizada para cilindros em uma profundidade em água de 15 mm.

Figura 40. Gráficos da análise das IXAs em 6 MV. (a) Amplitude normalizada do sinal XA e (b) amplitude acumulada do sinal XA para diferentes materiais de interesse em função da dose normalizada para cilindros em uma profundidade em água de 1,5 cm.

Os resultados da análise das IXAs simuladas e experimentais foram comparados por meio de regressão linear. Os valores de amplitude acumulada, mostrados nas Figura 39(b) e Figura 40(b), foram submetidos a um ajuste linear, o qual forneceu o coeficiente angular, que representa a resposta XA à dose nos materiais de interesse.

Da análise das IXAs simuladas, os valores do coeficiente angular obtidos foram de 0,32; 0,16; 0,62; 1,00 e 0,005 para alumínio, osso, latão e chumbo e água líquida, respectivamente, enquanto das IXAs experimentais os valores obtidos foram de 0,45; 0,33; 0,68 e 0,99 para alumínio, osso, latão e chumbo, respectivamente.

Os resultados da análise das IXAs experimentais obtidas com o AL-B foram comparadas com as IXAs obtidas com o AL-C. Tal comparação foi realizada considerando o AL-B com as mesmas configurações anteriormente descritas e AL-C configurado em 6 MV com uma taxa de dose de 400 UM/min. Para estas configurações o AL-C fornecia 0,55 mGy por pulso de raios X em uma profundidade em água de 1,5 cm.

A Figura 41 mostra um gráfico da amplitude do sinal XA em função da profundidade em água para os materiais de interesse, alumínio, latão e chumbo, comparando os resultados obtidos com AL-B e AL-C. Nesse gráfico a amplitude do sinal XA foi normalizada pela máxima amplitude do sinal XA obtida em $d_{max} = 1,5$ cm.

Figura 41. Amplitudes normalizadas dos sinais XA obtidos de alumínio, latão e chumbo em função da profundidade em água. Os valores estão normalizados em d_{max} . Linhas sólidas com marcadores quadrados se referem ao AL-B, enquanto linhas pontilhadas e “x” ao AL-C.

Observou-se uma considerável diferença entre os ruídos de fundo das IXAs obtidas entre o AL-B e AL-C. Considerando os valores obtidos em ROI_B , o coeficiente de variância para o AL-B e AL-C foi de $CV_B = 0,23$ e o $CV_C = 0,31$, resultando em uma diferença percentual de 30%,. Tal resultado indica que o AL-C apresentou ruído maior que o AL-B para formação de IXA. Contudo, apesar da diferença no CV entre AL-B e AL-C, a amplitude do sinal XA para diferentes materiais se mostrou reprodutível, conforme Figura 41.

Quanto a análise da redução da amplitude do sinal XA a partir da profundidade em água de máxima dose $d_{max} = 15$ mm até uma profundidade de 50 mm, foi observado que o chumbo apresenta uma redução menor na amplitude do sinal XA, quando comparada a redução do sinal XA obtido para o latão e o alumínio.

Considerando a IXA de um cilindro de chumbo e definindo uma profundidade em água de 50mm, observou-se o efeito da variação da taxa de dose, que pode ser realizada por meio da configuração do AL-C para as taxas de dose de 400 UM/min, 600 UM/min, e 1200 UM/min em 6 MV em modo *flattening-filter-free* (FFF). Nessas condições, foram obtidos os valores de SNR-I em $10,8 \pm 1,4$; $11,4 \pm 1,3$ e $12,2 \pm 1,5$, respectivamente. Além disso, para uma mesma taxa de dose foram alternadas as configurações de energia de 6 MV a 600 UM/min (PRF = 176 Hz) para 10 MV a 600 UM/min (PRF = 360 Hz), obtendo-se os valores de SNR-I de $9,5 \pm 1,6$ e $10,6 \pm 1,6$, respectivamente.

Os trabalhos anteriores investigaram XACT para introduzi-las no ambiente de EBRT (HICKLING; LEGER; NAQA, 2016; KIM et al., 2017; GIZA et al., 2019). No entanto, esses estudos não se aplicaram em mostrar a capacidade e limitações de formar IXAs para um equipamento de US diagnóstico por imagem com transdutores lineares. Neste estudo, investigamos a viabilidade de formar IXAs de amostras de diferentes materiais (metais e ossos) por algoritmo DAS aplicado aos sinais XA que foram adquiridos em modo RF e, em seguida, processados com o método de redução de ruído por *wavelet* para melhorar as SNR-I. Os resultados mostraram que é possível formar IXAs com equipamento de US diagnóstico por imagem e transdutores lineares, permitindo analisar a relação entre a resposta da amplitude da IXA e a dose absorvida. Contudo nosso sistema não foi capaz de detectar os sinais XA provenientes de dose absorvida em água.

Por meio de estudo numérico, as IXAs simuladas forneceram sinais detectáveis em duas condições, uma delas ocorre nas bordas do campo de raios X da EBRT, onde ocorre um gradiente de dose na água e a outra foi obtida na interface de um material de interesse m e água w , onde $[\mu_{en}/\rho]_m > [\mu_{en}/\rho]_w$. Ambas as condições foram observadas através de simulações com o software k-Wave, mostrando que a IXA oferece o mesmo potencial de viabilidade da XACT como foi mostrado em Hickling e seus colaboradores (HICKLING; LEGER; NAQA, 2016).

Os resultados numéricos mostrados tem intuito de estudar as características do sistema de formação de IXAs. No que diz respeito ao AL, algumas configurações causam distorções, principalmente na duração do pulso entre diferentes ALs (ou seja, 1 a 5 μ s). O nosso estudo teórico mostrou que para estruturas de dimensão de 10 mm pode ocorrer a redução de pelo menos 5% da pressão inicial da onda XA quando ocorre variação da duração do pulso de raios X. Contudo, considerando objetos absorvedores de dimensão inferior 10 mm, a variação pode ser de aproximadamente 50% para objetos de dimensão da ordem de 1 mm.

Considerando a amplitude do sinal XA sendo relacionado ao coeficiente de absorção de massa de raios X, que apresenta maior contraste entre os materiais analisados em energias mais baixas [<1 MeV], ver Figura 9, pode-se considerar que uma contribuição significativa dos fótons de energia entre 0,4 – 1,0 MeV para a amplitude do sinal XA, como consequência da integral da Equação (20) e variações de fluência na profundidade da água [por exemplo, $d = 50$ mm]. De acordo com (Garcia

et al 1988), a chance consideravelmente maior de fótons com energia abaixo de 1 MeV para induzir fotoelétrons é responsável por gerar o calor que produz as ondas de pressão. Além disso, a fluência de fótons de baixa energia é maior à medida que a profundidade em água aumenta, reduzindo a diminuição da amplitude para materiais semelhantes ao chumbo.

As IXAs das simulações mostraram estar de acordo em termos de localização espacial, concordando com IXAs experimentais. As respostas a dose obtidas da análise das IXAs por simulações foram comparadas com as respostas a dose das IXAs experimentais por meio do cálculo do coeficiente angular do ajuste linear do gráfico da amplitude acumulada em função da dose (Figura 39 e Figura 40). As diferenças entre os valores de coeficiente angular experimental e numérico podem estar relacionadas a sensibilidade do sistema, pois as maiores diferenças foram observadas nos sinais XA de menores amplitudes. Além disso, essa análise considerou o mínimo necessário de 30 imagens obtidas para que a IXA do osso (menor SNR-I) tivesse valores de SNR-I próximo ao Critério Rose, que considera a imagem com $SNR-I < 5$ como sendo não viável para análise. Em seguida, o método de redução de ruído por *wavelet* foi aplicado aumentando os valores de SNR-I, favorecendo a análise da IXA.

Nosso sistema foi capaz de formar IXAs de materiais como metais e osso em profundidades em água até 5 cm. A resposta à dose em função da profundidade da água para alumínio, latão e chumbo não dependiam da variação da taxa de dose entre AL-B e AL-C, como pode-se observar na Figura 41. Ainda, considerando o a IXA do chumbo nas diferentes configurações de taxa de dose do AL-C 400, 600 e 1200 UM/min, os resultados também indicaram que independente da taxa de dose o AL fornece a mesma quantidade de dose por pulso, mas dependem da configuração 6 MV e 10 MV do AL-C, que para 600 UM/min, foi detectada uma diferença de aproximadamente 10% no SNR-I.

O sistema de formação de IXA que foi desenvolvido se mostrou incapaz de obter os sinais do gradiente de dose na água, que não eram distinguíveis do ruído de fundo em nenhum dos experimentos realizados.

Algumas limitações em nosso sistema devem ser superadas em trabalhos futuros, por exemplo, a incapacidade de obter sinais do gradiente de dose na água. Além disso, a sensibilidade do sistema para o osso, que é um material de interesse,

obteve o menor SNR-I, apresentando amplitude XA próxima a amplitude do ruído de fundo. Para resolver esse problema, amplificadores de baixo ruído, modificando o hardware do equipamento de US, e transdutores lineares com respostas maiores para menores frequências poderiam ser utilizados, facilitando a aquisição de sinais XA de materiais de interesse como a água.

4.5. Conclusões

Os estudos para formação de IXA investigaram métodos de estimar a dose depositada através da análise da IXA que foi obtida utilizando um aparelho de US e um transdutor linear diagnóstico por imagem para capturar os sinais XA e método de atraso e soma para formar as IXAs. Em seguida, as IXAs foram analisadas verificando que a amplitude do sinal XA é proporcional à dose depositada, contudo a medida que o SNR-I chegava próximo de 5 (critério de Rose) a análise era inconclusiva. Tal limitação foi superada, pois foi desenvolvido um método de redução de ruído baseado em *wavelets*, mostrando a importância de métodos que aumentem o SNR-I da IXA para obter estimativas de dose. No estado em que se encontra nosso sistema de formação de IXAs não pode ser utilizado no ambiente de EBRT, assim futuros estudos buscaram aprimorar o sistema desenvolvido para que seja possível propor sua utilização em EBRT.

5. Formação de imagens fotoacústicas por laser

5.1. Tecidos biológicos

O coeficiente de absorção μ_a é a característica óptica dos cromóforos endógenos e dos agentes de contraste exógenos mais relevante para formação de IFAs, pois é diretamente proporcional à amplitude do sinal FA. Para um dado comprimento de onda óptico, o formalismo matemático para obter o coeficiente de absorção, μ_a , é obtido por meio da definição da transmitância, que é relação entre os fótons com energia radiante, E , que incidiram e que foram transmitidos ao atravessar o absorvedor durante o caminho óptico L :

$$T = \frac{E_t}{E_i}, \quad (23)$$

$$\mu_a = -\frac{1}{T} \frac{\partial T}{\partial L}, \quad (24)$$

onde $\partial T/T$ <adimensional> é a fração de energia transmitida pela variação do caminho óptico infinitesimal percorrido ∂L <cm>.

Assim, o decaimento da intensidade óptica é exponencial e depende de μ_a ou, em base 10, da concentração molar C <M> e do coeficiente de extinção molar ε <1/cm M>, além da dependência com o caminho percorrido:

$$T = e^{-\mu_a L} = 10^{-\varepsilon CL}, \quad (25)$$

onde L <cm> é o caminho óptico percorrido pelos fótons. Assim, por definição da lei de Beer-Lambert, a absorbância, $A = \varepsilon CL$.

Aplicando-se o logaritmo Neperiano, obtém-se a relação do coeficiente de absorção óptico em termos da concentração do cromóforo endógeno. A propósito, acrescenta-se que os tecidos biológicos são complexos, apresentando o coeficiente de absorção como o somatório do produto das concentrações e extinções molares dos i -ésimos cromóforos endógenos presentes:

$$\mu_a = \ln(10) \sum_i C_i \varepsilon_i. \quad (26)$$

Steven L Jacques (JACQUES, 2013) publicou uma revisão das propriedades ópticas dos tecidos biológicos, apresentando os resultados de estudos que mediram o coeficiente de absorção de alguns dos cromóforos endógenos como melanina, sangue, água e gordura.

De maneira mais específica, o coeficiente de absorção do sangue é apresentado em termos da hemoglobina na forma HbO₂ e Hb para uma faixa de comprimentos de onda entre 200 nm e 1000 nm, como pode-se observar na Figura 42.

Em FA, os valores de absorção da Hb e HbO₂ são analisados em torno de 750 nm até 850 nm e no ponto isobéstico 800 nm. Essas diferenças de absorção entre Hb e HbO₂ são utilizados para estimar SO₂ por FA (LAUFER; ZHANG; BEARD, 2007). Além disso, observa-se o μ_a da água líquida e gordura. Ambos os coeficientes de água e gordura crescem à medida que nos aproximamos do IR-próximo e, em alguns casos, são indistinguíveis, por exemplo, entre 0,1 e 0,2 cm⁻¹, conforme é apresentado no gráfico de coeficiente de absorção versus comprimento de onda, em 930 nm.

O coeficiente de absorção óptica do tecido biológico é composto pela soma dos coeficientes dos seus cromóforos e depende da concentração de água, sangue e outros cromóforos. Assim, genericamente, pode-se modelar qualquer tecido biológico pela soma ponderada dos vários cromóforos de interesse. Consideram-se, por exemplo, as proporções de hemoglobina oxigenada (S); fração de sangue no volume (B); água (W); gordura (F), melanina (M) para determinar a seguinte formula:

$$\begin{aligned} \mu_{a.tecido} \approx BS\mu_{a.oxi} + B(1 - S)\mu_{a.deoxi} + W\mu_{a.água} \\ + F\mu_{a.gordura} + M\mu_{a.melanina} \end{aligned} \quad (27)$$

Baseado neste modelo, o coeficiente de absorção pode ser avaliado considerando B = 0.002, S = 0.75, considerando o tecido com a proporção entre água e gordura de 70%, desconsiderando a base fibrosa que possui baixa absorção óptica.

Figura 42. Gráficos do coeficiente de absorção do sangue oxigenado e desoxigenado, água e gordura

Fonte: (PAVAN; CARNEIRO; EMELIANOV, 2012)

Do ponto de vista físico-químico, a FA quantitativa (COX; LAUFER; BEARD, 2009) reflete, a concentração em termos do coeficiente de absorção óptica e as características de microestruturas dos tecidos também podem refletir em mudanças do espectro de frequências acústicas contidas nos sinais FA gerados no tecido de interesse. Por exemplo, durante o tempo de coagulação, a absorção óptica varia à medida que o sangue se transforma em coágulo, podendo ser utilizada para estagio de coágulos (KARPIOUK et al., 2008; BISWAS et al., 2017).

Analizando IFAs é possível medir níveis de oxigenação de tecidos, isso se dá por meio de estimativas locais do valor de SO₂, sendo correlacionado com a hipóxia dos tecidos, que é um promissor biomarcador para o câncer.

A medida de SO₂ é suscetível a perdas de acurácia determinadas por mudanças locais de fluência de luz, causadas pelas características ópticas dos tecidos. Mitcham et al. (MITCHAM et al., 2017) mostram os erros das medidas de SO₂ por meio de IFAs e o quanto a acurácia melhora se aplicados métodos de correção de fluência, concluindo a importância de utilizar método de correção de fluência local nas IFAs. Dada a relevância SO₂, buscou-se aprimorar estimativa de SO₂ nos tecidos por meio de métodos de análise e remoção do ruído de IFAs.

Além disso, o contraste intrínseco do tecido de interesse na IFA é complementado por meio do uso de agentes de contraste, entre os quais nanopartículas de ouro vêm sendo utilizadas, fornecendo melhor qualidade de contraste nas IFAs. Além disso, entre os novos agentes de contraste, estão os corantes *indocyanine green* (ICG) encapsulados em lipossomos, constituindo o Lipo-JICG, que são partículas diferenciadas, pois combinam materiais aprovados para uso clínico e apresentam características de espectro diferenciáveis dos espectros de Hb e HbO₂ por meio da análise de IFAs. Beziere et al. (BEZIERE et al., 2015) mostram que o Lipo-JICG é uma alternativa a partículas metálicas para IFAs aumentando a sensibilidade das IFAs para medidas de vascularização de tumores em roedores.

5.2. Máscara de limiar de ruído para aprimorar estimativas de saturação de oxigênio por imagem fotoacústica.

5.2.1. Introdução

Alguns equipamentos de FA já disponíveis para uso pré-clínico são capazes de gerar IFAs, fornecendo contraste óptico com resolução espacial da imagem US diagnóstico por imagem (BEARD, 2011). Normalmente, o laser pulsado fornece a iluminação óptica, que é acoplada por meio de fibras óticas a um transdutor de US diagnóstico por imagem.

A IFA é formada aplicando técnicas de formação de feixe acústico (PARK et al., 2008), de tal forma que muitas aplicações há fluxo de fótons suficiente para gerar o sinal FA em profundidades da ordem de centímetros. Em seguida, devido a sua baixa atenuação nos tecidos, o sinal FA é capturado em profundidades de interesse que excedem as modalidades de imagem puramente ópticas, como a tomografia de coerência óptica (KODACH et al., 2010; WANG et al., 2016).

A IFA com múltiplos comprimentos de onda avalia de maneira não invasiva a concentração de diversos cromóforos componentes do tecido biológico, sendo estes classificados como endógenos e exógenos como a hemoglobina e nanopartículas. Por meio da combinação desses cromóforos, atributos clinicamente relevantes como o SO₂ são analisados para obter correlações com a micro vascularização e hipóxia de tumores, que podem ser utilizadas para acompanhar tratamentos de câncer como EBRT (WANG; YAO, 2016; RICH; SESHADRI, 2016).

Devido ao uso de um transdutor de US diagnóstico por imagem, é comum adquirir imagens de US pulso-eco (por exemplo, modo-B) co-registradas espacialmente IFAs para fornecer contexto anatômico sobreposto pelo mapa de SO_2 (BOUCHARD; SAHIN; EMELIANOV, 2014; MITCHAM et al., 2017).

Embora ofereça maior profundidade do que imagens provenientes de técnicas puramente ópticas, a IFA ainda tende a ser limitada para muitas aplicações, principalmente como resultado da atenuação significativa da fluência de fótons em distâncias relativamente curtas (isto é, ordem em mm); a atenuação óptica é pelo menos uma ordem de grandeza maior que a atenuação acústica em distâncias semelhantes (BOUCHARD; SAHIN; EMELIANOV, 2014; SZABO, 2004). Como a amplitude do sinal FA é proporcional à fluência local, regiões de interesse mais profundas com fluência significativamente reduzida apresentam reduções proporcionais na amplitude do sinal FA e no contraste da imagem (WANG; YAO, 2016). Os sinais FA tendem a apresentar uma banda larga e baixa direcionalidade, e, portanto, a largura de banda finita e o ângulo de recepção dos transdutores de US diagnóstico por imagem para formação de IFAs limitam a sensibilidade de detecção (BAYER et al., 2017).

Os fatores mencionados acima geram pontos dentro de um FOV pretendido com sinal insuficiente para se obter avaliações significativas usando IFAs. Em um esforço para remover pontos com pouco / nenhum sinal da IFA e posterior análise, um limite selecionado manualmente, por exemplo, com base em um histograma de intensidades de pontos para uma determinada imagem (GERLING et al., 2014). O método do histograma é frequentemente escolhido para remover pontos não confiáveis das imagens de SO_2 ; no entanto, essa abordagem é subjetiva, pois não utiliza uma caracterização quantitativa do ruído.

A relação sinal-ruído (SNR) é uma métrica objetiva simples que foi usada para avaliar a qualidade da imagem em várias modalidades de imagem biomédica. Por exemplo, a ressonância magnética apresenta a SNR como um parâmetro fundamental usado para avaliação do desempenho do sistema e avaliação da qualidade da imagem (ACITO; DIANI; CORSINI, 2011; WELVAERT; ROSSEEL, 2013). Embora a SNR possua uma variedade de definições, uma delas é baseada na análise estatística de sinal e ruído, relacionando o valor médio do sinal ao valor médio e desvio padrão de uma região definida como ruído. Estas estimativas de SNR são

baseadas em uma função específica de densidade de probabilidade (PDF – do termo em inglês *probability density function*) que modela o comportamento do ruído. Para dados em modo RF, é assumida uma distribuição normal, média zero e variância constante, para fins de modelagem de um processo aleatório (AJA-FERNÁNDEZ; VEGAS-SÁNCHEZ-FERRERO, 2016).

Na IFA, o ruído tem sido considerado como uma soma de degradações, como ruído eletrônico aditivo, artefatos induzidos pelo sistema de laser e reconstrução de imagem (MOZAFFARZADEH et al., 2018). O ruído eletrônico tende a se originar do ruído térmico do sistema ou da interferência eletromagnética (KAZAKEVICIUTE; HO; OLIVO, 2016). Embora algumas dessas degradações de imagem possam ser removidas com níveis variados de sucesso usando métodos de remoção de ruído, como decomposição baseada em *wavelet* ou valor singular (TZOUMAS et al., 2014b; HILL et al., 2016), esses métodos tendem a não indicar quais pontos possuem SNR muito baixos para uma análise significativa, que não remova pontos confiáveis desnecessariamente. Assim, ainda existe uma necessidade crítica de impor uma abordagem quantitativa ao limiar assumido como relevante nas IFAs, particularmente à medida que maiores profundidades de IFAs são de interesse clínico e vem cada vez mais sendo utilizadas em estudos oncológicos (MCNALLY et al., 2016).

Nesse capítulo, realizamos experimentos com IFAs por laser para obter valores de SO_2 por meio da análise de IFA e fornecemos duas abordagens de remoção de ruído eletrônico: uma abordagem baseada em amplitude com base em um SNR de ponto e uma abordagem baseada na correlação entre o espectro avaliado de um ponto e o espectro obtido para o ruído. Por fim, esses métodos são validados em tecido *ex vivo* com alvos contendo sangue com SO_2 conhecido.

5.2.2. Materiais e métodos

5.2.2.1. Modelando ruído de imagens fotoacústicas induzidas por laser e o cálculo de SNR

Adquiriu-se uma série temporal de IFAs, onde cada ponto da imagem foi considerado não correlacionado e aleatoriamente distribuído ao longo do tempo. Os dados da IFA estavam em um tipo de formato compacto que reflete a intensidade de cada ponto, conhecido como dados brutos, que foram utilizados no estudo para escolher qual o melhor modelo estatístico para caracterização de ruído. Para isso, um histograma de ruído de uma série temporal foi obtido para cada ponto da imagem

dentro do campo de visão. Em seguida, o teste Kolmogorov-Smirnov (MASSEY, 1951) com a qualidade do ajuste $\alpha=0.05$ foi utilizado para obter um parâmetro de qualidade do ajuste da distribuição ao ruído, testando as distribuições normal, lognormal, Rician e Rayleigh. Este teste avalia a distribuição que mais se ajustou comparando a sua função distribuição acumulada (CDF – do termo em inglês *cumulative distribution function*) com a CDF empírica, que foi obtida das amostras de ruído. Dessa forma, uma PDF otimizada foi selecionada com base no valor- $p > 0,05$, que foi modelada utilizando o toolbox de estatística do MATLAB v. R2017b (Natick, Mathworks, USA).

5.2.2.2. Estabilidade da série temporal e caracterização do ruído e o cálculo do SNR

Uma série temporal de ruído foi adquirida com o Vevo 2100-LAZR (FUJIFILM VisualSonics Inc., Toronto, Canada), obtendo uma sequência de IFAs contendo apenas ruído, mas com os mesmos parâmetros de aquisição de IFAs contendo regiões de interesse. Para obter apenas o ruído, nenhum tipo de iluminação no FOV foi permitido, ou seja embora o laser continuasse ligado, a saída de luz foi bloqueada.

O total de IFAs do ruído, N_{total} , que fornece uma estimativa aceitável do ruído foi classificada pelo parâmetro de avaliação conhecido como coeficiente de variação (CV), $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$, que consiste na razão do desvio padrão σ_n pela média μ_n de uma série temporal de um ruído n . Esse parâmetro pode ser avaliado dinamicamente durante uma aquisição de imagens por uma razão definida como estabilidade percentual ($SR\%$), que é a razão da variância dos CVs:

$$SR\% = \frac{var[\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}]_{s_1}}{var[\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}]_{s_0}} \times 100\%, \quad (28)$$

onde s_0 e s_1 são séries temporais de ruído consecutivas.

Em termos práticos o valor de $SR\%$, é uma medida de variabilidade que foi utilizada avaliar a qualidade da estimativa de ruído, considerando quantas amostras N_{total} são necessárias para obter uma estimativa de ruído com a menor variabilidade em termos do CV.

Considerando que todos os parâmetros são os mesmos para duas aquisições de IFAs consecutivas, ainda existe uma variabilidade causada pela instabilidade dos conversores analógico-digitais devido a variações de potência,

necessitando normalização para obter um nível de ruído de fundo equivalente para diferentes aquisições. Baseado na distribuição estatística, o SNR pode ser estimado como (HOWARD; COPLEY; GILMORE, 1995):

$$\text{SNR} = \frac{P}{\sigma_{bg}} - \frac{1}{\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}}, \quad (29)$$

onde P é uma IFA, σ_{bg} é o desvio padrão do ruído de fundo e $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$ é o coeficiente de variação do ruído.

5.2.2.3. Método do resíduo obtido do ajuste do espectro do ruído de imagem fotoacústica.

Assumindo que o ruído eletrônico é dependente da frequência de repetição do pulso do laser, é esperado que um ponto de ruído defina um espectro de ruído como um valor constante para um comprimento de onda. Para estimar o espectro do ruído, uma janela quadrada foi utilizada para escolher uma região da IFA, o tamanho da janela foi de 16 pontos, escolhendo uma profundidade ideal, onde não há sinais FA, dessa forma, obtendo um espectro aproximado do ruído. O método do resíduo do espectro é definido como:

$$\overline{S}_p(\lambda) = c S_n(\lambda), \quad (30)$$

onde $\overline{S}_p(\lambda)$ é o espectro estimado de um ponto, c é uma constante que pode ser determinada pelo método dos mínimos quadrados e $S_n(\lambda)$ é o espectro do ruído.

Considerando a constante c , o método proposto consiste em medir a similaridade entre o espectro estimado e um espectro observado, que pode ser ruído ou não ruído. Este método é definido pelo cálculo do resíduo:

$$R = \frac{\sum_{\lambda} |\overline{S}_p(\lambda) - S_p(\lambda)|}{\sum_{\lambda} S_p(\lambda)} = \frac{\sum_{\lambda} |c S_n(\lambda) - S_p(\lambda)|}{\sum_{\lambda} S_p(\lambda)}, \quad (31)$$

onde R é o resíduo, $\overline{S}_p(\lambda)$ é o espectro do ruído estimado, $S_p(\lambda)$ é o espectro observado, c é uma constante e $S_n(\lambda)$ é o espectro do ruído. O valor do resíduo é então normalizado fornecendo valores entre 0 e 1 para cada ponto na IFA, onde 0 representa o espectro de um ponto que coincide com o ruído e 1 o ponto que não coincide com o ruído.

A Figura 43 mostra um fluxograma resumindo cada uma das metodologias descritas que foram usadas para obtenção de máscaras de ruído: método por SNR e por resíduo.

Figura 43. Diagrama da metodologia desenvolvida para obter máscaras de ruído através da imagem do resíduo, R , e relação sinal ruído SNR.

5.2.2.4. Extração da concentração dos cromóforos resolvendo um sistema linear

O conjunto de IFAs foi processado utilizando o método de extração da concentração dos cromóforos resolvendo um sistema linear para identificar o concentração de Hb e HbO₂ em cada ponto localizado na posição (lateral, axial) $\equiv (x, y)$ da imagem (LI; TANG; YAO, 2018):

$$P(\lambda, x, y) = \Phi(\lambda) (\epsilon_{Hb}(\lambda) C_{Hb}(x, y) + \epsilon_{HbO_2}(\lambda) C_{HbO_2}(x, y)), \quad (32)$$

onde $P(\lambda, x, y)$ é a intensidade da IFA, $\Phi(\lambda)$ é a fluência local, $\epsilon_{Hb}(\lambda, x, y)$ e $\epsilon_{HbO_2}(\lambda, x, y)$ são o coeficiente de extinção molar de Hb ou HbO₂ $<\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}>$, para cada comprimento de onda λ .

Considerando um ponto na posição (x_1, y_1) e dois comprimentos de onda λ_1 e λ_2 , resolve-se a matriz:

$$\begin{aligned} \begin{bmatrix} C_{Hb}(x_1, y_1) \\ C_{HbO_2}(x_1, y_1) \end{bmatrix} &= (\epsilon^T \epsilon)^{-1} \epsilon^T P, \\ P &= \begin{bmatrix} P(\lambda_1, x_1, y_1) \\ P(\lambda_2, x_1, y_1) \end{bmatrix}, \\ \epsilon &= \begin{bmatrix} \epsilon_{Hb}(\lambda_1) & \epsilon_{HbO_2}(\lambda_1) \\ \epsilon_{Hb}(\lambda_2) & \epsilon_{HbO_2}(\lambda_2) \end{bmatrix} \end{aligned} \quad (33)$$

5.2.2.5. Valor de corte com o método de Otsu

Com base em SNR ou estimativas de R , uma máscara binária com a mesma dimensão da IFA foi obtida para classificar os pontos como "sinal" ou "ruído" através de um valor de corte baseado no método de Otsu (OTSU, 1979). Para o limiar baseado em SNR, o valor de corte é obtido separadamente para cada comprimento de onda, enquanto que para o método do resíduo R ele é obtido de uma vez para todos os comprimentos de onda.

O método de Otsu é ideal para esta finalidade, pois encontra um limiar ideal ao maximizar a variação entre classes de um histograma, que foi definido como tendo 256 compartimentos espaçados uniformemente de zero ao SNR máximo observado em um comprimento de onda específico (por exemplo, 20 dB a 850 nm) (MANIKANDAN et al., 2014; SANGHA; PHILLIPS; GOERGEN, 2017). Este procedimento se aplica à obtenção de T_{otsu} , que é um ponto de corte para duas classes: SNR insuficiente ($T_{SNR} < T_{otsu}$) e suficiente ($T_{SNR} \geq T_{otsu}$).

Os valores de SNR de comprimentos de onda individuais foram reduzidos a uma única máscara impondo a condição de inclusão de um ponto se pelo menos dois comprimentos de onda tivessem um valor de SNR suficiente, que excedesse o limiar de Otsu. Para o método de R , um valor de corte baseado no método Otsu pode ser aplicado à imagem R produzindo uma máscara binária para diferenciar duas classes distintas: R se identifica com ruído ($T_R < T_{otsu}$) e não se identifica com o ruído ($T_R \geq T_{otsu}$).

5.2.2.6. Experimento com diferentes concentrações de SO₂, obtenção de imagens fotoacústicas induzidas por laser com múltiplos comprimentos de onda e imagem de ruído

O Vevo 2100-LAZR (FUJIFILM VisualSonics Inc., Toronto, Canada) foi utilizado para adquirir uma região tridimensional (3D) em modo-B e IFA em todos os experimentos. O transdutor linear LZ-201 com 256 elementos adjacentes e uma frequência normal de 15 MHz foi utilizado em conjunto a um pequeno campo de iluminação (~1 cm) que é fornecido no centro do campo de visão pelos lados do transdutor, de modo que a saída do laser é concentrada no plano da imagem (NEEDLES et al., 2013b).

As imagens do ruído foram adquiridas de um recipiente contendo água à temperatura ambiente para simular a temperatura de acoplamento dos sensores

acústicos, como pode ser observado na Figura 44(a), em seguida, bloqueou-se a saída do laser, escolhendo o modo de correção de energia do equipamento desligado e sem nenhum tipo de médias de imagens. Foram adquiridas centenas de imagens de ruído consecutivas, considerando os parâmetros do campo de visão, lateral, axial e offset, TGC, e ganho, igualmente às usadas durante as aquisições nos experimentos posteriores.

Foram adquiridas IFAs de sangue com valor de SO_2 conhecido dentro de tubos de polietileno (PE) com tamanho de 0,4 mm de diâmetro interno que foram introduzidos dentro de uma peça de musculo bovino [Figura 44(b)] e de um roedor da espécie Buffalo [Figura 44(b)] recentemente sacrificado (*post mortem*).

O preparo das amostras de sangue pode ser descrito brevemente da seguinte forma: Com dois frascos de sangue que possuíam entradas que permitiram inserir gás oxigênio ou nitrogênio, foram preparadas amostras totalmente oxigenadas e totalmente desoxigenadas, respectivamente, como descrito por *Mitcham et al.* (MITCHAM et al., 2017). Em seguida, os valores de SO_2 de misturas de sangue oxigenados e desoxigenados foram medidos utilizando o equipamento Gem OPL CO-oxímetro (Instrumentation Laboratory, Bedford, MA), que possui erro na medida de $\pm 1,5\%$.

Os tubos de PE foram preenchidos com sangue bovino que estava com níveis de SO_2 em: 60,8; 68,3; 70,8; 74,3 e 77,8 % para o experimento com a amostra de musculo bovino e em: 38,0; 47,0; 5,0; 71,0; 85,0 e 99,0 % SO_2 para o experimento com o roedor.

Para os experimentos com músculo bovino, aquisições de 3 IFAs por comprimento de onda foram feitas para 715, 735, 760, 800, 850 nm. Para o experimento com o roedor, 10 IFAs por comprimento de onda foram obtidas em 710, 734, 760, 800, 850 nm. Esses comprimentos de onda foram selecionados para incluir o mínimo e máximo do espectro de extinção molar da Hb, e o ponto isobéptico da hemoglobina em 800 nm, também considerando os limites otimizados do espectro de infravermelho próximo (e.g., 710 e 850 nm), essa escolha otimiza o contraste entre HbO_2 and Hb.

Figura 44. Representação esquemática do arranjo experimento de aquisição de (a) ruído e experimentos (b) músculo bovino e roedor post-mortem. São indicados os tubos de PE e a região do campo de visão do transdutor – em inglês: field-of-view (FOV).

5.2.3. Resultados

5.2.3.1. Estimativa de ruído eletrônico para imagens fotoacústicas

A análise do histograma de um ponto localizado na região central da imagem de ruído é mostrada na Figura 45(a). Neste gráfico mostra-se uma série temporal do ruído que foi analisada através de quatro PDFs (normal, lognormal, Rician e Rayleigh), o teste Kolmogorov-Smirnov ($\alpha = 0,05$; $N_{total} = 300$) resulta em um valor- $p = 0,38$ para lognormal, enquanto os valores- p são menores que 0,1 para normal, Rician e Rayleigh, mostrando que a lognormal é a PDF ideal para caracterizar o comportamento do ruído. Como pode ser visto na inserção da Figura 45(a), o CDF empírico é compatível com a CDF lognormal. Além disso, percebe-se que a Rayleigh apresenta o menor valor- p entre as PDFs comparadas e, se usado para caracterizar o comportamento do ruído, obtém menos precisão do que a lognormal, normal e Rician, em ordem decrescente de valor- p .

Em termos de análise do ruído da IFA, foram posicionadas três ROIs em diferentes posições axiais 15 mm, 20 mm e 25 mm, que foram empregadas para mostrar as diferenças obtidas um dia após o primeiro experimento, como pode ser visto na Figura 45(b). Este resultado mostrou que as estimativas de ruído são consideradas estáveis dentro de 30 minutos após uma aquisição inicial; no entanto, quando comparado com uma aquisição realizada após um dia, um comportamento de intensidade de ruído diferente é observado, necessitando de compensação de ganho relacionado ao funcionamento dos sistemas de ganho / TGC do VEVO.

A Figura 46(a) mostra um gráfico de $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$ em função do número de amostras, onde flutuações estatísticas são percebidas qualitativamente quando $N_{total} < 100$, enquanto, são menores que 1% quando são analisadas para centenas de amostras, isto é, no intervalo de $200 < N_{total} < 400$.

Um estado estacionário foi definido para obter um valor mínimo de amostras suficiente para caracterizar o comportamento do ruído com base nos valores de $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$ e $SR_{\%}$. Os valores de $SR_{\%}$ são aproximados por um decaimento exponencial, onde o valor de corte de 10%, apresenta uma estimativa de ruído em um ponto da IFA no estado estacionário. Tal ponto tem valores de $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$ e N_{total} de 0,28 e 225, respectivamente. No intervalo de $200 < N_{total} < 400$ o valor de $SR_{\%}$ é igual a 8%, apresentando uma variação de apenas 2% e indicando que a estimativa ruído é válida dentro desse intervalo.

A Figura 46(b) mostra o espectro estimado da região de ruído da IFA que foi comparado com um espectro de sangue com 85% SO_2 . O espectro estimado claramente difere do espectro do sangue oxigenado, resultando em um valor próximo de 1 pelo método do resíduo. Além disso, foi possível observar que um espectro empírico pôde ser obtido da calibração da energia do laser, apresentando um valor próximo de 0 pelo método do resíduo.

Figura 45 (a) Um histograma observado da série temporal do ruído é apresentado. Esse histograma foi ajustado usando PDFs normal, lognormal, Rician e Rayleigh e, como resultado do teste de qualidade de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (CDFs no interior), a PDF lognormal é ideal para caracterizar o comportamento do ruído com valor- p de 0,37 para 225 amostras. (b) Uma análise ao longo da profundidade (15 mm, 20 mm e 25 mm) mostra que as estimativas de ruído são dependentes do TGC, além de poderem ser influenciadas por diferentes tempos de aquisição.

Figura 46. (a) $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$ e $SR_{\%}$ são mostrados em função de N_{total} , apontando flutuações e valores acima de 10% quando $N_{total} < 100$ e valores constantes e menores que 8% dentro de um intervalo de $200 < N_{total} < 400$. (b) Comparação entre o espectro estimado e do sangue com 85% de SO_2 .

5.2.3.2. Validação das abordagens de remoção de pontos de ruído por SNR e R

A Figura 47(a) mostra IFAs sobrepostas por uma IFA em 800 nm do músculo bovino, na qual uma seta preta está disposta indicando a posição do tubo de PE que contem sangue com o valor de SO_2 de 77,8%.

A Figura 47(b) mostra a imagem com os valores de SO_2 , que foram calculados com a razão os valores da concentração de HbO_2 e Hb de $SO_2 = \frac{C_{HbO_2}(x,y)}{(C_{Hbb}(x,y) + C_{HbO_2}(x,y))} \times 100\%$. Além disso, uma janela retangular foi sobreposta ao mapa de SO_2 , indicando a região de análise para obter as estimativas de SO_2 .

A Figura 48(a) mostra o mapa de SNR a 800 nm do *phantom* de músculo bovino, enquanto na Figura 48(b) observa-se o mapa de SO_2 , que não tem mais os pontos com SNR insuficiente, pois esses pontos foram removidos pela máscara SNR ($T_{SNR} = 4,47$ dB), sobrepondo a imagem em modo-B.

A Figura 49(a) mostra o mapa de R do *phantom* de músculo bovino, enquanto na Figura 49(b) observa-se o mapa de SO_2 , que não tem mais os pontos, que se identificam com o ruído, pois esses pontos foram removidos pela máscara R ($T_R = 0,23$), sobrepondo a imagem em modo-B.

Figura 47. (a) Série de IFAs (primeira imagem em 800 nm) em imagem de SO_2 de uma amostra de sangue com SO_2 conhecido de 77,8% injetada em um tubo que foi colocado dentro de um *phantom* de músculo bovino (setas).

Figura 48. Para uma única fatia, (a) SNR em 800 nm e (b) imagem de SO_2 mascaradas com máscara SNR sobreposta ao modo-B.

Figura 49. Para uma única fatia, (a) R e (b) imagem de SO_2 mascaradas com máscara R sobreposta ao modo-B.

A máscara SNR foi obtida considerando pontos com SNR que excedem o valor de corte de 4,47 dB, enquanto a máscara R , foi obtida considerando pontos que excedem 0,23. Ambas as máscaras SNR e R removeram pontos de ruído do mapa de SO_2 , estes pontos resultam em estimativas de aproximadamente 70% SO_2 , enquanto os pontos referentes ao tecido de músculo esquelético (*post mortem*) são observados com aproximadamente 35% SO_2 e a amostra de sangue dentro do tubo PE é observada com 77,8% SO_2 .

A análise da performance dos métodos SNR e R foi realizada considerando uma dupla de valores de SO_2 . Os valores foram obtidos aplicando uma janela retangular que foi utilizada para calcular as estimativas de SO_2 . Então, estas estimativas foram comparadas quantitativamente através do teste- t ($\alpha = 0.05$) para detectar as diferenças entre as duplas de valores (1) 77,8% vs. 60,8%, (2) 68,3% vs. 60,8%, e (3) 74,3% vs. 70,8%; revelando que para janelas de tamanho menor que 0.5 mm^2 , as diferenças medidas de SO_2 que são 17%, 7,5% e 3,5% foram detectadas sem a necessidade de utilizar a máscara, contudo a medida que o tamanho da janela aumenta para 1 mm^2 as diferenças entre os valores SO_2 de 7,5% e 3,5% são detectáveis utilizando a máscara SNR ou R .

A Figura 50(a) mostra o volume do abdômen do roedor, que continha dois tubos com SO_2 conhecido de 85% e foram colocados dentro do fígado de roedor (*post mortem*). As estimativas de SO_2 em 3D foi obtida de um volume de interesse (VOI) antes e depois da aplicação das máscaras SNR e R .

A Figura 50(b) mostra o volume composto por mapas de SO_2 do abdômen de um roedor *post mortem*. Em seguida, a máscara SNR foi aplicada para um valor de corte de 6,40 dB, enquanto a máscara R com um valor de corte de 0,38, como pode ser visto nas Figura 50(b) e Figura 50(c), respectivamente, removendo pontos não confiáveis (SNR insuficiente ou R que se identifica com ruído) no VOI.

A Figura 50(d) mostra a análise do VOI de uma região de ruído e do tubo com SO_2 conhecido antes e depois de aplicadas as máscaras SNR e R . Em análise, é possível observar que houve a melhoria na precisão das estimativas de SO_2 .

Figura 50.(a) As diferenças das estimativas de SO_2 em análise 3D para máscaras (b) nenhuma, (c) SNR e (d) R . (e) Uma análise do VOI compara as estimativas de SO_2 de um volume de apenas de ruído (preta) e de um VOI cilíndrico (pontilhada) para nenhuma máscara (azul), SNR (vermelha) e R (verde).

5.2.4. Discussão e conclusão

Mostrou-se um método empírico para caracterizar estatisticamente o ruído eletrônico da IFA, tal caracterização do ruído proporciona cálculos precisos do SNR, que foi utilizado para remover o ruído por meio de uma máscara formada a partir do valor de corte dado pelo método de Otsu, tal máscara remove os pontos de SNR insuficiente. A máscara R removeu os pontos que mais se identificam com o ruído, não sendo necessária aquisição ou caracterização do ruído eletrônico. Ambas as máscaras obtidas com os métodos SNR e R , proporcionaram maior precisão nas estimativas de SO_2 .

Concordando com Howard e seus colaboradores (HOWARD; COPLEY; GILMORE, 1995) nossos resultados indicam a PDF lognormal como sendo otimizada para caracterizar o comportamento do ruído da IFA. A PDF lognormal modelou o ruído com um valor- p superior aos obtidos para normal, Rician ou Rayleigh no teste de Kolmogorov-Smirnov.

A caracterização estatística incompatível do ruído leva a uma estimativa SNR não confiável, embora, não sendo possível aquisições de IFAs de ruído, a PDF de Rayleigh possa ser usado como modelo de ruído conservador, fornecendo um viés de +2,8 dB no SNR devido às suas propriedades, contudo resultando em um valor- p próximo de 0.

Considerando a PDF lognormal, foi realizada a caracterização do ruído para a média de 10 imagens de ruído média, resultando em um N_{total} de 300, o uso de média alterou o valor- p para 0,61, enquanto que os valores- p para normal e Rician são 0,49 e 0,48, respectivamente. Assim, foi observado que mesmo com uso de IFAs médias, lognormal é a PDF mais adequada para caracterizar o ruído da IFA.

As aquisições de IFA de ruído devem ser realizadas depois das sessões de IFAs, porque dentro de um intervalo de 30 minutos não foram observadas diferenças na intensidade do ruído, contudo no dia posterior diferenças foram observadas, precisando de normalização da intensidade do ruído.

Outra consideração do método SNR é o aumento tempo de aquisição para obter as IFAs do ruído, pois a quantidade de dados necessária para gerar estimativas de ruído, segundo as métricas $\sigma_n \cdot \mu_n^{-1}$ e $SR_{\%}$, é da ordem das centenas de amostras, por exemplo, $200 < N_{total} < 400$. No entanto, realizando as aquisições de ruído após a sessão de IFAs, os parâmetros de imagem já estão definidos, reduzindo o prejuízo no fluxo de trabalho.

Quando não é possível adquirir ruído durante sessão de IFAs ou em alguns estudos que exigem que as aquisições sejam realizadas em dias diferentes, é recomendável aplicar uma normalização para obter SNR reproduzível e preciso, ainda foram observadas variações associadas a escolha do tamanho do FOV, que também precisam ser normalizada, pois derivam da precisão dependente do usuário.

Para o método R não foi necessário realizar aquisições de IFAs de ruído, contudo o método requer precisão do usuário na seleção de uma região da IFA onde há mínima influência do sinal FA. Tal região pode ser selecionada de uma IFA em que os 15 mm iniciais do eixo axial estão capturando sinais de acoplador acústico/óptico até a superfície do objeto, as regiões superiores próximas à face do transdutor e no final da imagem (distância da superfície superior a 30 mm) são as mais indicadas,

sendo ambas as regiões com pouca influência de sinais FA provenientes da região de interesse.

Os métodos foram validados em 2D e aplicados em 3D para obter mais precisão nas estimativas de SO_2 . A análise 2D mostrou que o tamanho da janela influencia na estimativa de SO_2 , pois adiciona o viés do ruído na análise, contudo, desde que aplicadas as máscaras, a diferença entre as estimativas de SO_2 pôde ser estatisticamente detectada para 17%; 7,5% e 3,5%. Em 3D, é notável que a influência do ruído é mais evidente, ressaltando a importância da aplicação das máscaras SNR e R . Dessa forma, o VOI apresenta apenas os valores de pontos que concordam com a situação física real, que mostra o abdômen de um roedor *post mortem* com SO_2 de aproximadamente 35% e dois tubos com sangue oxigenado apresentando estimativas de SO_2 de 85%.

Em conclusão, propusemos um método para caracterizar o comportamento do ruído na IFA. Ao fazer isso, estimamos o SNR com precisão estatística e, em seguida, aplicamos a máscara de SNR que pôde ser usada para remover pontos com SNR insuficiente e também um método baseado no espectro do ruído que identificam o ruído por meio de análise do valor do resíduo entre os espectros do ruído e de cromóforos de interesse. Ambos os métodos foram aplicados no mapa de SO_2 fornecendo meios de análise e obtenção de estimativas de SO_2 em VOI localizados em profundidades clinicamente relevantes.

5.3. Caracterização de agentes de contraste através de imagens fotoacústicas

5.3.1. Introdução

Novos estudos investigando biomarcadores moleculares de doenças como o câncer vem se tornando essenciais para o envolvimento novos tratamentos e diagnóstico. Técnicas de imagem como ressonância magnética nuclear e técnicas ópticas com OCT vem sendo utilizadas em conjunto a agentes de contraste, que são administrados em vias sanguíneas com o intuito de ser distribuído até a região do tumor, permitindo análise das características do tumor como sua localização, volume e vascularização.

A biodistribuição dessas substâncias vem sendo estudada em FA com a tomografia optoacústica¹¹ multiespectral (MSOT – termo em inglês: *Multispectral optoacoustic tomography*), que tem capacidade de fornecer informação em nível molecular, oferecendo sensibilidade óptica em profundidade da ordem de centímetros com resolução espacial da ordem de alguns micrômetros de forma comparável à de US diagnóstico por imagem em modo-B (RAZANSKY; BUEHLER; NTZIACHRISTOS, 2011).

O equipamento de MSOT possui uma câmara fechada, onde o objeto de interesse é colocado para ser submetido a uma varredura 3D com transdutor ultrassônico multi-elementos e iluminação laser ambos em forma de arco. A IFA tomográfica é reconstruída pelo algoritmo de retroprojeção, possibilitando ao MSOT, operando em tempo real, ser capaz capturar um volume do corpo inteiro de um roedor em 30 minutos, sendo as IFAs obtidas em múltiplos comprimentos de onda. Essa capacidade da MSOT foi utilizada pois tem resolução temporal suficiente para estudos farmacocinéticos e de biomarcadores em tópicos relacionados a diagnóstico e tratamento do câncer (TARUTTIS et al., 2012).

Assim, o uso do MSOT em pesquisas de biomarcadores vem crescendo, principalmente para caracterizar e localizar agentes de contraste e biomarcadores *in vivo*, necessitando o contínuo desenvolvimento e aprimoramento de métodos de extração dos espectros desses cromóforos (GLATZ et al., 2011). O problema da

¹¹ O efeito fotoacústico também é conhecido por efeito optoacústico.

extração do espectro de um cromóforo se torna complexo quando existem mais de um cromóforo de interesse em um volume de interesse, nessa condição ocorre uma superposição de vários cromóforos componentes do tecido biológico e dos biomarcadores de interesse como, por exemplo, a hemoglobina e outros agentes de contraste (HERZOG et al., 2012).

Alguns métodos de extração acompanham o MSOT (TZOUMAS et al., 2014a, 2014b), sendo possível a análise da biodistribuição de agentes de contraste como a Indocianina verde - *Indocyanine green* (ICG) e as características de microvascularização dos tumores (LI; TANG; YAO, 2018). Enquanto o ICG (RAJIAN et al., 2011) é um corante, solúvel em água com pico de absorção óptica próximo de 800 nm, que tem ampla utilização em estudos relacionados a IFA (TARUTTIS et al., 2012), sendo inclusive já autorizado para uso em humanos por agências como a ANVISA e FDA, um outro agente de contraste para IFA muito promissor que vem sendo desenvolvido para uso clínico é denominado Lipo-ICG (do termo em inglês: Liposomal indocyanine green).

O Lipo-ICG é uma combinação de lipossomas revestidos com polietilenoglicol (PEG) e o ICG (BEZIERE et al., 2015), que foi utilizado em um estudo de caso de animais com câncer de tecido glandular, tal estudo usou o MSOT para fornecer IFAs *in vivo*, mostrando, ao mesmo tempo, a relevância e potencial do uso de agentes de contraste biocompatíveis em relação a nanopartículas metálicas, no que diz respeito à segurança (LI; CHEN, 2015) e o potencial do MSOT em termos de fornecer IFAs tomográficas de um volume de interesse do tumor, associando meios de análise de biodistribuição de forma não invasiva e oferecendo um grande potencial de utilização para ambos os aspectos em futuras aplicações clínicas.

Avanços em nanotecnologia permitiram o desenvolvimento de uma nova classe de agente de contraste biocompatível, que está em desenvolvimento pela empresa NanoHybrids (NanoHybrids, Inc., Austin, EUA), vem sendo estudada no laboratório de pesquisa de IFA do M.D. Anderson Cancer Center (MDACC) em Houston-TX nos EUA. Trata-se do Lipo-JICG ou *PAtracer* (NanoHybrids, Inc., Austin, EUA), que foi sintetizado para encapsular o ICG, em forma de agregado J, dentro de lipossomas revestidos por PEG e contendo anticorpo a-FR (MARCHETTI et al., 2014), que é de importância terapêutica por ser expressado por tumores, resultando em um

agente com componentes aprovados pelo FDA, que tem potencial para ser utilizado na clínica.

A Figura 51(a) mostra a ilustração da construção do Lipo-JICG em termos dos seus componentes formadores aprovados pelo FDA, anti-corpo (a-FR), Polietilenoglicóis (PEG), Lipossoma e Agregado-J, possuindo um tamanho médio de 100 nm, enquanto a Figura 51(b) mostra os espectros de absorção óptica dos constituintes do tecido biológico (Hb, HbO₂ e Lipídio) e dos agentes de contraste (ICG e Lipo-JICG), que está representada em termos de OD – em inglês *optical density*. Mostra-se os espectros de OD em suas concentrações típicas do modelo de tecido biológico para 70% água, 15% lipídio e 15% de sangue com 55% de SO₂ (JACQUES, 2013) e para o ICG e Lipo-JICG em uma mesma concentração molar de 2 μ M.

Figura 51 . Ilustração representativa do Lipo-JICG e (b) espectro de absorção óptica da água, lipídio, ICG (2 μ M), Lipo-JICG (2 μ M), Hb e HbO₂.

Fonte: a ilustração (a) foi fornecida por NanoHybrids

A característica óptica do Lipo-JICG de maior relevância é um pico de absorção óptica próximo de 890 nm, que é vantajoso para uso em estudos de biomarcadores, pois proporciona um pico de absorção ótica distante do ponto isosbético de Hb e HbO₂, enquanto o pico de máxima absorção óptica de ICG está próximo de 800 nm. Observa-se que o Lipo-JICG está absorvendo em uma região na qual os espectros da Hb e HbO₂ são pouco variáveis entre 760 – 830 nm. Dessa forma, a detecção e quantificação do Lipo-JICG pode ser feita com pelo menos 3 comprimentos de onda, que são indicados pelo símbolo “+” em meio a uma região verde na Figura 51(b) e, além disso, adquirindo IFAs em 800 nm, é facilitada a estimativa do SO₂ por meio de quantificação de hemoglobina, conforme símbolos “●”

ilustrado por uma região amarela na Figura 51(b), ainda é possível observar que o ICG sobrepõe o espectro da Hb, causando perdas de acurácia na estimativa do SO₂.

É esperado que Lipo-JICG apresente um pico de máxima absorção bem definido e uma banda estreita, que não se sobrepõe com espectro de interesse dos cromóforos da hemoglobina, quando comparado ao ICG. Sendo assim, os comprimentos de onda próximos do pico de máxima absorção do Lipo-JICG devem ser associados aos comprimentos de onda previamente utilizados para obter IFAs e quantificar Hb e HbO₂ (LUKE; NAM; EMELIANOV, 2013; NASER et al., 2018). Assim, tal escolha de comprimentos de onda para aquisição de IFAs deve considerar até 6 comprimentos de onda, sendo escolhidos para quantificar os cromóforos Hb, HbO₂ e o Lipo-JICG. Dessa forma, além da escolha óbvia de 800 nm, é escolhido o comprimento de onda 890 nm e os demais comprimentos de onda são preenchidos entre 750 nm e 950 nm.

Nesse capítulo, estudos foram conduzidos para realizar caracterização por meio de IFAs do agente de contraste Lipo-JICG. Utilizando *phantoms* que simulam condições de tecidos biológicos, foi realizada a quantificação do Lipo-JICG em solução de PBS e sanguínea com valores de SO₂ conhecidos para mostrar a diferença de contraste em duas profundidades distintas.

5.3.2. Materiais e métodos

As amostras de agentes de contraste Lipo-JICG (470 μ M) e ICG (1210 μ M) foram fornecidas pela empresa NanoHybrids (NanoHybrids, Inc., Austin, EUA) em solução de estoque com pico de máxima absorção de aproximadamente 200 OD em 890 nm e 800 nm, respectivamente. Essas amostras foram diluídas em solução tampão fosfato-salino (PBS – em inglês: *phosphate buffered saline*) e, em seguida, caracterizadas por meio de sua densidade óptica, utilizando a espectroscopia UV-VIS, conforme pode ser observado na Figura 52(a).

Para cada um dos agentes de contraste, duas soluções foram obtidas com densidade óptica de 0,5 e 1,5 em seus picos de máxima absorção nos comprimentos de onda de 800 e 890 nm, respectivamente. Após a preparação de soluções concentração molar diferentes foram obtidas duas amostra com diferença de absorbância menor do que 0,1; que foi medida entre os seus picos de máxima absorção. Tais amostras foram verificados com a empresa NanoHybrids

(NanoHybrids, Inc., Austin, EUA), que a concentração molar era de aproximadamente $1,7 \mu\text{M}$ para o Lipo-JICG e para o ICG a concentração molar era de $5,1 \mu\text{M}$, conforme pode ser observado na Figura 52(b).

Figura 52. (a) Caracterização UV-VIS de amostras de ICG e Lipo-JICG diluídas em PBS. Em (b), comparação de duas soluções de ICG ($5,1 \mu\text{M}$) e Lipo-JICG ($1,7 \mu\text{M}$), mostrando a diferença de absorvância de apenas 0,1

O sangue foi preparado considerando a concentração de hemoglobina, que no sangue é de 150 g/L ($2,3 \text{ mM}$), contudo, nos capilares próximos a um tumor e na sua cercania, que é constituída de tecido saudável, a concentração é de aproximadamente 2% da concentração no sangue, isto é 3 g/L ($50,6 \mu\text{M}$), possuindo concentração molar de Hb de $37,8 \mu\text{M}$ e de HbO_2 de $12,8 \mu\text{M}$ (FANTINI, 2014). Além disso, considerou-se as estimativas de SO_2 em tecidos obtidas de maneira experimental, que estão entre 40% e 80% *in vivo* e *post-mortem* em menos de 20% (TZOUMAS et al., 2016).

O preparo das amostras consistiu em diluir o sangue de suíno em PBS com uma concentração de hemoglobina da ordem de gramas por decilitros, que imitam a situação supracitada de um tumor, tecidos e capilares da sua cercania. Depois tais amostras foram tituladas para obter um valor de SO_2 conhecido entre 50% e 100%, que foram obtidos pelo procedimento desenvolvido por Mitcham e seus colaboradores (MITCHAM et al., 2017), resultando em valores de SO_2 entre 50% e 100%, que foram obtidos pela mistura de duas amostras, uma que foi tratada com gás oxigênio até que o sangue estivesse totalmente oxigenado e outra com gás nitrogênio até que a amostra estivesse o máximo possível desoxigenada. Os valores de SO_2 nas amostras

foram validados empregando o equipamento comercial CO-oxímetro Gem OPL (Instrumentation Laboratory, Bedford, MA).

A Figura 53(a) mostra as amostras de sangue diluídas dentro de seringas antes de serem inseridas nos tubos de polietileno que constituem o *phantom*, enquanto a Figura 53(b) mostra uma fotografia e o desenho de gabarito e o *phantom*, no qual se observa que não há material simulador de tecido ao redor dos tubos. Também, a fotografia mostra o *phantom* sendo colocado no interior da câmara do MSOT.

Figura 53. (a) Amostras de sangue suíno que foram diluídas para obter condições similares encontradas *in vivo*. (b) *Phantom* cilíndrico de 4 tubos sendo colocado no interior da câmara do MSOT para análise de estabilidade da amostra de sangue diluído em PBS.

Foram realizados experimentos em *phantoms* simulando condições de tecido biológico, como mostrado na Figura 54(a), tais experimentos visaram estimar o limite de detecção do Lipo-JICG em comparação ao ICG. Como pode ser observado na Figura 54(b), as amostras de sangue diluído, Lipo-JICG e ICG foram armazenadas dentro de seringas instantes antes dos experimentos.

Os dois *phantoms* possuíam formato cilíndrico e foram fabricados com dois diâmetros distintos 1,90 cm e 3,40 cm, contendo em seu interior um tubo de polietileno de diâmetro externo em 1 mm e interno de 0,4 mm. Tal tubo foi posicionado dentro do *phantom* sobre a geratriz de sua forma geométrica durante processo de fabricação.

O material para fabricação do *phantom* foi definido seguindo a metodologia descrita em (COOK; BOUCHARD; EMELIANOV, 2011) para imitar o tecido biológico. Assim, os constituintes do *phantom* foram assim escolhidos: água deionizada (86,3 wt. %), gelatina Bloom (8 wt. %), sílica como espalhador acústico (0,5 wt. %), India ink

como absorvedor óptico (0,01 wt %), glutaraldeído para melhorar a estabilidade de longa duração (0,1 wt. %) e a solução lipídica Intralipid 20% como espalhador óptico (5 wt. %), estes constituintes foram adicionados em uma mistura base que foi então moldada em formato cilíndrico e deixada em repouso para posterior utilização.

Figura 54. Fotografias tiradas durante o experimento com o MSOT. (a) *Phantom* cilíndrico com diâmetro de 3,40 cm e 1,90 cm, (b) amostras de ICG e Lipo-JICG diluídos em PBS e sangue 10%-v/v com valor conhecido de SO_2 entre 50% e 70%.

O procedimento experimental consistiu em obter IFAs das amostras produzidas por combinações de 1 parte de agente de contraste e 5 partes de sangue diluído (1:5). Amostras de Lipo-JICG e ICG tinham absorbância de 0,3 e 0,9 e o sangue diluído tinha valores de SO_2 entre 50% e 100%.

As amostras supracitadas foram injetadas no tubo dos *phantoms* e, em seguida, foram obtidas IFAs nos comprimentos de onda 710, 734, 760, 800, 830, 870, 890 e 920 nm, consistindo de uma média de cinco aquisições em cada comprimento de onda.

O equipamento comercial de FA inVision 256-TF MSOT photoacoustic imaging system (iThera Medical) foi configurado para entregar 100 mJ de energia com uma frequência de repetição de pulso de 10 Hz. O software viewMSOT (iThera Medical) foi utilizado para formar as IFAs, que foram formadas com o algoritmo de retroprojeção, obtendo uma resolução de 150 μm , também foi utilizado para processar as IFAs com o algoritmo para extração de espectro por meio da solução de sistema linear escolhendo os componentes Lipo-JICG, ICG, Hb e HbO₂ e considerando todos os comprimentos de onda da aquisição.

5.3.3. Resultados

Anteriormente ao experimento com *phantoms*, foram realizados experimentos para observar a estabilidade temporal das amostras que possuíam partes de sangue e PBS em uma proporção de 5, 10, 50 e 100 % v/v e um valor de SO_2 de 80%. A Figura 55(a) mostra a IFA em 800 nm do *phantom* sem simuladores de tecido biológico e quatro tubos de polietileno contendo amostras de sangue diluído com SO_2 em 80%. As IFAs foram adquiridas em ao longo de 45 minutos, em passos de 5 minutos, verificando a estabilidade das medidas ao longo do tempo. A análise consistiu em aplicar um ROI sobrepondo cada um dos tubos do *phantom*, por exemplo, a ROI sobrepondo a IFA em 800 nm na localização do tubo com sangue 10%-v/v, conforme é possível observar na Figura 55(a).

Os resultados das análises mostraram que as amostras com 100%-v/v, 50%-v/v e 10%-v/v (Sangue/PBS) são estáveis ao longo de uma sessão de imagens de 45 minutos e não apresentam diferenças significativas de valor de SO_2 entre si, enquanto as medidas de SO_2 para 5%-v/v apresentaram uma diferença de aproximadamente 40% quando comparada com os valores de SO_2 obtidos das três amostras citadas anteriormente. Além disso, a amostra de 5%-v/v também não pode ser medida com o CO – oxímetro, pois apresentou uma concentração de hemoglobina insuficiente para realizar a medida.

Figura 55. (a) IFA em 800 nm do *phantom* de 4 tubos, onde se observa uma ROI sobrepondo o tubo com sangue 10%-v/v e (b) estimativas de SO_2 ao longo do tempo para as amostras 5, 10, 50 e 100%-v/v.

A concentração de 1,5 g/dL (10%-v/v) foi escolhida para simular o ambiente de vascularização de tecido *in vivo* nos experimentos com *phantoms* simulando condições de profundidade em tecido biológico.

Os experimentos foram realizados com a solução de ICG / Lipo-JICG e sangue 10%-v/v em uma proporção de 1:5, que foram injetadas no tubo do *phantom* de material de tecido biológico de diâmetro de 1,9 cm. As IFAs nos comprimentos de onda de 710, 734, 760, 800, 830, 870, 890 e 920 nm foram obtidas e todos os comprimentos de onda foram utilizados para obter o mapa com intensidade proporcional a concentração do agente de contraste.

A Figura 56(a) mostra duas IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa de ICG, a imagem da esquerda se observa o mapa de ICG para uma amostra controle, que consiste apenas de sangue 10%-v/v com SO₂ em 70%, enquanto a imagem da direita mostra o mapa de ICG para uma amostra 1:5 de ICG com absorbância de 0,9 e sangue 10%v-v com SO₂ em 70%.

Ambas as IFAs da Figura 56(a) mostram o tubo dentro do *phantom* localizado a profundidade aproximada de 0,7 cm e foram analisadas considerando a ROI, que está localizada sobrepondo o tubo. O resultado da análise do mapa do ICG é mostrado no gráfico de barras que pode ser observado na Figura 56(b). Tal análise compara a intensidade do ICG para as seguintes amostras 50% SO₂ – controle, 50% SO₂ – 0,3 OD, 70% SO₂ – controle, 70% SO₂ – 0,3 OD e 70% SO₂ – 0,9 OD.

A Figura 57(a) mostra duas IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa do Lipo-JICG, a imagem da esquerda mostra o resultado para uma amostra controle, que consiste apenas de sangue 10%-v/v com SO₂ em 70%, enquanto a imagem da direita mostra o resultado para uma amostra 1:5 de ICG 0,9 OD e sangue 10%v-v com SO₂ em 70%. Assim como a Figura 56(a), estas imagens mostram o tubo dentro do *phantom* localizado a profundidade aproximada de 0,7 cm. Assim como a análise realizada previamente para o ICG, foi considerada a ROI sobre o tubo, a Figura 57(b) mostra os resultados da análise de comparação entre a intensidade do Lipo-JICG para as amostras 50% SO₂ – controle, 50% SO₂ – 0,3 OD, 70% SO₂ – controle, 70% SO₂ – 0,3 OD e 70% SO₂ – 0,9 OD.

Figura 56. (a) IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa do ICG, mostrando um *phantom* de 1,9 cm de diâmetro com um tubo em seu centro. O tubo foi preenchido com a mostra controle de sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (esquerda) e uma solução 1:5 de ICG e sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (direita). Em (b), mostra-se a comparação entre a intensidade do ICG para as amostras 50% SO_2 – controle, 50% SO_2 – 0,3 OD, 50% SO_2 – 0,9 OD, 70% SO_2 – controle, 70% SO_2 – 0,9 OD. Seta aponta para a barra que representa a amostra escolhida para normalizar o gráfico de barras.

Figura 57. (a) IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa do Lipo-JICG, mostrando um *phantom* de 1,9 cm de diâmetro com um tubo em seu centro. O tubo foi preenchido com a mostra controle de sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (esquerda) e uma solução 1:5 de ICG e sangue 10%-v/v com SO_2 em 70% (direita). Em (b), mostra-se a comparação entre a intensidade do ICG para as amostras 50% SO_2 – controle, 50% SO_2 – 0,3 OD, 50% SO_2 – 0,9 OD, 70% SO_2 – controle, 70% SO_2 – 0,9 OD. Seta aponta para a barra que representa a amostra escolhida para normalizar o gráfico de barras.

A intensidade de ICG 70% SO_2 – 0,9 OD reduz à medida que o valor de SO_2 da amostra aumentou de 50% para 70%. Além disso, considerando que os mapas foram obtidos com os mesmos comprimentos de onda, e que estes são uma escolha apropriada para obter estimativas de SO_2 , observou-se que as intensidades das amostras controle, apresentam um valor absoluto maior para amostras com ICG, indicando que os valores de SO_2 entre 50% e 70% tem maior influência nas estimativas de ICG do que de Lipo-JICG.

Em seguida, foram comparados os contrastes das imagens da amostra de 50% SO₂ – 0,9 OD de Lipo-JICG (1,7 μ M) e 50% SO₂ – 0,3 OD de ICG (1,7 μ M). Esta comparação de contraste foi realizada utilizando o software viewMSOT (iThera Medical), que fornece meios de comparar o contraste de duas imagens distintas em seu ambiente de trabalho, por exemplo, configurando igualmente o range dinâmico das imagens.

A Figura 58(a) mostra a comparação entre a imagem de Lipo-JICG e ICG, enquanto a Figura 58(b) mostra o resultado do cálculo de contraste de Lipo-JICG e ICG para as amostras de 50% SO₂ – 0,3 OD, 50% SO₂ – 0,9 OD e 70% SO₂ – 0,9 OD. O contraste foi calculado como sendo o módulo da diferença intensidade média na ROI e na região próxima as bordas do *phantom* dividido pela média da região das bordas. Nota-se que o mapa de Lipo-JICG apresenta um contraste maior que a imagem de ICG, quando são comparadas amostras de mesma concentração molar em solução de sangue 10%-v/v (1:5) com valores de SO₂ próximos aos encontrados *in vivo*, neste caso o valor de SO₂ foi de 50%. Além disso, a profundidade do tubo é de aproximadamente 7 mm em um *phantom* que imita as condições do tecido biológico.

Figura 58. (a) Os mapas de Lipo-JICG e ICG após processamento de extração de espectro com o software viewMSOT sobrepondo IFA em 800 nm. As imagens são apresentadas o mesmo range dinâmico. (b) Cálculo do contraste para as imagens de Lipo-JICG e ICG para as amostras de 50% SO₂ – 0,3 OD, 50% SO₂ – 0,9 OD e 70% SO₂ – 0,9 OD. ROI: região de interesse e B: região das bordas do phantom. Seta aponta para as barras das amostras de mesma concentração molar.

Os valores da análise de comparação entre o valor de SO₂ medido com o CO – oxímetro e o valor obtido das IFAs são listados na Tabela 8, resultando em um valor de Δ SO₂ de $10 \pm 3\%$ para a amostra de Lipo-JICG 50% SO₂ – 0,9 OD, enquanto para a amostra ICG 50% SO₂ – 0,9 o valor obtido de Δ SO₂ foi de $37 \pm 5\%$. Assim, para

uma mesma densidade óptica, o ICG causa um viés três vezes maior na estimativa de SO_2 quando comparado ao Lipo-JICG, ainda foi observado que o viés na estimativa de SO_2 aumenta à medida que há aumento do valor SO_2 na amostra.

Tabela 8. Valores de ΔSO_2 para amostras as amostras de 50% SO_2 – 0,3 OD, 50% SO_2 – 0,9 OD e 70% SO_2 – 0,9 OD.

Agente de Contraste	Absorbância (OD)	SO_2 (%)	ΔSO_2 (%)
ICG	0,3	50%	-7,4
	0,9	50%	-37,1
	0,9	70%	-53,9
Lipo-JICG	0,3	50%	-9,1
	0,9	50%	-10,0
	0,9	70%	-9,7

Para avaliar os limites de profundidade de aquisição, foram realizados experimentos com a solução Lipo-JICG misturada com sangue 10%-v/v em uma proporção de 1:5, que foi injetada no tubo do *phantom* de material de tecido biológico de diâmetro de 3,4 cm. Assim como os experimentos anteriores, as sessões de imagem com o MSOT consistiram em capturar IFAs nos comprimentos de onda de 710, 734, 760, 800, 830, 870, 890 e 920 nm. Todos os comprimentos de onda foram utilizados para obter o mapa de Lipo-JICG.

A Figura 59(a) mostra duas IFAs sobrepostas pelo mapa de Lipo-JICG, a imagem da esquerda mostra o resultado para uma amostra controle, que consiste apenas de sangue 10%-v/v com SO_2 em 70%, enquanto a imagem da direita mostra o resultado para uma amostra de Lipo-JICG 0,9 OD e sangue 10%v-v com SO_2 em 70%. Ambas as imagens da Figura 59(a) mostram o *phantom* de diâmetro aproximado de 3,4 cm com o tubo em seu interior. Tal tubo contém a amostra a uma unidade aproximada de 1,5 cm. A análise foi realizada por meio da ROI definida ao redor do tubo para obter a intensidade de Lipo-JICG.

A Figura 59(b) mostra os resultados da comparação entre a intensidade do Lipo-JICG para as amostras 70% SO_2 – controle, 70% SO_2 – 0,9 OD, 100% SO_2 – controle, 100% SO_2 – 0,9 OD.

Figura 59. (a) IFAs em 800 nm sobrepostas pelo mapa de Lipo-JICG, mostrando um *phantom* de 3,4 cm de diâmetro que contém um tubo em seu interior. O tubo foi preenchido com a amostra controle de sangue 10%-v/v com SO₂ em 70% (esquerda) e uma solução 1:5 de Lipo-JICG e sangue 10%-v/v com SO₂ em 70% (direita). **Em (b)**, mostra-se a comparação entre a intensidade do Lipo-JICG para as amostras 70% SO₂ – controle, 70% SO₂ – 0.9 OD, 100% SO₂ – controle, 100% SO₂ – 0.9 OD. Seta aponta para a amostra escolhida para normalizar o gráfico de barras.

Os resultados mostram que em um limite de profundidade clinicamente relevante (1,5 cm) foi possível medir a intensidade do Lipo-JICG através de IFAs. Foi observado um viés na intensidade do Lipo-JICG para a amostra 100% SO₂ – controle, sendo o valor da intensidade três vezes maior que para a amostra 70% SO₂ – controle. Contudo, quanto a avaliação da mudança de SO₂, foi obtido o valor de ΔSO_2 de $22 \pm 4\%$ entre as amostras 70% SO₂ – 0,9 OD e 100% SO₂ – 0,9 OD, apresentando uma variação menor que 10% quando comparado a variação esperada de $30,0\% \pm 1,5\%$, que foi calculada com os valores de SO₂ obtidos com o CO – oxímetro e, para as amostras 70% SO₂ – controle e 100% SO₂ – controle, foi obtido o valor de ΔSO_2 de $25 \pm 3\%$, resultando em uma variação menor que 5% quando comparada a variação de SO₂ esperada. Estes resultados mostram que o viés de 10% se mantém mesmo que para uma profundidade maior que 1 cm.

5.3.4. Discussão e conclusão

Observou-se dos gráficos apresentados na Figura 52(a) e 52(b) que o Lipo-JICG apresenta um platô em sua densidade óptica, quando analisado entre os comprimentos de onda 760 a 830 nm. Portanto, IFAs nessa faixa de comprimentos de onda devem ser usadas no cálculo de SO₂ já que entre esses mesmos comprimentos de onda a densidade óptica de Hb e HbO₂ são distintas e frequentemente utilizadas para se obter estimativas de SO₂, como pode ser visto no gráfico da Figura 51(b).

Foi definida uma amostra de sangue 10%-v/v para realização de experimentos de caracterização do Lipo-JICG, pois 10%-v/v apresenta estabilidade ao longo de 45 minutos de experimento, podendo ser utilizada para simular condições similares a concentração de hemoglobina nos tecidos. Nestas condições, o uso do Lipo-JICG pouco interfere na quantificação de SO_2 como pode ser observado na Tabela 8. Por outro lado, o ICG é suscetível a erros de quantificação de SO_2 , enquanto há pouca interferência na quantificação de Lipo-JICG. Dessa forma, a sobreposição dos espectros do ICG com a hemoglobina prejudica a acurácia da estimativa de SO_2 e também quantificar a concentração de ICG.

Este estudo mostrou que o Lipo-JICG oferece vantagens em relação ao ICG, sendo observado que amostras de mesma concentração molar na proporção 1:5 em sangue 10%-v/v, o novo agente de contraste pode ser detectado em profundidades maiores que 1 cm, mostrando também que tem pouca ou menor influência nas medidas de SO_2 . Portando, para qualquer conclusão acerca do biomarcador de interesse através do uso de agentes de contraste, existe um grande potencial para utilização do Lipo-JICG em pesquisas ou aplicações relacionadas a terapia e diagnóstico de câncer, pois o Lipo-JICG é construído com substâncias aprovadas para uso pelo FDA e pôde ser utilizado em experimentos com condições análogas às encontradas *in vivo*, que foram aqui estudadas por meio do desenvolvimento de *phantoms* e validação por meio de IFA obtida com o MSOT para obtenção de estimativas de SO_2 .

6. Conclusões e perspectivas futuras

Os estudos de formação de IXA com US e transdutor diagnóstico por imagem proveram um método de análise com o qual foi possível, obter correlações de dose com a intensidade da IXA. Por meio da análise da IXA foram observadas as seguintes características, a dependência com a energia do feixe de raios-X e da dose com a profundidade em água, que é de relevância para a dosimetria em ambientes de radioterapia. Para isso foi desenvolvido um método de simulação com o qual é possível obter IXAs simuladas. As comparações entre os resultados simulados e experimentais foi relevante, pois permitiu explorar melhor o US diagnóstico por imagem, permitindo contornar nossas limitações impostas por tal aparelho, embora não foi possível detectar sinais XA da interface da borda com campo de raios-X na água. Em termos teóricos, os estudos mostraram que há de se observar a influência dos fótons com menor energia em uma faixa menor que 1 MeV na geração dos sinais XA e sua possível influencia na intensidade da IXA e em termos de análise, aplicamos com sucesso um método de redução de ruído que propiciou meios de analisar as IXAs de uma forma inédita na literatura, entregando resultados condizentes com os valores de dose calculados por meio das simulações. Os próximos passos desse desenvolvimento seriam utilizar hardware de aquisição paralela e transdutores com uma banda de resposta em frequência otimizada para formação de IXAs.

Os estudos de formação de IFAs consistiram em desenvolver métodos de aprimorar as medidas de SO_2 em sangue por meio de máscaras de redução de ruído da IFA. Foram desenvolvidos *phantoms* contendo sangue com valores controlado de SO_2 com os quais foram estudadas as limitações da IFA em termos da profundidade e influência do ruído na medida de SO_2 . Este estudo propiciou alguns métodos de redução de erro na estimativa de SO_2 por caracterização de ruído, com o qual foi possível sugerir o uso de máscaras que removem pontos da IFA que influenciam nas estimativas de SO_2 . Além disso, o Lipo-JICG foi proposto como um novo agente de contraste para IFA, mostrando sua sensibilidade em conjunto a biomarcadores por meio de experimentos realizados em *phantom*. Em especial, mostramos que a presença de Lipo-JICG no volume de interesse não se sobrepõe a hemoglobina, pouco influenciando a estimativa de SO_2 por IFA.

7. Produção científica

Os trabalhos apresentados em congresso ao longo deste trabalho de doutorado e os artigos para publicar ou que já foram publicados são listados a seguir:

7.1. Congressos

Foz do Iguaçu, Brasil, mai/2015

ULIANA, J. H.; CARNEIRO, A. A. O.; SAMPAIO, D. R. T.; PAVAN, T. Z. Photoacoustic mapping temperature and spatial distribution of magnetic nanoparticles. In: XXXVIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, 2015, Foz do Iguaçu. XXXVIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, 2015.

Rio de Janeiro, Brasil, ago/2015

D. R. T. Sampaio, A. A. O. Carneiro e T. Z. Pavan, “Desenvolvimento de um protocolo de investigação de doenças neurológicas utilizando imagens de ultrassonografia e fotoacústica”, in Congresso Brasileiro de Física Médica (CBFM), 2015 ABFM, 2015.

Taipei, Taiwan, set/2015

D. R. T. Sampaio, J. H. Uliana, A. A. O. Carneiro, J. F. Pavoni, T. Z. Pavan, e L. F. Borges, “X-ray acoustic imaging for external beam radiation therapy dosimetry using a commercial ultrasound scanner”, in *Ultrasonics Symposium (IUS), 2015 IEEE International*, 2015, p. 1–4.

Taipei, Taiwan, set/2015

L. C. CABRELLI, D. R. T. SAMPAIO, J. H. ULIANA, A. A. O. CARNEIRO, T. Z. PAVAN, E A. M. DE ANA, “Copolymer-in-oil phantoms for photoacoustic imaging”, in *Ultrasonics Symposium (IUS), 2015 IEEE International*, 2015, p. 1–4.

Natal, Brasil, maio/2016

SAMPAIO, D. R. T.; BORGES, L. F. ; CARNEIRO, A. A. O. ; PAVONI, J. F. ; PAVAN, T. Z. . X-ray acoustic imaging for external beam radiotherapy dosimetry. In: XXXIX National Meeting on Condensed Matter Physics, 2016, Natal. XXXIX National Meeting on Condensed Matter Physics, 2016. v. 1.

Tours, França, set/2016

ULIANA, JOAO H. ; SAMPAIO, DIEGO R. T. ; CARNEIRO, ANTONIO A. O. ; PAVAN, THEO Z. . Optimizing photoacoustic-based thermal image formation by comparing four different methods. In: 2016 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS), 2016, Tours. 2016 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS), 2016. p. 1.

Foz do Iguaçu, Brasil, out/2016

DIEGO R. T. SAMPAIO, FELIPE W. GRILLO, MARJORY L. F. DA COSTA, HERMES A. S. KAMIMURA, ANTONIO A. A. CARNEIRO, THEO Z. PAVAN. Caracterização do processo de formação de coágulos por imagens de espectroscopia fotoacústica. In: XXV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica – CBEB 2016. Foz do Iguaçu. XXV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2016. v. 1.

Denver, EUA, jul/2017

SAMPAIO, D. R. T.; MARTINS., A. A. F.; CARNEIRO, A. A. O.; PAVONI, J. F.; PAVAN, T. Z. X-Ray Acoustic Imaging: Towards Radiation Dose Assessment During Teletherapy In: AAPM 59th Annual Meeting & Exhibition, 2017, Denver. AAPM 59th Annual Meeting & Exhibition. 2017.

Washington, EUA, set/2017

GRILLO, FELIPE W.; CABRELLI, LUCIANA C.; SAMPAIO, DIEGO R. T.; CARNEIRO, ANTONIO A. O.; PAVAN, THEO Z. Glycerol in oil-based phantom with improved performance for photoacoustic imaging In: 2017 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS), 2017, Washington. 2017 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS). IEEE, 2017. p.1

Washington, EUA, set/2017

HADADIAN, YASER; RAMOS, ANA PAULA; SAMPAIO, DIEGO; CARNEIRO, ANTONIO; PAVAN, THEO. Magneto-motive ultrasound imaging using superparamagnetic ferrite nanoparticles with enhanced saturation magnetization synthesized by a simple coprecipitation method In: 2017 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS), 2017, Washington. 2017 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS). IEEE, 2017. p.1

Ribeirão Preto, Brasil, set/2017

ULIANA, JOAO H.; SAMPAIO, D. R. T.; PAVAN, T. Z. Optimização da termometria por imagens fotoacústicas utilizando algoritmos genéticos In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA, 2017, Ribeirão Preto. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA., 2017.

Ribeirão Preto, Brasil, set/2017

SAMPAIO, D. R. T.; PAVONI, J. F.; CARNEIRO, A. A. O.; PAVAN, T. Z. Um estudo teórico relativo à dosimetria de acelerador linear por raios X acústico In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA, 2017, Ribeirão Preto. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA. , 2017.

Ribeirão Preto, Brasil, set/2017

CABRELLI, LUCIANA C.; GRILLO, F. W.; SAMPAIO, D. R. T.; CARNEIRO, A. A. O.; PAVAN, T. Z. VIABILIDADE DE PHANTOMS DE GEL DE SEBS/GLICEROL PARA IMAGEM POR FOTOACÚSTICA In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA, 2017, Ribeirão Preto. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FÍSICA MÉDICA. 2017.

Houston, EUA, mar/2018

BOUCHARD, RICHARD; NASER, MOHAMED; GONZALEZ MUNOZ, NINA; TAGHAVI, HOURA; MALDONADO, KIERSTEN; KINGSLEY, CHARLES; AVRITSCHER, RONY; SAMPAIO, DIEGO; MITCHAM, TREVOR Imaging biomarker development based on microbubble perfusion and oxygen saturation in a rat model of liver cancer In: Ultrasonic Imaging and Tomography, 2018, Houston. Medical Imaging 2018: Ultrasonic Imaging and Tomography. SPIE, 2018. p.2

Nashville, EUA, jul/2018

D SAMPAIO, M NASER, T MITCHAM, C WOOD, J PAVONI, T PAVAN, R BOUCHARD. Removing Noise Bias in Photoacoustic-Based SO₂ Estimates: A Simple Empirical SNR-Adaptive Thresholding Approach. In: AAPM 60th Annual Meeting & Exhibition, 2018, Nashville. AAPM 60th Annual Meeting & Exhibition. 2018.

Nashville, EUA, jul/2018

C DOMINGUEZ, D SAMPAIO, C ALBINO, R PALMA-DIBB, J VON DER WEID, L BACHMANN. Optical Characterization of Bovine Tooth Using Near-IR Optical Coherence Tomography. In: AAPM 60th Annual Meeting & Exhibition, 2018, Nashville. AAPM 60th Annual Meeting & Exhibition. 2018.

7.2. Artigos publicados

LUCIANA C.CABRELLI, FELIPE W.GRILLO, DIEGO R.T.SAMPAIO, ANTONIO A.O.CARNEIRO, THEO Z.PAVAN. Acoustic and Elastic Properties of Glycerol in Oil-Based Gel Phantoms. Ultrasound in Medicine & Biology, 2017.

YASER HADADIAN, DIEGO RT SAMPAIO, ANA P RAMOS, ANTONIO AO CARNEIRO, MORTEZA MOZAFFARI, LUCIANA C CABRELLI, THEO Z PAVAN. Synthesis and characterization of zinc substituted magnetite nanoparticles and their application to magneto-motive ultrasound imaging. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2018.

ARSALANI, SAEIDEH ; ARSALANI, SOUDABEH ; HADADIAN, YASER ; SAMPAIO, DIEGO R T ; BAFFA, OSWALDO ; PAVAN, THEO Z ; CARNEIRO, ANTONIO ADILTON O . The effect of magnetization of natural rubber latex-coated magnetite nanoparticles on shear wave dispersion magneto-motive ultrasound. Physics in Medicine and Biology, v. 64, p. 215019, 2019.

ULIANA, JOÃO HENRIQUE ; SAMPAIO, DIEGO RONALDO THOMAZ ; CARNEIRO, ANTONIO ADILTON OLIVEIRA ; PAVAN, THEO ZEGERINO . Photoacoustic-based thermal image formation and optimization using an evolutionary genetic algorithm. RESEARCH ON BIOMEDICAL ENGINEERING, v. 34, p. 147-156, 2018.

MOHAMED A NASER, DIEGO RT SAMPAIO, NINA M MUÑOZ, CAYLA A WOOD, TREVOR M MITCHAM, WOLFGANG STEFAN, KONSTANTIN V SOKOLOV, THEO Z PAVAN, RONY AVRITSCHER, RICHARD R BOUCHARD. Improved photoacoustic-based oxygen saturation estimation with SNR-regularized local fluence correction. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2019.

CAYLA WOOD, KARINE HARUTYUNYAN, DIEGO RT SAMPAIO, MARINA KONOPLEVA, RICHARD BOUCHARD. Photoacoustic-based oxygen saturation assessment of murine femoral bone marrow in a preclinical model of leukemia. Photoacoustics, 2019.

7.3. Em processo de submissão ou submetido

DIEGO R. T. SAMPAIO, CAROLINA C. YALY, ANTONIO A. O. CARNEIRO, JULIANA F. PAVONI, AND THEO Z. PAVAN. Dose assessment of external beam radiation therapy through x-ray acoustic imaging with clinical ultrasound scanner

DIEGO R. T. SAMPAIO, MOHAMED A. NASER, JEREMIAH J. HESS, TREVOR M. MITCHAM, CAYLA WOOD, THEO Z. PAVAN, AND RICHARD R. BOUCHARD. Noise thresholding for photoacoustic imaging;

8. Referências

- ABRANTES, A. M. et al. Metabolic effects of hypoxia in colorectal cancer by ^{13}C NMR isotopomer analysis. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 759791, 2014.
- ACITO, N.; DIANI, M.; CORSINI, G. Signal-Dependent Noise Modeling and Model Parameter Estimation in Hyperspectral Images. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing**, v. 49, n. 8, p. 2957–2971, ago. 2011.
- AJA-FERNÁNDEZ, S.; VEGAS-SÁNCHEZ-FERRERO, G. Statistical Noise Models for MRI. In: **Statistical Analysis of Noise in MRI**. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 31–71.
- ALIROTEH, M. S.; SCOTT, G.; ARBABIAN, A. Frequency-modulated magneto-acoustic detection and imaging. **Electronics Letters**, v. 50, n. 11, p. 790–792, Maio 2014.
- AMADO, A. M. et al. Effect of metallization on porphyrin photoacoustic response. **Chemical Physics Letters**, v. 738, p. 136875, 1 jan. 2020.
- ARRIDGE, S. R. Optical tomography in medical imaging. **Inverse Problems**, v. 15, n. 2, p. R41, 1999.
- ASSMANN, W. et al. Ionoacoustic characterization of the proton Bragg peak with submillimeter accuracy. **Medical Physics**, v. 42, n. 2, p. 567–574, fev. 2015.
- ATTIX, F. H. **Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2008.
- BAILY, N. A. A review of the processes by which ultrasound is generated through the interaction of ionizing radiation and irradiated materials: Some possible applications. **Medical Physics**, v. 19, n. 3, p. 525–532, 1 maio 1992.
- BALDOCK, C. et al. Polymer gel dosimetry. **Physics in Medicine and Biology**, v. 55, n. 5, p. R1, 2010.
- BAYER, C. L. et al. Ultrasound-guided spectral photoacoustic imaging of hemoglobin oxygenation during development. **Biomedical Optics Express**, v. 8, n. 2, p. 757–763, 1 fev. 2017.
- BEARD, P. Biomedical photoacoustic imaging. **Interface Focus**, v. 1, n. 4, p. 602–631, 6 ago. 2011.
- BEAULIEU, L.; BEDDAR, S. Review of plastic and liquid scintillation dosimetry for photon, electron, and proton therapy. **Physics in Medicine and Biology**, v. 61, n. 20, p. R305–R343, out. 2016.
- BELL, A. G. On the production and reproduction of sound by light. **American Journal of Science**, v. s3-20, n. 118, p. 305–324, 1 out. 1880.
- BEZIERE, N. et al. Dynamic imaging of PEGylated indocyanine green (ICG) liposomes within the tumor microenvironment using multi-spectral optoacoustic tomography (MSOT). **Biomaterials**, v. 37, p. 415–424, 1 jan. 2015.
- BISWAS, D. et al. Quantitative photoacoustic characterization of blood clot in blood: A mechanobiological assessment through spectral information. **Review of Scientific Instruments**, v. 88, n. 2, p. 024301, 1 fev. 2017.
- BLOCH, P. et al. Determining clinical photon beam spectra from measured depth dose with the Cimmino algorithm. **Physics in Medicine and Biology**, v. 45, n. 1, p. 171, 2000.

BOUCHARD, R.; SAHIN, O.; EMELIANOV, S. Ultrasound-guided photoacoustic imaging: current state and future development. **IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control**, v. 61, n. 3, p. 450–466, mar. 2014.

BOWEN, T. et al. Observation of ultrasonic emission from edges of therapeutic X-ray beams. **Physics in Medicine and Biology**, v. 36, n. 4, p. 537, 1991.

BRUALLA, L. et al. PENELOPE/PRIMO-calculated photon and electron spectra from clinical accelerators. **Radiation Oncology**, v. 14, n. 1, p. 6, 11 jan. 2019.

BUSHBERG, J. T. et al. **The Essential Physics of Medical Imaging**. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

COOK, J. R. J. R.; BOUCHARD, R. R. R.; EMELIANOV, S. Y. S. Y. Tissue-mimicking phantoms for photoacoustic and ultrasonic imaging. **Biomedical Optics Express**, v. 2, n. 11, p. 3193–3206, nov. 2011.

COX, B. T.; LAUFER, J. G.; BEARD, P. C. **The challenges for quantitative photoacoustic imaging**. 2009Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1117/12.806788>>. Acesso em: 2 maio. 2016

CYWIAK, D. et al. A One-Dimensional Solution of the Photoacoustic Wave Equation and its Relationship with Optical Absorption. **International Journal of Thermophysics**, v. 34, n. 8–9, p. 1473–1480, 1 set. 2013.

DIAO, X. et al. **Broadband detection of dynamic acoustic emission process induced by 6 MV therapeutic X-ray beam from a clinical linear accelerator**. Ultrasonics Symposium (IUS), 2015 IEEE International. **Anais...** In: ULTRASONICS SYMPOSIUM (IUS), 2015 IEEE INTERNATIONAL. Outubro 2015

EMELIANOV, S. Y.; LI, P.-C.; O'DONNELL, M. Photoacoustics for molecular imaging and therapy. **Physics today**, v. 62, n. 8, p. 34–39, 1 maio 2009.

FANTINI, S. Dynamic model for the tissue concentration and oxygen saturation of hemoglobin in relation to blood volume, flow velocity, and oxygen consumption: Implications for functional neuroimaging and coherent hemodynamics spectroscopy (CHS). **NeuroImage**, v. 85 Pt 1, n. 0 1, p. 202–21, jan. 2014.

FIPPEL, M. et al. A virtual photon energy fluence model for Monte Carlo dose calculation. **Medical Physics**, v. 30, n. 3, p. 301–311, mar. 2003.

FOSTER, R. D.; SPEISER, M. P.; SOLBERG, T. D. Commissioning and verification of the collapsed cone convolution superposition algorithm for SBRT delivery using flattening filter-free beams. **Journal of Applied Clinical Medical Physics**, v. 15, n. 2, 2014.

FOWLER, J. F. 21 years of Biologically Effective Dose. **The British Journal of Radiology**, v. 83, n. 991, p. 554, jul. 2010.

GAO, G.; YANG, S.; XING, D. Viscoelasticity imaging of biological tissues with phase-resolved photoacoustic measurement. **Optics Letters**, v. 36, n. 17, p. 3341–3343, Setembro 2011.

GARCIA, M. E.; PASTOR, G. M.; BENNEMANN, K. H. Theory for the Photoacoustic Response to X-Ray Absorption. **Physical Review Letters**, v. 61, n. 1, p. 121–124, 4 jul. 1988.

GASKELL, D. R. **Introduction to the Thermodynamics of Materials, Fifth Edition**. 5 edition ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

GEHRUNG, M.; BOHNDIEK, S. E.; BRUNKER, J. Development of a blood oxygenation phantom for photoacoustic tomography combined with online pO₂ detection and flow spectrometry. **Journal of Biomedical Optics**, v. 24, n. 12, p. 1–11, 2019.

GERLING, M. et al. Real-Time Assessment of Tissue Hypoxia In Vivo with Combined Photoacoustics and High-Frequency Ultrasound. **Theranostics**, v. 4, n. 6, p. 604–613, 18 mar. 2014.

GIBSON, A. P.; HEBDEN, J. C.; ARRIDGE, S. R. Recent advances in diffuse optical imaging. **Physics in Medicine and Biology**, v. 50, n. 4, p. R1, 2005.

GIZA, O. M. et al. Photoacoustic dose monitoring in clinical high-energy photon beams. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 5, n. 3, p. 035028, Abril 2019.

GLASER, A. K. et al. Optical dosimetry of radiotherapy beams using Cherenkov radiation: the relationship between light emission and dose. **Physics in Medicine and Biology**, v. 59, n. 14, p. 3789–3811, jun. 2014.

GLATZ, J. et al. Blind source unmixing in multi-spectral optoacoustic tomography. **Optics Express**, v. 19, n. 4, p. 3175–3184, 14 fev. 2011.

HALLENBECK, W. H. **Radiation Protection**. [s.l.] CRC Press, 1994.

HERZOG, E. et al. Optical imaging of cancer heterogeneity with multispectral optoacoustic tomography. **Radiology**, v. 263, n. 2, p. 461–468, maio 2012.

HICKLING, S. et al. Experimental evaluation of x-ray acoustic computed tomography for radiotherapy dosimetry applications. **Medical Physics**, 1 dez. 2016.

HICKLING, S.; LEGER, P.; EL NAQA, I. **Simulation and experimental detection of radiation-induced acoustic waves from a radiotherapy linear accelerator**. Ultrasonics Symposium (IUS), 2014 IEEE International. **Anais...** In: ULTRASONICS SYMPOSIUM (IUS), 2014 IEEE INTERNATIONAL. set. 2014

HICKLING, S.; LEGER, P.; NAQA, I. E. On the Detectability of Acoustic Waves Induced Following Irradiation by a Radiotherapy Linear Accelerator. **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control**, v. PP, n. 99, p. 1–1, 2016.

HILL, E. R. et al. Identification and removal of laser-induced noise in photoacoustic imaging using singular value decomposition. **Biomedical Optics Express**, v. 8, n. 1, p. 68–77, 5 dez. 2016.

HOMAN, K. A. et al. Silver Nanoplate Contrast Agents for in Vivo Molecular Photoacoustic Imaging. **ACS Nano**, v. 6, n. 1, p. 641–650, 2011.

HOWARD, P. J.; COPLEY, D. C.; GILMORE, R. S. A Signal-to-Noise Ratio Comparison of Ultrasonic Transducers for C-Scan Imaging. In: **Review of Progress in Quantitative Nondestructive Evaluation**. Boston, MA: Springer US, 1995. v. 14p. 2113–2120.

HU, S.; WANG, L. V. Photoacoustic imaging and characterization of the microvasculature. **Journal of Biomedical Optics**, v. 15, n. 1, p. 011101-011101–15, 2010.

HUSSAIN, A. et al. Quantitative blood oxygen saturation imaging using combined photoacoustics and acousto-optics. **Optics Letters**, v. 41, n. 8, p. 1720–1723, 15 abr. 2016.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **TRS-398**. [s.l.: s.n.].

JACQUES, S. L. Optical properties of biological tissues: a review. **Physics in Medicine and Biology**, v. 58, n. 11, p. R37-61, 7 jun. 2013.

JOHNS, H. E.; CUNNINGHAM, J. R. **Physics of Radiology, Fourth Edition**. 4 edition ed. Springfield, Ill., U.S.A: Charles C Thomas Pub Ltd, 1983.

KARPIOUK, A. B. et al. Combined ultrasound and photoacoustic imaging to detect and stage deep vein thrombosis: phantom and ex vivo studies. **Journal of Biomedical Optics**, v. 13, n. 5, p. 54061, 2008.

KAYE, G. W. C.; LABY, T. H. **Tables of physical and chemical constants**. [s.l.] Longman, 1995.

KAZAKEVICIUTE, A.; HO, C. J. H.; OLIVO, M. Multispectral Photoacoustic Imaging Artifact Removal and Denoising Using Time Series Model-Based Spectral Noise Estimation. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 35, n. 9, p. 2151–2163, set. 2016.

KHAN, F. M. **The Physics of Radiation Therapy**. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2010.

KIM, J. et al. Programmable Real-time Clinical Photoacoustic and Ultrasound Imaging System. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 12 out. 2016.

KIM, J. et al. X-Ray Acoustic-Based Dosimetry Using a Focused Ultrasound Transducer and a Medical Linear Accelerator. **IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences**, v. 1, n. 6, p. 534–540, nov. 2017.

KIM, S. et al. In vivo three-dimensional spectroscopic photoacoustic imaging for monitoring nanoparticle delivery. **Biomedical optics express**, v. 2, n. 9, p. 2540–50, set. 2011.

KODACH, V. M. et al. Quantitative comparison of the OCT imaging depth at 1300 nm and 1600 nm. **Biomedical Optics Express**, v. 1, n. 1, p. 176–185, 2 ago. 2010.

KRUGER, R. A. Photoacoustic ultrasound. **Medical Physics**, v. 21, n. 1, p. 127–131, jan. 1994.

KRUGER, R. A.; LIU, P. Photoacoustic ultrasound: pulse production and detection of 0.5% Liposyn. **Medical Physics**, v. 21, n. 7, p. 1179–1184, jul. 1994.

LAUFER, J.; ZHANG, E.; BEARD, P. **Quantitative in-vivo measurements of blood oxygen saturation using multiwavelength photoacoustic imaging**. 2007Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1117/12.700297>>. Acesso em: 1 dez. 2015

LEI, H. et al. Toward in vivo dosimetry in external beam radiotherapy using x-ray acoustic computed tomography: A soft-tissue phantom study validation. **Medical Physics**, v. 45, n. 9, p. 4191–4200, 2018.

LI, M.; TANG, Y.; YAO, J. Photoacoustic tomography of blood oxygenation: A mini review. **Photoacoustics**, v. 10, p. 65–73, 1 jun. 2018.

LI, W.; CHEN, X. Gold nanoparticles for photoacoustic imaging. **Nanomedicine**, v. 10, n. 2, p. 299–320, 1 jan. 2015.

LIMA, A.; BAKKER, J. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, n. 3, p. 341–351, set. 2011.

LOW, D. A. et al. Dosimetry tools and techniques for IMRT. **Medical Physics**, v. 38, n. 3, p. 1313–1338, 1 mar. 2011.

LUKE, G. P.; NAM, S. Y.; EMELIANOV, S. Y. Optical wavelength selection for improved spectroscopic photoacoustic imaging. **Photoacoustics**, v. 1, n. 2, p. 36–42, 2013.

MA, C.-M.; LI, J. Dose specification for radiation therapy: dose to water or dose to medium? **Physics in Medicine & Biology**, v. 56, n. 10, p. 3073, 2011.

MANIKANDAN, S. et al. Multilevel thresholding for segmentation of medical brain images using real coded genetic algorithm. **Measurement**, v. 47, p. 558–568, 1 jan. 2014.

MANOHARA, S. R.; HANAGODIMATH, S. M.; GERWARD, L. Energy absorption buildup factors of human organs and tissues at energies and penetration depths relevant for radiotherapy and diagnostics. **Journal of Applied Clinical Medical Physics**, v. 12, n. 4, p. 296–312, 1 set. 2011.

MARCHETTI, C. et al. Targeted drug delivery via folate receptors in recurrent ovarian cancer: a review. **OncoTargets and Therapy**, v. 7, p. 1223–1236, 2014.

MASSEY, F. J. The Kolmogorov-Smirnov Test for Goodness of Fit. **Journal of the American Statistical Association**, v. 46, n. 253, p. 68–78, mar. 1951.

MCNALLY, L. R. et al. Current and Emerging Clinical Applications of Multispectral Optoacoustic Tomography (MSOT) in Oncology. **Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research**, v. 22, n. 14, p. 3432–3439, 15 2016.

MIJNHEER, B. et al. In vivo dosimetry in external beam radiotherapy. **Medical Physics**, v. 40, n. 7, p. 070903, 1 jul. 2013.

MITCHAM, T. et al. Photoacoustic imaging driven by an interstitial irradiation source. **Photoacoustics**, v. 3, n. 2, p. 45–54, 1 jun. 2015.

MITCHAM, T. et al. Photoacoustic-based SO₂ estimation through excised bovine prostate tissue with interstitial light delivery. **Photoacoustics**, v. 7, p. 47–56, set. 2017.

MOZAFFARZADEH, M. et al. The double-stage delay-multiply-and-sum image reconstruction method improves imaging quality in a LED-based photoacoustic array scanner. **Photoacoustics**, v. 12, p. 22–29, dez. 2018.

NASER, M. A. et al. Improved photoacoustic-based oxygen saturation estimation with SNR-regularized local fluence correction. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, p. 1–1, 2018.

NASER, M. A. et al. Improved Photoacoustic-Based Oxygen Saturation Estimation With SNR-Regularized Local Fluence Correction. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 38, n. 2, p. 561–571, fev. 2019.

NEEDLES, A. et al. Development and initial application of a fully integrated photoacoustic micro-ultrasound system. **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control**, v. 60, n. 5, p. 888–897, maio 2013a.

NEEDLES, A. et al. Development and initial application of a fully integrated photoacoustic micro-ultrasound system. **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control**, v. 60, n. 5, p. 888–897, maio 2013b.

NEUSCHMELTING, V. et al. Performance of a Multispectral Optoacoustic Tomography (MSOT) System equipped with 2D vs. 3D Handheld Probes for Potential Clinical Translation. **Photoacoustics**, v. 4, n. 1, p. 1–10, 1 mar. 2016.

NIST: X-Ray Mass Attenuation Coefficients - Introduction. Disponível em: <<http://physics.nist.gov/PhysRefData/XrayMassCoef/>>. Acesso em: 28 nov. 2016.

NTZIACHRISTOS, V. et al. Looking and listening to light: the evolution of whole-body photonic imaging. **Nature Biotechnology**, v. 23, n. 3, p. 313–320, mar. 2005.

OKUNO, E. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. **Estudos Avançados**, v. 27, n. 77, p. 185–200, 2013.

OTSU, N. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. **IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics**, v. 9, n. 1, p. 62–66, jan. 1979.

PARK, S. et al. Adaptive beamforming for photoacoustic imaging. **Optics letters**, v. 33, n. 12, p. 1291–1293, 15 jun. 2008.

PAVAN, T. Z.; CARNEIRO, A. A. O.; EMELIANOV, S. Y. Imagens da interação de luz e som no corpo humano. v. 50, n. 297, p. 38–40, out. 2012.

RAJIAN, J. R. et al. Drug delivery monitoring by photoacoustic tomography with an ICG encapsulated double emulsion. **Optics express**, v. 19, n. 15, p. 14335–14347, 2011.

RAZANSKY, D.; BUEHLER, A.; NTZIACHRISTOS, V. Volumetric real-time multispectral optoacoustic tomography of biomarkers. **Nature Protocols**, v. 6, n. 8, p. 1121–1129, ago. 2011.

REN, Z.; LIU, G.; XIONG, Z. **Photoacoustic signals denosing of the glucose aqueous solutions using an improved wavelet threshold method**. 2016Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1117/12.2244281>>

RICH, L. J.; SESHADRI, M. Photoacoustic monitoring of tumor and normal tissue response to radiation. **Scientific Reports**, v. 6, p. 21237, 2016.

RICHARD S. C. COBBOLD. **Foundations of Biomedical Ultrasound**. [s.l.] Oxford University Press, 2006.

SACHSE, W.; KIM, K. Y. **Observation of X-Ray Generated Ultrasound**. 1983 Ultrasonics Symposium. **Anais...** In: 1983 ULTRASONICS SYMPOSIUM. out. 1983

SAMPAIO, D. R. T. et al. **X-ray acoustic imaging for external beam radiation therapy dosimetry using a commercial ultrasound scanner**. Ultrasonics Symposium (IUS), 2015 IEEE International. **Anais...** In: ULTRASONICS SYMPOSIUM (IUS), 2015 IEEE INTERNATIONAL. Outubro 2015

SAMPAIO, D. R. T. et al. A magneto-motive ultrasound platform designed for pre-clinical and clinical applications. **Research on Biomedical Engineering**, v. 32, n. 4, p. 337–346, dez. 2016.

SANGHA, G. S.; PHILLIPS, E. H.; GOERGEN, C. J. In vivo photoacoustic lipid imaging in mice using the second near-infrared window. **Biomedical Optics Express**, v. 8, n. 2, p. 736, fev. 2017.

SARDARI, D. et al. Measurement of depth-dose of linear accelerator and simulation by use of Geant4 computer code. **Reports of Practical Oncology and Radiotherapy**, v. 15, n. 3, p. 64–68, 20 maio 2010.

SCARANTINO, C. W. et al. An implantable radiation dosimeter for use in external beam radiation therapy. **Medical Physics**, v. 31, n. 9, p. 2658–2671, 27 ago. 2004.

SCHMITT, J. M. Optical coherence tomography (OCT): a review. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 5, n. 4, p. 1205–1215, jul. 1999.

SEMPAU, J. et al. An algorithm for Monte Carlo simulation of coupled electron-photon transport. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 132, n. 3, p. 377–390, 1 nov. 1997.

SHIVARAMU, NULL. Effective atomic numbers for photon energy absorption and photon attenuation of tissues from human organs. **Medical Dosimetry: Official Journal of the American Association of Medical Dosimetrists**, v. 27, n. 1, p. 1–9, 2002.

SONTAG, M. R.; STEINBERG, T. H. Performance and beam characteristics of the Siemens Primus linear accelerator. **Medical Physics**, v. 26, n. 5, p. 734–736, maio 1999.

STEWART, G. D. et al. The relevance of a hypoxic tumour microenvironment in prostate cancer. **BJU International**, v. 105, n. 1, p. 8–13, 2010.

SUN, J. M.; GERSTMAN, B. S. Photoacoustic generation for a spherical absorber with impedance mismatch with the surrounding media. **Physical Review E**, v. 59, n. 5, p. 5772–5789, Maio 1999.

SZABO, T. L. **Diagnostic Ultrasound Imaging: Inside Out**. [s.l.] Academic Press, 2004.

TAM, A. C. Applications of photoacoustic sensing techniques. **Reviews of Modern Physics**, v. 58, n. 2, p. 381–431, 1 abr. 1986.

TARUTTIS, A. et al. Fast multispectral optoacoustic tomography (MSOT) for dynamic imaging of pharmacokinetics and biodistribution in multiple organs. **PloS one**, v. 7, n. 1, p. e30491, jan. 2012.

TREEBY, B. E.; COX, B. T. k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave fields. **Journal of Biomedical Optics**, v. 15, n. 2, p. 021314-021314–12, 2010.

TZOUMAS, S. et al. Unmixing Molecular Agents From Absorbing Tissue in Multispectral Optoacoustic Tomography. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 33, n. 1, p. 48–60, jan. 2014a.

TZOUMAS, S. et al. Spatiospectral denoising framework for multispectral optoacoustic imaging based on sparse signal representation. **Medical Physics**, v. 41, n. 11, p. n/a-n/a, 1 nov. 2014b.

TZOUMAS, S. et al. Eigenspectra optoacoustic tomography achieves quantitative blood oxygenation imaging deep in tissues. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 30 jun. 2016.

VAN ELMPT, W. et al. A literature review of electronic portal imaging for radiotherapy dosimetry. **Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology**, v. 88, n. 3, p. 289–309, set. 2008.

WALSH, J. T. et al. Pulsed Laser Tissue Interaction. In: WELCH, A. J.; GEMERT, M. J. C. VAN (Eds.). . **Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue**. [s.l.] Springer Netherlands, 2010. p. 617–649.

WANG, L. V. Photoacoustic Tomography. In: WELCH, A. J.; GEMERT, M. J. C. VAN (Eds.). . **Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue**. [s.l.] Springer Netherlands, 2010. p. 743–760.

WANG, L. V.; WU, H. **Biomedical Optics: Principles and Imaging**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2012.

WANG, L. V.; YAO, J. A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences. **Nature Methods**, v. 13, n. 8, p. 627–638, ago. 2016.

WANG, S. et al. Recent Advances in Photoacoustic Imaging for Deep-Tissue Biomedical Applications. **Theranostics**, v. 6, n. 13, p. 2394–2413, 7 out. 2016.

WANG, X. et al. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain. **Nature Biotechnology**, v. 21, n. 7, p. 803–806, jul. 2003.

WELVAERT, M.; ROSSEEL, Y. On the Definition of Signal-To-Noise Ratio and Contrast-To-Noise Ratio for fMRI Data. **PLOS ONE**, v. 8, n. 11, p. e77089, 6 nov. 2013.

WILSON, T. et al. The Ultrasonix 500RP: a commercial ultrasound research interface. **IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control**, v. 53, n. 10, p. 1772–1782, out. 2006.

XIANG, L. et al. X-ray acoustic computed tomography with pulsed x-ray beam from a medical linear accelerator. **Medical Physics**, v. 40, n. 1, jan. 2013.

XU, G. et al. Photoacoustic spectrum analysis for microstructure characterization in biological tissue: A feasibility study. **Applied Physics Letters**, v. 101, n. 22, p. 221102, 26 nov. 2012.

XU, G. et al. High resolution Physio-chemical Tissue Analysis: Towards Non-invasive In Vivo Biopsy. **Scientific Reports**, v. 6, 4 fev. 2016.

XU, M.; WANG, L. V. Photoacoustic imaging in biomedicine. **Review of Scientific Instruments**, v. 77, n. 4, p. 041101, 1 abr. 2006.

YANG, N. C.; LEICHNER, P. K.; HAWKINS, W. G. Effective atomic numbers for low-energy total photon interactions in human tissues. **Medical Physics**, v. 14, n. 5, p. 759–766, 1 set. 1987.

YAO, D.-K. et al. Photoacoustic measurement of the Grüneisen parameter of tissue. **Journal of Biomedical Optics**, v. 19, n. 1, p. 17007, jan. 2014.

ZHOU, M. et al. Theranostic probe for simultaneous in vivo photoacoustic imaging and confined photothermalolysis by pulsed laser at 1064 nm in 4T1 breast cancer model. **Nanoscale**, v. 6, n. 24, p. 15228–15235, 20 nov. 2014.