UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À
MEDICINA E BIOLOGIA

Monitoramento de temperatura tecidual por meio de imagens
fotoacústicas durante tratamentos de hipertermia

João Henrique Uliana

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Mestre em Ciências, Área: Física Aplicada à
Medicina e Biologia.

RIBEIRÃO PRETO-SP

2016

JOÃO HENRIQUE ULIANA

Monitoramento de temperatura tecidual por meio de imagens
fotoacústicas durante tratamentos de hipertermia.

Dissertação apresentada à
Faculdade de Filosofia, Ciências e
Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Área de Concentração:

Física Aplicada à Medicina e
Biologia

Orientador:

Theo Zeferino Pavan

Versão Corrigida

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.

Uliana, João Henrique

Monitoramento de temperatura tecidual por meio de imagens fotoacústicas durante tratamentos de hipertermia. Ribeirão Preto, 2016.

73 p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador: Theo Zeferino Pavan.

1. Ultrassom. 2. Fotoacústica. 3. Hipertermia. 4. Ultrassom focalizado de alta intensidade. 5. Imagem térmica.

Nome: ULIANA, João Henrique

Título: Monitoramento de temperatura tecidual por meio de imagens fotoacústicas durante tratamentos de hipertermia.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Cláudia, minha irmã Carolina, meus amigos e colegas da faculdade que sempre ajudaram de alguma forma.

Aos professores do Departamento de Física, em especial ao prof. Theo Zeferino Pavan pela orientação e dedicação e ao prof. Dr. Antônio Adilton O. Carneiro pela ajuda extra. Aos técnicos do departamento, Agnelo e Carlos Renato.

Aos colegas do GIIMUS: Michele, Felipe, Danilo, Arthur, Alexandre, Hermes, Tenyson, Guilherme, Isabelle, Letícia e Vivian. Em especial ao colega de laboratório Diego por toda a ajuda com o processamento de imagens, crucial para conclusão deste trabalho.

Este trabalho foi realizado com suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por meio do processo de número 2014/26598-2.

RESUMO

ULIANA, J.H. **Monitoramento de temperatura tecidual por meio de imagens fotoacústicas durante tratamentos de hipertermia.** 2016. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Sabe-se que o aumento na temperatura do tecido tumoral pode aumentar a eficiência de técnicas convencionais de combate ao câncer (radioterapia e quimioterapia). Além disso, a variação de temperatura em tumores pode ser uma forma de tratamento alternativo à cirurgia, feito por meio do fornecimento de calor direcionado às células cancerosas e preservando o tecido sadio. Para maior eficácia e segurança no emprego de técnicas que utilizam fornecimento de calor ao tecido biológico, é necessário o monitoramento da temperatura tecidual para garantir que a morte celular por ablação térmica seja limitada ao tecido alvo, minimizando os danos aos tecidos adjacentes. A imagem fotoacústica é uma técnica baseada no efeito fotoacústico, o qual consiste na absorção de radiação eletromagnética pelo tecido e, devido à expansão termoelástica, na geração de ondas acústicas. A amplitude da onda de pressão gerada pelo efeito fotoacústico possui dependência com a temperatura do meio pelo parâmetro de Grueneisen, que depende das propriedades mecânicas do material. Portanto, mudanças na amplitude do sinal fotoacústico carregam informações a respeito da variação na temperatura do material. Neste trabalho, a dependência da amplitude do sinal fotoacústico com a temperatura foi estudada em um material simulador de tecido biológico (*phantom*) em condições similares a de tratamentos por hipertermia. Nesse caso, imagens fotoacústicas foram adquiridas para cada grau de temperatura em uma faixa de 36 até 41 °C durante o procedimento de aquecimento por banho térmico. Mudanças na amplitude e fase do sinal fotoacústico foram avaliadas através da aplicação de algoritmos de *speckle tracking*. Para estimar a variação na amplitude do sinal também foram utilizados e avaliados diferentes métodos de comparação. Os resultados são apresentados por imagens fotoacústicas termais produzidas pela aplicação de um fator de calibração aos mapas de variação relativa da amplitude do sinal em função da temperatura do meio. Finalmente, avaliamos um

experimento de hipertemia por ultrassom focalizado de alta intensidade (*High Intensity Therapeutic Ultrasound - HITU*) em uma amostra de músculo suíno. Nesse caso foram geradas imagens termais fotoacústicas e imagens termais produzidas pela mudança de fase do sinal pulso-eco de ultrassom. Os resultados sugerem uma maneira não invasiva de calcular a distribuição da variação de temperatura do meio que pode ser aplicada para monitoramento durante tratamentos que utilizam o fornecimento de calor ao tecido biológico.

Palavras-chave: Ultrassom, Fotoacústica, Hipertermia, Ultrassom focalizado de alta intensidade, Imagem térmica.

ABSTRACT

ULIANA, J.H. **Tecidual temperature monitoring using photoacoustic images during hyperthermia treatments.** 2016. 73 p. Dissertation (Master) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Several studies have shown that elevating the temperature of tumoral tissue improves standard cancer treatments success rate (radiotherapy and chemotherapy). This procedure can also be a therapy to cancer by delivering heat and killing cancer cells while healthy tissues are preserved. For improved efficiency and security in heat applications, it is important to monitor tissue temperature during treatments. Photoacoustic (PA) pressure wave amplitude has a temperature dependence given by the sample mechanical properties (Grüneisen parameter). These changes in photoacoustic signal amplitude carry information about temperature variation in tissue. Therefore, PA has been proposed as an imaging technique to monitor temperature during hyperthermia. In this study, PA images were acquired for temperatures ranging from 36°C to 41°C using a tissue-mimicking phantom immersed in a temperature controlled thermal bath. Relative amplitude variation was calculated using speckle tracking algorithms using four different methods to estimate these variations in PA signal amplitude. The results are presented as PA-based thermal images, generated using a calibration factor to the percentage variations in the amplitude maps. Finally, PA-based and ultrasound-based thermal images were acquired during heating by high intensity focused ultrasound (High Intensity Therapeutic Ultrasound - HITU) in a porcine muscle. The results suggest a non-invasive way to monitor temperature during hyperthermia procedures.

Keywords: Ultrasound, Photoacoustics, Hyperthermia, High Intensity Focused Ultrasound, Thermal Imaging.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Especificações do aparelho de ultrassonografia.....	13
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração simplificada da formação da imagem pulso-eco e formação da imagem fotoacústica.....	3
Figura 2. Diagrama do aquecimento do tecido mole na região focal devido à maior densidade de energia acústica, adaptado da ref.[8].....	11
Figura 3. Esquema do sistema de aquisição de imagens fotoacústicas.....	14
Figura 4. Esquema do sistema para circulação e aquecimento da água.....	16
Figura 5. Arranjo experimental usado para o experimento da dependência da amplitude do sinal fotoacústico com a temperatura durante aquecimento por banho térmico.....	17
Figura 6. Transdutor com curvatura esférica de 5,0 cm de foco.....	21
Figura 7. Montagem experimental para estimativa de temperatura por deslocamento de eco e variação da amplitude do sinal fotoacústico em experimentos de <i>HITU</i>	23
Figura 8. Sincronização temporal para aquecimento por meio do transdutor focal e a aquisição de imagens fotoacústicas e imagens pulso-eco.....	24
Figura 9. Amostra de imagem de ultrassonografia convencional (pulso-eco) e imagem fotoacústica do <i>phantom</i> a 36 °C.....	25
Figura 10. Deslocamento aparente calculado para as imagens fotoacústicas entre 36 e 41 °C.....	26
Figura 11. Deslocamento médio das imagens fotoacústicas em função da variação da temperatura do meio.....	27
Figura 12. Deslocamento aparente calculado a partir dos sinais de pulso-eco obtidos em temperaturas entre 36 °C e 41 °C.....	28

Figura 13. Deslocamento médio das imagens pulso-eco em função da variação da temperatura do meio.....	30
Figura 14. Sinal da linha central das imagens fotoacústicas do <i>phantom</i> adquiridas a 36°C e 40°C antes e depois da aplicação do algoritmo de correção.....	31
Figura 15. Exemplo de imagens fotoacústicas termais formadas pelo valor pico-a-pico (PP) utilizando o processamento cumulativo e não-cumulativo.....	32
Figura 16. Média da variação positiva e variação negativa na amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do meio.....	33
Figura 17. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do <i>phantom</i> utilizando os valores pico-a-pico utilizando processamento cumulativo e não-cumulativo.....	34
Figura 18. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do <i>phantom</i> utilizando os valores integral do módulo do sinal utilizando processamento cumulativo e não-cumulativo.....	35
Figura 19. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do <i>phantom</i> utilizando os valores da correlação-cruzada entre sinais utilizando processamento cumulativo e não-cumulativo.....	36
Figura 20. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do <i>phantom</i> utilizando os valores da integral do espectro de potência utilizando processamento cumulativo e não-cumulativo.....	37
Figura 21. Desvio médio em função do tamanho da janela móvel expressa em termos do comprimento de onda e em função da temperatura para um comprimento de janela móvel fixa.....	38
Figura 22. SNR em função do comprimento da janela móvel e em função da temperatura usando um comprimento de janela móvel fixo.....	38

Figura 23. Desvio médio sem o processo de correção de fase do sinal fotoacústico em função do tamanho da janela móvel expressa em termos do comprimento de onda e em função da temperatura para um comprimento de janela móvel fixa.....	40
Figura 24. <i>SNR</i> sem a correção de fase em função do comprimento da janela móvel e em função da temperatura usando um comprimento de janela móvel fixo.....	41
Figura 25. Média dos valores das imagens fotoacústicas com correção de fase e sem correção de fase em função da variação da temperatura.....	42
Figura 26. Calibração da pressão gerada no foco do transdutor focal.....	43
Figura 27. Aproximação linear para a média da derivada dos mapas de deslocamento para os sinais de pulso-eco.....	44
Figura 28. Aproximação linear para a variação percentual média da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura.....	45
Figura 29. Imagem pulso-eco adquirida durante o aquecimento por ultrassom focalizado.....	46
Figura 30. Imagens pulso-eco termais calculadas utilizando a diferença de fase gerada pelo aquecimento por <i>HITU</i> na região focal.....	47
Figura 31. Linha que passa pelo centro do foco em função do tempo. Observa-se uma queda na temperatura depois de 90s devido ao desligamento do transdutor focal.....	48
Figura 32. Amostra de uma imagem fotoacústica da carne suína adquirida durante o aquecimento por ultrassom focalizado.....	49
Figura 33. Imagens fotoacústicas termais após diferentes períodos de tempo de exposição ao transdutor focal.....	50
Figura 34. Linha que passa pelo centro do foco nas imagens fotoacústicas termais em função do tempo de aquisição.....	51

LISTA DE ABREVIACÕES

LASER *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*

HIFU *High intensity focused ultrasound*

HITU *High intensity therapeutic ultrasound*

OPO *Optical Parametric Oscillator*

PP Pico-a-Pico (método de comparação de amplitude utilizando o valor pico-a-pico)

IM Integração do Módulo (método de comparação de amplitude utilizando a integração do módulo do sinal)

AC Auto-Correlação (método de comparação de amplitude utilizando os valores de auto-correlação dos sinais ponderados pelo coeficiente de correlação)

EP Espectro de Potência (método de comparação de amplitude utilizando a integração do espectro de potência)

SNR *Signal to Noise Ratio*

ROI *Region Of Interest*

RF Radiofrequência

Sumário

1. Introdução	1
2. Estudos bibliográficos.....	6
2.1 Princípio de formação das imagens fotoacústicas	6
2.1.1. Pressão inicial fotoacústica	6
2.2. Dependência da intensidade do sinal fotoacústico com a temperatura... 8	
2.3. Estimativa de temperatura através de deslocamento de eco	9
2.4. Hipertermia por ultrassom focalizado.....	10
3. Método Experimental	13
3.1. Sistema de aquisição de imagens fotoacústicas	13
3.2. Estudo experimental da dependência do sinal fotoacústico com a temperatura durante banho térmico	15
3.2.1. <i>Phantom</i> simulador de tecido biológico	15
3.2.2. Aquecimento do <i>phantom</i> por banho térmico	15
3.3. Algoritmos de processamento das imagens fotoacústicas	18
3.3.1. Deslocamento aparente.....	18
3.3.2. Corregistro das imagens fotoacústicas	18
3.3.3. Análise da intensidade do sinal fotoacústico com a temperatura	19
3.4. Aquecimento por ultrassom focalizado	21
3.4.1. Caracterização de uma amostra de carne suína	22
3.4.2. Experimento de estimativa de temperatura em experimentos de <i>HITU</i>	23
4. Resultados e discussão.....	26
4.1. Aquecimento por banho térmico.....	27
4.1.1. Mapas de deslocamento.....	27
4.1.2. Corregistro das imagens fotoacústicas	31
4.1.3. Imagens térmicas fotoacústicas	32
4.2. Aquecimento por ultrassom focalizado	44

4.2.1. Parâmetros dependentes da temperatura para a carne suína.....	45
4.2.2. Estimativa de temperatura	47
5. Conclusões	54
6. Publicações	55
7. Referências.....	55

1. Introdução

A técnica termal de tratamento de câncer (hipertermia) é uma alternativa para a cirurgia quando existem pequenos tumores ou tumores muito próximos de órgãos vitais [1]. Nessa situação, o fornecimento de energia para geração de calor no interior tecido biológico tem como objetivo principal o aquecimento da região tumoral até temperaturas maiores que 42°C levando a necrose destas células, mas preservando o tecido saudável ao redor. Além disso, o aumento de temperatura no tecido tumoral até aproximadamente 40°C (chamada de hipertermia leve) pode aumentar a eficácia da radioterapia e melhorar a entrega de drogas às células cancerosas na quimioterapia [2].

A maioria das técnicas termais consiste em fornecer calor a tumores superficiais pelo posicionamento de antenas ou eletrodos em contato com a superfície para a emissão de micro-ondas ou ondas de radiofrequência, aquecendo a área pela absorção da radiação [3]. Além das técnicas termais por antenas, foram desenvolvidos outros métodos de aquecimento do tecido tumoral, por exemplo: (i) terapia fototermal, na qual feixe de *LASER* (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) de alta potência é absorvido pelo tecido [4]; (ii) aquecimento pela absorção de ondas ultrassônicas geradas por um transdutor focalizado (*high intensity therapeutic ultrasound – HITU*) [5]; (iii) hipertermia magnética, que usa campos magnéticos alternados de radiofrequência para induzir aquecimento a nanopartículas magnéticas localizadas no interior do tumor [6].

Outros estudos demonstraram a viabilidade do uso de *HITU* no combate ao câncer como, por exemplo, o tratamento de câncer de próstata [7]. No *HITU*, o aquecimento localizado de forma não invasiva acontece por meio da absorção das ondas ultrassônicas pelo tecido biológico, dentro do corpo, nas regiões de maior intensidade acústica, mais especificamente no ponto focal do transdutor de ultrassom [8]. Em estudos recentes, a hipertermia por nanopartículas magnéticas expostas a campos magnéticos alternados vem atraindo atenção [6]. Nesta técnica de hipertermia, o sucesso do tratamento depende da identificação do tamanho e localização espacial do tumor. O acúmulo de nanopartículas pode ser verificado no local alvo antes que tratamento se inicie [1].

Quando se tem o fornecimento de calor ao tecido biológico como forma terapêutica de combate ao câncer, o monitoramento da temperatura no tecido tumoral e

no tecido sadio adjacente torna-se de extrema importância para o aumento da segurança do paciente e eficácia do tratamento [2, 9]. Existem diversas técnicas para medida de temperatura no interior do corpo humano como o uso de termômetros, imagens termais por infravermelho (câmeras térmicas), imagens de ressonância magnética nuclear (MRI) e ultrassom. O uso de termômetros na região de interesse resulta em uma medida precisa de temperatura, mas é uma forma invasiva de monitoramento e apresenta a temperatura apenas em um ponto específico. Câmeras térmicas proporcionam medidas de temperatura de forma não invasiva, relacionando a radiação na faixa do infravermelho emitida pelo alvo com sua temperatura, gerando imagens termais com boa resolução espacial e em tempo real [10]. Entretanto, a temperatura medida limita-se a superfície do alvo tornando complexa a medida de temperatura para maiores profundidades. Termometria por imagens de ressonância magnética nuclear pode ser feita por vários métodos: densidade de prótons, tempos de relaxação T_1 e T_2 , coeficiente de difusão, transferência de magnetização e frequência de ressonância do próton [11]. As imagens termais por ressonância magnética são feitas de maneira não invasiva e possuem boa resolução espacial e temporal, possuindo desvantagens no custo e falta de mobilidade dos sistemas de imagem por ressonância magnética nuclear e na interferência de algumas técnicas de aquecimento como, por exemplo, aquecimento por micro-ondas e radiofrequência.

Neste trabalho, é proposta uma forma não invasiva de monitoramento de temperatura durante tratamentos que utilizam fornecimento de calor aos tecidos por meio de imagens fotoacústicas adquiridas utilizando um sistema de ultrassonografia comercial e de uso clínico.

A imagem fotoacústica, uma técnica de diagnóstico criada recentemente, é resultado tanto de fenômenos acústicos quanto de efeitos luminosos [12]. O chamado efeito fotoacústico consiste na absorção da luz por um material levando a uma pequena variação localizada de temperatura e, devido à expansão termoelástica, subsequente emissão de uma onda acústica. Para pulsos de luz de curta duração, da ordem de nanossegundos, as condições de confinamento térmico e de pressão são satisfeitas [13] e é possível a aquisição das ondas acústicas geradas pelo efeito fotoacústico através de aparelhos de imagem por ultrassonografia.

A ultrassonografia é uma técnica de imagem para diagnóstico médico muito usada devido a seu baixo custo, mobilidade e boa resolução espacial. Na ultrassonografia convencional (pulso-eco), ondas de ultrassom são emitidas para o interior do corpo e, ao

encontrar uma interface entre duas estruturas diferentes, tais ondas são espalhadas [12]. Quando acontece o retroespalhamento, estas ondas retornam ao transdutor e, através do cálculo da variação temporal entre a emissão e recepção da onda ultrassônica, é feita a imagem.

Como mencionado, a imagem fotoacústica consiste na aquisição, pelo transdutor do aparelho de ultrassonografia, das ondas ultrassônicas geradas pelo efeito fotoacústico. A diferença entre a imagem pulso-eco e a imagem fotoacústica está justamente na fonte da onda acústica, que na imagem fotoacústica é gerada pela absorção da luz pelo material. Para a formação de uma imagem fotoacústica, é feita a emissão de um pulso de *LASER* sincronizada com o aparelho de ultrassonografia. Assim, a aquisição pelo transdutor de ultrassom é iniciada no mesmo instante em que ocorre a excitação por *LASER*. Dessa forma, o sinal adquirido carrega informações espaciais de onde a onda ultrassônica foi gerada. A Figura 1 ilustra, de maneira simplificada, a diferença entre imagens pulso-eco e fotoacústica.

Figura 1. Ilustração simplificada da formação da imagem pulso-eco (a) e formação da imagem fotoacústica (b).

Sabe-se que diferentes estruturas teciduais possuem perfis de absorção óptica bem característica nas regiões visível (400 – 700 nm) e infravermelho próximo (700 – 1100 nm) do espectro eletromagnético, e que isso depende, em grande parte, da sua

composição molecular. Portanto, as técnicas de imagem que se baseiam na interação de radiação luminosa com a matéria trazem informações da composição molecular dos tecidos. Mesmo em janelas ópticas entre 700 e 900 nm em que a luz penetra alguns centímetros no tecido, o fenômeno de espalhamento prevalece. Isso limita a obtenção de imagens ópticas de alta resolução de regiões mais profundas. Técnicas de microscopia óptica, que usam fótons balísticos ou quase-balísticos são limitadas a profundidades próximas de 1 mm [14].

Por outro lado, a imagem fotoacústica depende da absorção da energia luminosa e, portanto, regiões mais profundas no corpo nas quais fótons difusos são absorvidos gerando ondas acústicas contribuem para a formação da imagem. Assim, a imagem fotoacústica proporciona imagens com alto contraste, que depende dos espectros de absorção óptica dos diferentes tecidos, que não usa radiação ionizante e podem ser obtidas em maiores profundidades que técnicas puramente ópticas. Estudos indicam a possibilidade de obter esse tipo de imagem a até 7 cm de profundidade [15, 16].

Além das propriedades ópticas, a geração do sinal fotoacústico também é dependente de propriedades mecânicas e térmicas do meio. Dessa forma, a imagem fotoacústica pode ser usada no monitoramento de uma grandeza física que influencia nessas propriedades. A amplitude da onda acústica gerada devido à absorção local da luz pelo material está relacionada ao coeficiente térmico de expansão volumétrica, a capacidade térmica e a velocidade de propagação da onda ultrassônica e estes parâmetros são funções da temperatura do material [1]. É proposto o uso da técnica de imagem fotoacústica para estimar a variação de temperatura de forma não invasiva e aplicação para o mapeamento da temperatura durante técnicas termais de tratamento de câncer, como a hipertermia magnética e *HITU*.

Alguns estudos já exploraram o uso da técnica de imagens fotoacústicas para estimar a temperatura de uma região por meio da mudança na amplitude do sinal fotoacústico devido ao aumento de temperatura. Estes trabalhos utilizam uma média do sinal fotoacústico obtendo uma temperatura média pela variação da amplitude ou apresentam as imagens fotoacústicas termais com a distribuição espacial da temperatura [2, 17–20]. O presente estudo aborda o processo de formação das imagens fotoacústicas termais geradas com base em imagens fotoacústicas adquiridas com um sistema de ultrassom diagnóstico comercial em situações simuladas de hipertermia. Para a simulação da hipertermia magnética, foram utilizadas nanopartículas magnéticas que seriam aquecidas pela exposição a campos magnéticos alternados. Como as

nanopartículas magnéticas, normalmente, absorvem mais a luz incidente que o tecido biológico [21], estas nanopartículas atuarão como agentes de contraste na imagem fotoacústica. Portanto, a técnica de imagem fotoacústica é uma candidata viável para monitorar a temperatura e também atuar na detecção das nanopartículas magnéticas, o que pode ser usado para aumentar a confiabilidade de tratamentos por hipertermia magnética.

Nesta dissertação foram avaliados quatro métodos de comparação da amplitude do sinal fotoacústico com o objetivo de estimar a variação da temperatura do material. A variação da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura foi feita utilizando aquecimento por banho térmico de um *phantom* simulador de tecido biológico contendo uma inclusão de nanopartículas magnéticas, simulando condições de hipertermia magnética. Também foi avaliada a capacidade de estimativa de variação de temperatura, por meio de imagens fotoacústicas, do aquecimento localizado utilizando ultrassom focalizado de alta intensidade.

2. Estudos bibliográficos

2.1 Princípio de formação das imagens fotoacústicas

Imagens fotoacústicas são criadas por meio do efeito fotoacústico, que consiste na absorção de luz por um tecido levando a um pequeno aumento de temperatura e gerando um aumento de pressão por meio de uma expansão termoelástica. Esse aumento de pressão, que é determinado pela fluência da fonte de luz e pelas propriedades ópticas, térmicas e mecânicas do material, dá origem a uma onda de pressão acústica chamada de onda fotoacústica [22].

2.1.1. Pressão inicial fotoacústica

A excitação de um tecido por um pulso de *LASER* de curta duração, em uma posição $\mathbf{r}$ gera uma expansão de volume $\frac{dV}{V}$, que pode ser descrita como [22]:

$$\frac{dV}{V} = -\kappa p(\mathbf{r}) + \beta T(\mathbf{r}), \quad (1)$$

sendo κ a compressibilidade isotérmica; β o coeficiente térmico de expansão volumétrica; p a mudança de pressão (Pa) e T a mudança de temperatura (K). A compressibilidade isotérmica κ pode ser descrita da forma:

$$\kappa = \frac{C_P}{\rho c^2 C_V}, \quad (2)$$

em que ρ é a densidade de massa, c a velocidade do som, C_P e C_V capacidade calorífica específica à pressão constante e volume constante, respectivamente.

Se o pulso de *LASER* possui uma duração t_0 que seja menor que os tempos de confinamento de pressão e confinamento térmico, ou seja, a excitação por *LASER* termine antes que a onda acústica gerada tenha viajado para fora da região excitada $\left(\frac{l}{c}\right)$ e o calor tenha se difundido pelo meio $\left(\frac{l^2}{4D_T}\right)$ – satisfazendo as condições de confinamento de pressão e térmico, respectivamente – uma resposta ao impulso é gerada:

$$t_0 < \frac{l}{c} < \frac{l^2}{4D_T}, \quad (3)$$

sendo l como o comprimento característico da heterogeneidade de calor (a dimensão de absorção óptica do alvo ou a constante de decaimento da deposição de energia óptica) e

D_T a difusividade térmica. Considerando o pulso de *LASER* com uma duração curta o suficiente para satisfazer as condições de confinamento térmico e de pressão, a expansão de volume $\frac{dV}{V}$ pode ser desprezada de forma que o aumento de pressão p da equação (1) pode ser escrito como:

$$p_0(\mathbf{r}) = \frac{\beta T(\mathbf{r})}{\kappa}. \quad (4)$$

Assumindo que toda energia óptica absorvida é convertida em calor, ou seja, desconsiderando os efeitos de relaxação não térmica como, por exemplo, fluorescência, o aumento de temperatura gerado pelo pulso de *LASER* é:

$$T(\mathbf{r}) = \frac{W_a(\mathbf{r})}{\rho C_V}, \quad (5)$$

sendo W_a a absorção óptica volumétrica ($J \cdot cm^{-3}$). A taxa local de geração de calor Q é dada pelo produto do coeficiente de absorção óptica μ_a e a taxa de fluência ϕ . Portanto, sendo $Q(\mathbf{r}, t) = \mu_a(\mathbf{r})\phi(\mathbf{r}, t)$ tem-se:

$$W_a(\mathbf{r}) = \int_{-\infty}^{+\infty} Q(\mathbf{r}, t) dt = \mu_a(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r}). \quad (6)$$

Com ψ sendo a fluência óptica ($J \cdot cm^{-2}$). Unindo as equações (4), (5) e (6), pode-se escrever o aumento de pressão como:

$$p_0(\mathbf{r}) = \frac{\beta \mu_a(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r})}{\rho C_V \kappa}. \quad (7)$$

Definindo um parâmetro adimensional chamado de parâmetro de Grueneisen como:

$$\Gamma = \frac{\beta}{\rho C_V \kappa} = \frac{\beta c^2}{C_P}. \quad (8)$$

Dessa forma, o aumento de pressão devido à absorção de um pulso *LASER* de curta duração, satisfazendo as condições de confinamento térmico e de pressão pode ser escrito como:

$$p_0(\mathbf{r}) = \Gamma \mu_a(\mathbf{r})\psi(\mathbf{r}), \quad (9)$$

em que a pressão gerada pelo efeito fotoacústico depende das propriedades ópticas do tecido (μ_a), das propriedades térmicas e mecânicas (Γ) e da fluência da fonte de luz (ψ).

2.2.Dependência da intensidade do sinal fotoacústico com a temperatura

Como visto no item 2.1.1, a amplitude da onda de pressão fotoacústica é diretamente proporcional ao parâmetro adimensional de Grueneisen (Γ) mostrado na equação (8). Portanto, a alteração na amplitude do sinal fotoacústico relaciona-se às características térmicas e mecânicas do tecido por meio deste parâmetro [1]. O coeficiente térmico de expansão volumétrica, a velocidade do som e a capacidade calorífica específica à pressão constante possuem dependência com a temperatura. Em tecidos adiposos e à base de água, estes parâmetros possuem linearidade proporcional à temperatura entre temperaturas de 10 e 55 °C [24, 25]. Portanto, o parâmetro Grueneisen, e o sinal fotoacústico, são diretamente relacionados com a temperatura.

Para a água, o coeficiente térmico de expansão volumétrica varia de $0,2 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$ até $0,3 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$, enquanto a velocidade do som varia de $1481 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ até $1507 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ quando a temperatura aumenta de 20 para 30 °C [24, 26]. Um aumento de 51% no sinal fotoacústico acontece quando a temperatura aumenta 10 °C, uma mudança média de 5% no sinal fotoacústico por grau centígrado. Medidas em tecidos mostram que o fígado bovino apresenta uma mudança na velocidade de propagação da onda acústica de $1,83 \text{ m} \cdot (\text{s} \cdot \text{C}^\circ)^{-1}$, na gordura bovina essa variação é de $-7,4 \text{ m} \cdot (\text{s} \cdot \text{C}^\circ)^{-1}$ e $2,6 \text{ m} \cdot (\text{s} \cdot \text{C}^\circ)^{-1}$ para a água [24]. Além disso, tem-se que os tecidos baseados em água apresentam coeficiente de expansão volumétrico no intervalo de $0,26 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$ a $0,37 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$, enquanto que os tecidos baseados em lipídeos tem esse coeficiente variando entre $-0,87 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$ e $-1,76 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$ [23]. Notam-se sinais opostos tanto na variação de velocidade quanto do coeficiente de expansão para o caso de tecidos gordurosos ou não, o que proporcionará sinais opostos na variação do parâmetro de Grueneisen. Essa diferença de variação no sinal fotoacústico torna mais fácil a diferenciação entre tecidos adiposos e tecidos baseados em água.

A partir dessa análise tem-se que uma imagem fotoacústica termal pode ser formada usando a relação [1]:

$$\Delta T = a \cdot \frac{\Delta P}{P}, \quad (10)$$

na qual a é um coeficiente que depende do material e pode ser determinado experimentalmente, ΔP é relacionado à mudança na amplitude do sinal fotoacústico quando a temperatura varia ΔT .

2.3. Estimativa de temperatura através de deslocamento de eco

A estimativa de temperatura utilizando imagens de pulso-eco é proposta por meio do uso de algoritmos que calculam a correlação-cruzada entre os sinais (algoritmos de *speckle tracking*) de imagens consecutivas de ultrassom. Esse procedimento é empregado para detecção de variações na fase dos sinais de eco obtidos em diferentes temperaturas. Essa defasagem surge da dependência da velocidade de propagação da onda ultrassônica com a temperatura e da calibração do sistema de ultrassonografia para a velocidade média de propagação no tecido biológico (1540 m.s^{-1} para tecidos moles) [26].

Para desenvolver a teoria (baseada na ref. [27]) para a estimativa de variação de temperatura por deslocamento de fase se assumirá a coordenada espacial z para profundidade, denotando z_0 como a profundidade inicial no tecido em relação ao transdutor a uma temperatura inicial T_0 e uma distribuição de velocidade do som no material $c(z_0, T_0)$. Assim, o tempo de viagem da onda ultrassônica entre a emissão pelo transdutor, o espalhamento em z_0 e sua detecção novamente pelo transdutor é dado por [27]:

$$t_0(z_0) = 2 \int_0^{z_0} \frac{dz_0'}{c(z_0', T_0)}. \quad (11)$$

Quando ocorre uma mudança na temperatura do material, a posição z_0 move-se para uma nova posição z devido à expansão térmica e a distribuição de temperatura torna-se $\tilde{T}(z) = T(z_0)$. Assumindo uma expansão térmica linear, pode-se escrever a nova profundidade da forma:

$$z = \int_0^{z_0} [1 + \gamma(z_0') \cdot \Delta T(z_0')] dz_0', \quad (12)$$

em que $\gamma(z_0')$ é o coeficiente da expansão térmica linear. Devido a mudança de temperatura no meio, surge uma nova distribuição de velocidade de propagação da onda ultrassônica $c(z_0, T(z_0))$ que provoca um novo tempo de viagem da onda ultrassônica:

$$t(z_0) = 2 \int_0^{z_0} \frac{[1 + \gamma(z_0') \cdot \Delta T(z_0')] dz_0'}{c(z_0', T(z_0'))}. \quad (13)$$

Dessa forma, uma mudança de temperatura no material causa um deslocamento temporal $\Delta t(z_0) = t(z_0) - t_0(z_0)$:

$$\Delta t(z_0) = 2 \int_0^{z_0} \left[\frac{1 + \gamma(z_0') \cdot \Delta T(z_0')}{c(z_0', T(z_0'))} - \frac{1}{c(z_0', T_0)} \right] dz_0' . \quad (14)$$

Usando uma aproximação de primeira ordem para a variação da velocidade de propagação do som em função da temperatura do material, que pode ser válida para pequenas variações de temperatura (aproximadamente 10°C) próximas à temperatura corporal [25, 29], pode-se escrever a distribuição de velocidade de propagação do som da forma:

$$c(z_0, T(z_0)) = [1 + \xi(z_0) \cdot \Delta T(z_0)] \cdot c(z_0, T_0), \quad (15)$$

sendo $\xi(z_0)$ o coeficiente de linearidade da variação da velocidade do som em função da temperatura. Considerando pequenas variações da forma $|\xi(z_0) \cdot \Delta T(z_0)| \ll 1$, unindo as equações (17) e (16) e fazendo a derivada axial para que se tenha a variação temporal por unidade de comprimento:

$$\frac{d[\Delta t(z_0)]}{dz_0} \cong 2[\gamma(z_0) - \xi(z_0)] \cdot \frac{\Delta T(z_0)}{c(z_0, T_0)} \quad (16)$$

ou

$$\frac{\partial[\Delta t(z_0)]}{\partial t_0} \cong [\gamma(z_0) - \xi(z_0)] \cdot \Delta T(z_0). \quad (17)$$

A variável $\frac{\partial[\Delta t(z_0)]}{\partial t_0}$ tem a forma de uma deformação temporal e é chamada *thermal strain* (deformação térmica) que se refere a uma aparente deformação (deslocamento aparente) induzida nas imagens de ultrassonografia devido a uma mudança de temperatura no meio [26]. O mesmo fenômeno ocorre nas imagens fotoacústicas, entretanto, nesta modalidade de imagem, o tempo de viagem da onda ultrassônica é menor devido à fonte de onda ultrassônica estar contida nas regiões de absorção óptica no interior do material.

2.4. Hipertermia por ultrassom focalizado

A interação das ondas ultrassônicas com o tecido biológico permite condições favoráveis de tratamentos clínicos de maneira não invasiva. Os efeitos dessa interação são principalmente a força mecânica/cavitacional e o aquecimento por absorção [8]. Uma antiga proposta feita em 1942 por Lynn *et al.* [29] consistia na destruição

localizada, por ablação térmica, de tecido moles por meio de ondas ultrassônicas focalizadas.

A concentração da intensidade ultrassônica em uma pequena região do tecido biológico é feita por meio de um transdutor ultrassônico focalizado, que consiste em um ou mais elementos piezoelétricos curvados de forma esférica operando em frequências entre 0,5 e 10 MHz [30]. Em intensidades na faixa $10^2 - 10^4 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$, o uso do *HITU* provoca efeitos terapêuticos e sub-terapêuticos dependendo do tempo de exposição [31].

Uma vez que as ondas ultrassônicas propagam-se pelo tecido biológico, ocorrerá a absorção destas ondas e a energia acústica será convertida em calor. O formato esférico do transdutor ultrassônico faz com que a região focal tenha maior densidade de energia acústica, fornecendo mais calor à região focal do que ao tecido circundante, onde a densidade de energia acústica é menor (Figura 2) [8].

Figura 2. Diagrama do aquecimento do tecido mole na região focal devido à maior densidade de energia acústica, adaptado da ref. [8].

O uso clínico do *HITU* foi estudado para o tratamento de câncer de próstata, miomas uterinos e alguns casos de metástase óssea, obtendo resultados que levam a certa aceitação clínica do tratamento. Estudos em fase inicial, com um pequeno número de pacientes, começaram a ser feitos para tratamentos de câncer de mama, tumores no fígado e rins utilizando o ultrassom focalizado de alta intensidade [8].

O monitoramento da temperatura no foco durante tratamentos com o uso do ultrassom focalizado de alta intensidade pode ser feito utilizando imagens de ressonância magnética nuclear [32]. Além do cálculo da dose térmica aplicada, as imagens de ressonância podem mostrar o formato e o tamanho da lesão provocada ao tecido [8]. O uso do ultrassom diagnóstico também é utilizado para a verificação em tempo real das lesões causadas pelo ultrassom focalizado [33], entretanto, apresentam certa dificuldade na estimativa de temperatura por deslocamento de eco [8].

3. Método Experimental

Nesta seção serão descritas as metodologias experimentais usadas para a obtenção dos sinais fotoacústicos e como as imagens fotoacústicas, imagens fotoacústicas termais e imagens por ultrassom convencional foram formadas. Então, os experimentos usando *phantoms* para caracterização das imagens termais serão apresentados. Por fim, será descrito o experimento de monitoramento de temperatura em *HITU* usando um modelo de carne suína.

3.1. Sistema de aquisição de imagens fotoacústicas

O sistema para aquisição de imagens fotoacústicas é composto por um *LASER* Brio Nd:YAG que emite pulsos com comprimentos de onda de 512 nm ou 1064 nm, com duração de 5 ns e energia de até 42 mJ para o espectro visível ou até 120 mJ para o espectro infravermelho. Para outros comprimentos de onda (680 nm a 950 nm) usou-se um sistema Nd:YAG Brilliant B emitindo pulsos de *LASER* de 532 nm, 5 ns de duração e energia de 300 mJ para um oscilador óptico paramétrico (*Optical Parametric Oscillator – OPO*.) *Quantel Rainbow*, permitindo a emissão de pulsos *LASER* de 680 – 950 nm na configuração *signal* e 1200 – 1700 nm na configuração *idler*. O feixe de *LASER* foi expandido por um difusor (Thorlabs, DG100 – 600 – MD) para aumentar a área de excitação óptica no *phantom*, incidindo em uma área de $\sim 3,15 \text{ cm}^2$ na superfície (aproximadamente a área uma circunferência de diâmetro igual a 2 cm).

A aquisição das imagens fotoacústicas foi feita por um equipamento comercial de ultrassonografia Sonix RP, Ultrasonix. As especificações deste aparelho estão na Tabela 1:

Tabela 1. Especificações do aparelho de ultrassonografia

Especificações do aparelho de ultrassom	
Modelo	Sonix RP
Transdutor	Linear de 128 Elementos (L14-5/38)
Frequência Central do Transdutor	7,2 MHz
Canais (TX - transmissão)	128
Canais (RX - recepção)	32
Frequência de amostragem máxima	40 MHz
ADC	10-bits

O sistema de aquisição de imagens fotoacústicas foi montado de forma que o sistema de ultrassonografia operasse somente recebendo as ondas ultrassônicas. A sincronização foi feita pelo sinal de saída (*Q-Switch*) do *LASER*, iniciando a aquisição do sinal fotoacústico pelo aparelho de ultrassom no instante em que o feixe de *LASER* era disparado. Com a instrumentação disponível, foi possível construir uma linha da imagem fotoacústica a cada emissão óptica. Portanto, para uma imagem usando os 128 elementos do transdutor de ultrassom foram necessários 128 disparos do *LASER*. As imagens fotoacústicas foram então reconstruídas usando o algoritmo de atraso e soma [34]. O esquema da Figura 3 ilustra a montagem experimental usada para a aquisição de imagens fotoacústicas:

Figura 3. Esquema do sistema de aquisição de imagens fotoacústicas. Nesse esquema, a excitação foi feita pelo *LASER* Brio Nd:YAG e a aquisição das imagens fotoacústicas pelo sistema de ultrassonografia Sonix RP. O sincronismo entre excitação e aquisição da imagem foi feito pela saída do *Q-Switch* do *LASER*. O difusor do feixe de *LASER* foi usado para uma excitação de maior área no *phantom*.

3.2. Estudo experimental da dependência do sinal fotoacústico com a temperatura durante banho térmico

3.2.1. *Phantom* simulador de tecido biológico

Para o estudo da dependência do sinal fotoacústico com a temperatura de um material viscoelástico a base de água, foi construído um *phantom* cúbico simulador de tecido biológico com dimensões de 5,3 cm x 5,4 cm x 5 cm. Esse *phantom* é composto por uma solução de gelatina (Bloom 250 - Gelita) e ágar (Himedia, RM026-500G) com concentrações de 6% e 2% em massa, respectivamente. Adicionou-se formaldeído (36,5-38% de Teor de HCHO, Acidez 0,006 meq/g, 5 ppm de cloretos, 5 ppm de Fe, 5 ppm de metais pesados, 0,002% de SO₄ e 0,005% de resíduo pós-ignição) para aumentar sua rigidez e temperatura de fusão. O *phantom* continha uma inclusão cilíndrica com dimensões de 1 cm de comprimento e 0,37 cm de raio, feita com concentrações de 10% em massa de gelatina e 1% em massa de nanopartículas magnéticas (Fe₃O₄, tamanho da partícula de 20 nm até 30 nm, Nanostructured & Amorphous Materials Inc., Houston, TX, USA). O *phantom* e a inclusão continham pó de vidro a uma concentração de 2% em massa para agir como espalhador da onda acústica.

A inclusão cilíndrica tem como objetivo a simulação das condições de hipertermia magnética, isto é, simulação do acúmulo de nanopartículas magnéticas no tecido alvo e seu aquecimento devido à exposição a campos magnéticos alternados. Contudo, como esse experimento foi desenvolvido para verificar a efetividade da técnica usamos um ambiente mais bem controlado, dessa forma o aquecimento do *phantom* foi realizado por banho térmico. Vale enfatizar que as nanopartículas magnéticas são de coloração negra e serviram como absorvedores ópticos para gerar contraste nas imagens fotoacústicas [35].

3.2.2. Aquecimento do *phantom* por banho térmico

O experimento para simulação de condições de hipertermia foi realizado submergindo o *phantom* em água com temperatura controlada. A mudança de temperatura da água foi feita através de sua circulação entre um recipiente onde se encontrava o *phantom* e um recipiente onde a água era aquecida por meio de uma resistência elétrica. Foi observado que o movimento da água devido à circulação entre os dois recipientes interferia no experimento, devido ao *phantom* poder se deslocar da

posição original durante a aquisição de imagens fotoacústicas em diferentes temperaturas. Esse problema foi solucionado separando o recipiente em que se encontrava o *phantom* utilizando uma placa metálica. Desta forma, um compartimento serviria para circulação da água aquecida e outro para a realização do experimento. No compartimento do *phantom* não havia água em movimento, mas ocorria o seu aquecimento devido à transferência de calor da placa metálica para a água. A Figura 4 ilustra a forma de aquecimento da água sem interferência no posicionamento do *phantom*.

Figura 4. Esquema do sistema para circulação e aquecimento da água em que o *phantom* era submerso.

Certas condições foram estabelecidas para a aquisição das imagens fotoacústicas em diferentes temperaturas: (i) foram adquiridas imagens fotoacústicas da mesma região do *phantom* para todos os graus de temperatura; (ii) a mudança de temperatura aconteceu lentamente (cerca de 15 minutos por grau) e de maneira mais uniforme possível; (iii) a incidência do *LASER* aconteceu sempre da mesma forma e na mesma região da face do *phantom*. Portanto, as imagens fotoacústicas foram adquiridas tentando manter sempre as mesmas condições, de forma que somente a temperatura fosse variável. A amplitude do sinal fotoacústico depende das propriedades térmicas, mecânicas, de absorção óptica e da energia do feixe de *LASER* incidindo no meio. Portanto, foi necessário monitorar a energia do *LASER* durante todo experimento para compensar as possíveis variações de uma emissão para a outra devido a flutuações intrínsecas do equipamento utilizado. Para isso, o feixe foi dividido com um divisor (*beam splitter*). Um feixe de aproximadamente 10% da energia original foi monitorado usando um medidor de energia (Coherent, Fieldmax II). A montagem experimental usada incluiu um suporte com garras para que o transdutor do aparelho de ultrassom

fosse preso em contato com uma das faces do *phantom* que se encontrava dentro do compartimento apresentado na Figura 4. Termômetros foram usados para medir a temperatura da água no compartimento e a temperatura no interior do *phantom*.

O experimento consistiu em elevar a temperatura da água lentamente até 36 °C, mantendo-a fixa até o equilíbrio térmico com o *phantom*. Após o equilíbrio térmico ser atingido, foram adquiridas 30 imagens fotoacústicas. Em seguida, elevou-se a temperatura da água em 1 °C e novamente manteve-a fixa até o equilíbrio térmico com o *phantom* para aquisição de outras imagens fotoacústicas. Este procedimento foi repetido para cada grau de temperatura no intervalo 36 – 41 °C. A Figura 5 ilustra o arranjo experimental completo.

Figura 5. Arranjo experimental usado para o experimento da dependência da amplitude do sinal fotoacústico com a temperatura durante aquecimento por banho térmico.

Durante este experimento também foram adquiridas imagens pulso-eco para comparação dos métodos de ultrassom e fotoacústica para estimativa de temperatura. Para cada grau de temperatura no intervalo descrito acima, foram adquiridos 30 imagens na modalidade pulso-eco e 30 imagens fotoacústicas.

3.3. Algoritmos de processamento das imagens fotoacústicas

O processamento das imagens fotoacústicas adquiridas em diferentes temperaturas foi feito através de algoritmos de *speckle tracking* usando do software MATLAB (R2013a). A aplicação destes algoritmos foi feita de duas formas: (i) usando uma imagem fotoacústica a uma determinada temperatura como imagem de referência (nesse caso a imagem de referência foi de 36 °C) e aplicando os algoritmos de *speckle tracking* para avaliar o deslocamento aparente e a mudança na amplitude do sinal em relação às imagens fotoacústicas adquiridas a temperaturas diferentes. Para essa situação iremos nos referir como processamento não cumulativo; (ii) aplicando os algoritmos de *speckle tracking* em imagens adquiridas a temperaturas incrementais de 1 °C, isto é, avaliar sempre o deslocamento e a mudança na intensidade do sinal entre imagens adquiridas com diferença de um grau de temperatura e então realizar a integral cumulativa destes resultados. Para essa situação iremos nos referir como processamento cumulativo.

3.3.1. Deslocamento aparente

O primeiro passo do processamento é o cálculo do deslocamento aparente gerado pela mudança na distribuição de velocidade de propagação da onda ultrassônica devido à variação na temperatura do meio. O código consiste em uma janela móvel que percorre cada linha das imagens fotoacústicas, movendo-se na direção axial com certa porcentagem de sobreposição (*overlap*). Para encontrar o deslocamento, a comparação é feita entre uma imagem adquirida a certa temperatura (imagem de referência) e outra imagem fotoacústica adquirida a uma temperatura diferente (imagem alvo). Para cada iteração do programa, é selecionada parte do sinal fotoacústico das imagens referência e alvo, faz-se a multiplicação ponto-a-ponto do sinal com uma janela hanning e então é calculada a correlação-cruzada entre o sinal da imagem referência e da imagem alvo. O deslocamento temporal devido à mudança de temperatura (deformação térmica) é extraído pelo cálculo da posição do máximo na correlação-cruzada. Este resultado é colocado em uma matriz resultante com índice relacionado à posição da janela móvel nas imagens fotoacústicas. Neste trabalho, a correlação-cruzada foi implementada de acordo com o descrito em [36].

3.3.2. Corregistro das imagens fotoacústicas

O próximo passo do processamento das imagens fotoacústicas para análise da dependência da intensidade do sinal fotoacústico com a temperatura foi compensar o efeito de deformação gerado pela variação da temperatura no material. Usam-se os

mapas de deslocamento calculados por meio da correlação-cruzada e algoritmos de interpolação para fazer transformações geométricas nas imagens fotoacústicas a fim de deixá-las como representações do mesmo objeto de estudo (corregistro das imagens fotoacústicas). Esta parte do estudo propõe que a deformação da imagem fotoacústica ocorre predominantemente devido a mudança na velocidade do som, desprezando o efeito de expansão térmica mostrado na Seção 2.3 [26]. Dessa forma, as imagens fotoacústicas adquiridas em diferentes temperaturas representam o mesmo objeto de estudo, apenas deslocado espacialmente devido a mudanças na velocidade do som.

O corregistro das imagens fotoacústicas é feito por meio da interpolação da imagem alvo em um espaço linear deformado pelo seu respectivo mapa deslocamento: cria-se um espaço linear bidimensional, em seguida este espaço linear é deformado somente na direção axial pela subtração do mapa de deslocamento correspondente à imagem alvo que se deseja corregistrar e, então, aplica-se a interpolação de *spline* linear da imagem alvo original neste novo espaço linear resultando na imagem fotoacústica corregistrada.

3.3.3. Análise da intensidade do sinal fotoacústico com a temperatura

Nas imagens fotoacústicas antes e após o processo de corregistro, aplicou-se um código de *speckle tracking* similar ao usado para calcular o deslocamento aparente. Neste caso, uma janela móvel com certa porcentagem de sobreposição (neste trabalho foi usada uma sobreposição de 70%) percorrendo linha a linha das imagens referência e alvo comparando as amplitudes dos sinais em cada imagem.

Assumindo que o sinal fotoacústico pode ser descrito matematicamente da forma:

$$r(t) = s(t) + n(t), \quad (18)$$

sendo $s(t)$ o sinal da onda acústica gerada pelo efeito fotoacústico e $n(t)$ o ruído devido à eletrônica do sistema de ultrassonografia. Aplica-se uma janela *hanning* no sinal fotoacústico, que pode ser descrita da forma:

$$h(t) = 0,5 \left(1 - \cos \left(2\pi \frac{t}{\tau} \right) \right), \quad 0 \leq t \leq \tau \quad (19)$$

$$w(t) = r(t) \cdot h(t). \quad (20)$$

Foram utilizados quatro métodos para comparação da magnitude do sinal nos limites da janela móvel para um par de sinais adquiridos em diferentes temperaturas:

Método Pico-a-Pico (PP):

$$A_{pp} = \frac{\max(w(t)_{alvo}) - \min(w(t)_{alvo})}{\max(w(t)_{referência}) - \min(w(t)_{referência})}, \quad (21)$$

sendo A_{pp} o aumento relativo na amplitude do sinal, calculado utilizando do valor pico-a-pico.

Método da integral (IM):

$$A_{IM} = \frac{(\int_0^T |w(t)_{alvo}| dt)}{(\int_0^T |w(t)_{referência}| dt)}, \quad (22)$$

em que A_{IM} é o aumento relativo na amplitude do sinal, calculado por meio da integração do módulo do sinal fotoacústico.

Método da correlação utilizando o teorema de Weiner-Khinchin (AC):

$$S(\omega) = \mathcal{F}[w(t)] \mathcal{F}^*[w(t)] \quad (23)$$

$$A_{AC} = C_{corr} \cdot \sqrt{\frac{\max(\mathcal{F}^{-1}(S(\omega)))_{alvo}}{\max(\mathcal{F}^{-1}(S(\omega)))_{referência}}}, \quad (24)$$

onde C_{corr} é o coeficiente de correlação entre o sinal alvo e o sinal referência e A_{AC} é o aumento relativo na amplitude do sinal, calculado usando da correlação entre os sinais.

Método da integração do espectro de potência (EP) que é a energia do sinal:

$$A_{EP} = \sqrt{\frac{[\int S(\omega)^2 d\omega]_{alvo}}{[\int S(\omega)^2 d\omega]_{referência}}}, \quad (25)$$

onde A_{EP} é o aumento relativo na amplitude do sinal, calculado por meio da integração do espectro de potência do sinal fotoacústico.

As especificações técnicas do transdutor linear apontam a sua frequência central igual a 7,2 MHz como apresentado na Tabela 1, mas uma análise espectral de uma coluna da imagem fotoacústica gerada quando incidimos um feixe de LASER em um fio de cabelo mostrou uma frequência central igual a 5,0MHz. Nesse caso pode-se

considerar o fio de cabelo espesso o suficiente para que seu sinal possa ser considerado como uma resposta ao impulso. Desta forma, o comprimento de onda do sinal fotoacústico foi considerado como $\lambda = 0,31$ mm.

O processamento para formação de mapas de variação na amplitude do sinal fotoacústico foi realizado variando o comprimento da janela móvel de 0,31 mm (1λ do sinal a 5MHz) a 1,55 mm (5λ). Portanto, a janela móvel tem dimensões de múltiplos do comprimento da onda acústica adquirida pelo transdutor linear.

Análises quantitativas nos mapas de variação de amplitude do sinal fotoacústico foram feitas estimando o desvio médio em relação a um valor esperado e a relação sinal ruído (*signal noise ratio- SNR*) de uma região de interesse (*region of interest - R.O.I.*) selecionada na inclusão do *phantom*:

$$\overline{Desvio}_{método} = \sum_1^X \sum_1^Y \left(\frac{A(x,y)_{método} - A(x,y)_{esperado}}{X \cdot Y} \right) \quad (26)$$

e

$$SNR_{método} = 20 \cdot \log \left(\frac{\bar{A}_{método}}{\sigma_{A_{método}}} \right), \quad (27)$$

sendo $\bar{A}_{método}$ a média e $\sigma_{A_{método}}$ o desvio padrão da região de interesse. Foram calculados o desvio e *SNR* para cada um dos métodos de comparação de amplitude do sinal e em diferentes comprimentos de janela móvel.

3.4. Aquecimento por ultrassom focalizado

O experimento de aquecimento por ultrassom focalizado consistiu no fornecimento de energia acústica por um transdutor focalizado composto por um elemento piezoelétrico de curvatura esférica com foco de 5 cm e frequência central de 3,38 MHz, acoplado a um suporte de acrílico para posicionamento (Figura 6).

Figura 6. Transdutor com curvatura esférica de 5,0 cm de foco.

3.4.1. Caracterização de uma amostra de carne suína

Os experimentos de *HITU* foram conduzidos usando um pedaço de carne suína colocada no foco do transdutor focal. No entanto, em um primeiro momento experimentos para calibração dos parâmetros dependentes da temperatura nas imagens pulso-eco e imagens fotoacústicas foram feitos por meio do aquecimento por banho térmico de um pedaço de carne suína desidratada e posteriormente colocada em uma solução de tinta nanquim de concentração 0,5% em massa por uma hora, para melhorar o contraste das imagens fotoacústicas. Para uma variação de temperatura entre 25 °C e 37 °C foram adquiridas imagens de pulso-eco e imagens fotoacústicas a cada variação de dois graus de temperatura. O experimento foi realizado utilizando um aparato experimental semelhante ao descrito no item 3.2.2., mas utilizando o sistema de *LASER* + *OPO* excitando a amostra de carne com pulsos de comprimento de onda igual a 720 nm. Para calibração das imagens pulso-eco calculou-se os seus mapas de deslocamento utilizando as imagens pré-processadas (sinais de *Radio Frequency* - *RF*), por meio de um algoritmo de *speckle tracking*. Estes mapas de deslocamento foram submetidos a outro algoritmo para a execução do gradiente axial, resultando em imagens de deformação térmica (como mostrado na equação (17)). A calibração para as imagens fotoacústicas foi feita a partir da média dos mapas de variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico gerados pelos algoritmos de comparação descritos em 3.3.3.

3.4.2. Experimento de estimativa de temperatura em experimentos de *HITU*

Para os experimentos de hipertermia por *HITU*, um pedaço de carne de músculo suína com dimensões de 6 cm x 4 cm x 1,3 cm (a mesma usada na fase de calibração) foi submersa em um tanque com água de dimensões 20 cm x 20 cm x 31 cm. Nesse tanque posicionou-se um transdutor com geometria esférica com foco em 5 cm, de tal forma que a foco de feixe ultrassônico estivesse no interior da carne. O transdutor focal foi energizado por um gerador de funções (Agilent 33522A) ligado a um amplificador de potência de radiofrequência de 50 dB (E&I 100A2) para alimentação do transdutor focal.

A estimativa de temperatura por deslocamento dos ecos nas imagens de pulso-eco (ultrassom convencional) e por variação da amplitude do sinal fotoacústico nas imagens fotoacústica foi executada para o aquecimento da amostra de carne suína caracterizada na seção 3.4.1.. As imagens de pulso-eco (mapas de *RF*) e fotoacústicas foram adquiridas por um transdutor linear (L14-5/38) composto por 128 elementos piezoelétricos. Foi utilizado um *trigger* externo ligado ao gerador de funções para sincronizar o aquecimento da amostra pelo transdutor focal com a aquisição das imagens de ultrassom. A Figura 7 mostra o esquema da montagem experimental utilizada:

Figura 7. Montagem experimental para estimativa de temperatura por deslocamento de eco e variação da amplitude do sinal fotoacústico em experimentos de *HITU*. Nesse caso, o aquecimento foi monitorado na região focal no transdutor focalizado no interior da carne suína.

A sincronização usada para alternar o aquecimento pelo transdutor focal e aquisição de imagens foi baseada em um pulso sincronizador externo (*trigger* externo) de frequência igual a 3 Hz para a aquisição de imagens pulso-eco. A saída de sincronização do *Q-Switch* do *LASER* a uma frequência de 10 Hz foi usada como *trigger* externo para a aquisição das imagens fotoacústicas e operação do transdutor focal. A sincronização temporal entre emissão de ondas ultrassônicas pelo transdutor focal e a aquisição das imagens de pulso-eco e fotoacústicas é demonstrada pelo diagrama da Figura 8.

Figura 8. Sincronização temporal para aquecimento por meio do transdutor focal e a aquisição de (a) imagens fotoacústicas e (b) imagens pulso-eco.

A partir da rampa de subida do pulso *trigger* era adquirido um quadro da imagem pulso-eco (*Figura 8(b)*) ou uma linha da imagem fotoacústica (*Figura 8(a)*). O transdutor focalizado era ativado com um atraso temporal de 20 ms e 15 ms para aquisição das imagens pulso-eco e fotoacústica, respectivamente. O desligamento do transdutor focalizado era feito 5 ms antes da próxima rampa de subida do pulso *trigger* para evitar interferências do feixe acústico de *HITU* na aquisição das imagens.

Foram realizados dois experimentos. O primeiro para estimar as variações de temperatura com o ultrassom pulso-eco e o segundo com as imagens fotoacústicas. No experimento com imagens pulso-eco foi adquirida uma imagem antes de se ligar o ultrassom de *HITU*. Uma vez ligado o *HITU*, este operava por 300 ms, então era desligado e mais uma imagem pulso-eco era adquirida. Após 90 s de aquisições de imagens pulso-eco intercaladas com aquecimento por *HITU*, o ultrassom de *HITU* foi totalmente desligado e imagens pulso-eco continuaram a ser adquiridas por 60 s. No experimento de fotoacústica, uma linha da imagem era adquirida, o ultrassom de *HITU* era ligado por 80 ms, então era desligado e outra linha da imagem fotoacústica era adquirida. A imagem fotoacústica possuía 98 linhas fazendo com que uma imagem fosse adquirida a cada 9,8 s, no total foram adquiridas 50 imagens fotoacústicas.

4. Resultados e discussão

A Figura 9 mostra as imagens de pulso-eco (modo-B) e fotoacústica de um *phantom* de gelatina (material pouco absorvedor na região do visível e infra-vermelho próximo [37]), contendo uma inclusão cilíndrica com nanopartículas magnéticas (mais absorvedoras nessa região do espectro luminoso [35]), a uma temperatura de 36 °C. Estas imagens foram feitas na direção radial da inclusão cilíndrica. Desta forma, a imagem de pulso-eco mostra uma circunferência de aproximadamente 7 mm de diâmetro centrado a uma profundidade próxima de 33 mm. Para a imagem fotoacústica é observado o sinal da inclusão cilíndrica, também centrada em 33 mm, com aproximadamente 7 mm de diâmetro.

Na imagem de modo B - Figura 9(a) - percebe-se pouco contraste, uma vez que tanto a inclusão quanto o restante do *phantom* foram confeccionados usando-se a mesma concentração de micro-partículas de vidro, responsáveis pelo retro-espalhamento, consequentemente, o brilho na imagem. Verificou-se também a pouca influência das nanopartículas no sinal de pulso-eco, uma vez que suas dimensões indicam uma seção de choque de espalhamento bastante reduzida comparada ao pó de vidro. Por outro lado, na imagem de fotoacústica - Figura 9(b) - o maior contraste se dá pela presença dessas nanopartículas magnéticas que se comportam como absorvedoras ópticas.

Figura 9. (a) Imagem de ultrassonografia convencional (pulso-eco) do *phantom*. (b) Imagem fotoacústica do *phantom* obtida com excitação do *LASER* em 532 nm.

4.1. Aquecimento por banho térmico

4.1.1. Mapas de deslocamento

Os resultados dos deslocamentos aparentes devido a mudança na velocidade do som com a temperatura para as imagens fotoacústicas do *phantom* são mostrados na Figura 10. Percebe-se um deslocamento negativo no sentido em que o objeto de estudo parece aproximar-se do transdutor. Este resultado é coerente quando se espera um aumento na velocidade de propagação da onda ultrassônica ao aumentar a temperatura de um meio composto à base de água [24]. Isso porque o tempo para a onda acústica se propagar do local de absorção da luz até o transdutor é diminuído, portanto, levando o sistema de ultrassonografia a interpretar que a inclusão do *phantom* estava mais próxima ao transdutor, devido à sua calibração de velocidade do som no meio ser constante.

Figura 10. Deslocamento aparente calculado para as imagens fotoacústicas entre 36 e 41 °C (a-e).

Neste trabalho, uma aproximação de primeira ordem (relação linear) entre a velocidade de propagação da onda ultrassônica e a temperatura foi utilizada para a faixa de temperatura estudada. Esta relação linear foi adotada baseando-se nos resultados da variação de velocidade do som em função da temperatura para tecidos verificadas por Duck [18], e Bamber *et al.* [19]. Utilizando essa condição, é esperado que o deslocamento médio gerado pela variação da temperatura do meio também tenha forte tendência linear. Calculando-se o deslocamento médio em uma *ROI* de 22 mm por 22,5 mm, selecionada onde havia deslocamento no *phantom*, para uma faixa da variação de 5 °C obtém-se uma relação linear mostrada na Figura 11, com uma variação média de $(-13,8 \pm 1,0) \cdot 10^{-6} \text{ m} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$. Nesse gráfico, os pontos são as médias dos mapas de deslocamento e as barras de erros são os desvios padrão somados à incerteza transferida do termômetro.

Figura 11. Deslocamento médio das imagens fotoacústicas em função da variação da temperatura do meio.

Admitindo a variação linear da velocidade do som em função da temperatura do meio, a obtenção de uma relação linear para a média dos mapas de deslocamento aparente é importante para a confirmação de que a temperatura variou sempre a mesma quantidade entre as aquisições de imagens fotoacústicas. Existe certa dificuldade para garantir uma mudança de temperatura uniforme no *phantom* devido ao termômetro

medir somente uma pequena região em seu interior e considera-se o equilíbrio térmico entre *phantom* e a água quando ambos os termômetros medem o mesmo valor.

A equação (16) mostra que, para uma variação uniforme de temperatura em todo o *phantom*, o deslocamento calculado deve ser maior para maiores profundidades. Entretanto, os resultados apresentados na Figura 10 mostram variações de deslocamento a partir de uma profundidade de 30 mm e não apresentam um claro aumento de deslocamento com a profundidade.

No mesmo experimento também foram adquiridas imagens pulso-eco nas mesmas temperaturas das imagens fotoacústicas. Assim, foram calculados mapas de deslocamento térmico aparente, a partir dos mapas de *RF* obtidos no modo pulso-eco, mostrados na Figura 12.

Figura 12. Deslocamento aparente calculado a partir dos sinais de pulso-eco obtidos em temperaturas entre 36 °C e 41 °C.

As imagens da Figura 12 mostram o aumento do deslocamento aparente com a profundidade, como esperado pela teoria, para as mesmas condições em que foram adquiridas as imagens fotoacústicas. Possivelmente, essa diferença entre os resultados está na teoria da formação das imagens fotoacústicas apresentada na equação (9) e que pode ser observada na Figura 9 (b). A equação (9) nos diz que o sinal fotoacústico depende diretamente do coeficiente de absorção do meio. Como a inclusão cilíndrica era bem mais absorvedora de luz que o restante do *phantom*, a imagem fotoacústica representa quase que exclusivamente esta inclusão, enquanto o sinal fotoacústico do meio circundante tem amplitude da mesma ordem do ruído gerado pela eletrônica do sistema de ultrassonografia. Assim, os mapas de deslocamento apresentados na Figura 10 mostram valores a partir da profundidade onde se encontra a inclusão (~30 mm), onde um sinal fotoacústico predominantemente maior começa a ser gerado.

Para as regiões abaixo e aos lados da inclusão, o algoritmo de *speckle tracking* faz a correlação-cruzada entre sinais fotoacústicos que possuem amplitude da ordem do ruído da imagem, gerando um padrão heterogêneo de deslocamento. Já para a imagem pulso-eco, havia espalhamento da onda ultrassônica em todo o *phantom* fazendo com que esta imagem fosse uma representação do *phantom* como um todo e não somente de sua inclusão, gerando resultados muito mais próximos do esperado teoricamente. Também é possível visualizar a inclusão com deslocamentos aparentes levemente diferentes do restante do *phantom*, o que pode ser explicado pelas velocidades de propagação da onda acústica na inclusão e meio circundante não serem exatamente iguais devido a pequenas diferenças na composição e densidade da inclusão, mostradas no item 3.2.1. A Figura 13 mostra o cálculo do deslocamento médio nas imagens pulso-eco na mesma *ROI* das imagens fotoacústica, em que se obtém uma relação linear com uma variação média de $(-27,5 \pm 0,9) \cdot 10^{-6} \text{ m} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$.

Figura 13. Deslocamento médio das imagens pulso-eco em função da variação da temperatura do meio.

O deslocamento médio de ambas as modalidades de imagem tiveram valores da mesma ordem de grandeza, o que era esperado devido às imagens serem a representação de um mesmo objeto de estudo com as mesmas propriedades térmicas e mecânicas. Também é observado o mesmo comportamento dos dados experimentais em relação à aproximação linear.

4.1.2. Corregistro das imagens fotoacústicas

Para compensar os deslocamentos aparentes mostrados na seção anterior, as imagens obtidas em temperaturas diferentes foram corregistradas. O resultado do corregistro para as imagens fotoacústicas pode ser observado por meio do gráfico de uma linha de imagens fotoacústicas adquiridas em temperaturas diferentes; 36 °C e 40 °C.

Figura 14. (a) Sinal da linha central das imagens fotoacústicas do *phantom* adquiridas a 36°C e 40°C sem a aplicação do algoritmo de correção. (b) Resultado da aplicação do algoritmo de correção na imagem adquirida a 40°C.

Observa-se na Figura 14 a remoção da diferença na fase do sinal após a aplicação do algoritmo descrito na Seção 3.3.2. Também é possível observar, na Figura 13(a), em alguns pontos um pequeno aumento na amplitude do sinal adquirido a 40 °C em relação ao sinal adquirido a 36 °C. A aplicação do algoritmo de correção nas imagens pulso-eco não foi necessária, pois a estimativa de mudança de temperatura nessa modalidade baseia-se exatamente na mudança de fase do sinal, enquanto a estimativa de mudança de temperatura para as imagens fotoacústica baseia-se na variação da amplitude do sinal.

4.1.3. Imagens térmicas fotoacústicas

Mapas de distribuição de variação de amplitude

As imagens fotoacústicas térmicas são formadas pela aplicação de um fator de calibração para a variação na amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura. A Figura 15 é um exemplo de imagens fotoacústicas térmicas formadas aplicando uma calibração de $5\ \%^{\circ}\text{C}^{-1}$ aos mapas de variação relativa da amplitude do sinal, calculados pelo método PP e sem nenhum processamento de filtragem dos resultados.

Figura 15. Exemplo de imagens fotoacústicas termais formadas pelo método PP utilizando o processamento não-cumulativo (a-c) e o processamento cumulativo (d-f).

O processamento das imagens fotoacústicas forneceu mapas de variação percentual na amplitude do sinal fotoacústico, relacionado com a distribuição de temperatura do meio. É esperado um aumento na amplitude do sinal fotoacústico com o aumento de temperatura do meio, mas é observada na Figura 15 a presença de valores negativos de temperatura. Como o experimento foi realizado utilizando aquecimento por banho térmico em condições controladas, de forma que a temperatura no interior do *phantom* fosse sempre crescente, os valores negativos encontrados nos mapas de variação de amplitude foram desprezados admitindo-os como flutuações na amplitude do sinal fotoacústico devido ao ruído. A Figura 16 mostra a variação média de

amplitude do sinal fotoacústico do *phantom* para diferentes temperaturas separando os resultados positivos e negativos.

Figura 16. Média da variação positiva e variação negativa na amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do meio.

A média dos valores positivos e negativos de variação na amplitude do sinal mostra uma fraca dependência dos valores negativos com a temperatura. A maioria destes valores negativos na variação da amplitude do sinal são produtos da flutuação da amplitude do sinal devido ao ruído, sendo assim aleatórios e não dependentes da temperatura do meio, gerando um valor médio aproximadamente constante.

As Figuras 17 - 20 mostram exemplos dos resultados do processamento aplicado às imagens fotoacústicas, para os diferentes métodos de comparação de amplitude do sinal fotoacústico. A Figura 17 mostra os resultados da variação relativa na amplitude do sinal fotoacústico calculadas usando o método PP, para os processamentos cumulativo e não-cumulativo, a Figura 18 mostra os resultados calculados pelo método IM, a Figura 19 mostra os resultados para o método AC e a Figura 20 os resultados do método EP.

Figura 17. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do *phantom* utilizando o método PP (equação 21) como método de comparação. (a – c) são os mapas calculados por meio do processamento cumulativo e (d – f) calculados pelo processamento não cumulativo.

Figura 18. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do *phantom* utilizando o método IM (equação 22) como método de comparação. (a – c) são os mapas calculados por meio do processamento cumulativo e (d – f) calculados pelo processamento não cumulativo.

Figura 19. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do *phantom* utilizando o método AC (equação 24) como método de comparação. (a – c) são os mapas calculados por meio do processamento cumulativo e (d – f) calculados pelo processamento não cumulativo.

Figura 20. Mapas de distribuição da variação percentual da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura do *phantom* utilizando o método EP (equação 25) como método de comparação. (a – c) são os mapas calculados por meio do processamento cumulativo e (d – f) calculados pelo processamento não cumulativo.

Percebe-se que os diferentes métodos de comparação da variação percentual na amplitude do sinal fotoacústica geram mapas bem similares, tornando importante a avaliação quantitativa entre esses diferentes métodos.

Análise quantitativa dos mapas de distribuição de temperatura

A análise quantitativa foi feita por meio do cálculo de desvio médio e relação sinal-ruído (*SNR*) nos mapas de distribuição de variação na amplitude do sinal fotoacústico. Também foi analisada a influência do tamanho da janela móvel na construção dos mapas de variação do sinal fotoacústico em função da temperatura. O

desvio foi calculado utilizando um valor esperado $\alpha_{phantom}$ baseado no valor teórico para tecidos composto a base de água, sendo igual a um aumento de 5% por grau de temperatura no intervalo 10-55 °C [1]. Este valor de variação de amplitude de sinal foi resultado de estudos da variação da velocidade de propagação da onda acústica e variação no coeficiente térmico de variação volumétrica para tecidos compostos a base de água, os resultados dessa variação foram apresentados na seção 2.2., sugerindo um valor de variação na amplitude do sinal fotoacústico próximo de 5 %°C⁻¹. Portanto, os mapas de variação percentual de amplitude apresentados nas Figuras 16 – 19 foram convertidos em imagens fotoacústicas termais utilizando o valor teórico apresentado.

Foram processados 25 quadros por grau de temperatura, as Figuras 21 e 22 mostram os resultados do cálculo do desvio médio e *SNR*, respectivamente, nas imagens termais adquiridas utilizando diferentes tamanhos de janela móvel.

Figura 21. Desvio médio (a) em função do tamanho da janela móvel expressa em termos do comprimento de onda (λ) para uma variação de temperatura de 3 °C e (b) em função da temperatura para um comprimento de janela móvel fixa (3λ) .

Figura 22. *SNR* (a) em função do comprimento da janela móvel para uma variação de temperatura igual a 3°C e (b) em função da temperatura usando um comprimento de janela móvel fixo (3λ).

Em condições ideais, isto é, para um par de sinais com exatamente todas as características iguais, exceto a amplitude, os métodos de comparação descritos na seção 3.3.3. apresentariam a mesma resposta. Portanto, a análise de desvio e *SNR* feita têm como objetivo avaliar a estabilidade de cada método de comparação fora das condições ideais.

O processamento não cumulativo apresentou dados que mostram que praticamente todos os métodos obtiveram o mesmo comportamento, as variações entre os métodos são da ordem do desvio padrão. Já para o processamento cumulativo, os valores de desvio médio para um comprimento de janela igual a 3λ mostram que os métodos PP e EP apresentam maior variação com o aumento da temperatura, enquanto os métodos AC e IM são mais estáveis. Em função do comprimento da janela móvel, todos os métodos apresentam o comportamento de diminuição dos valores aproximando-se de zero. Os valores de *SNR* calculados mostram um comportamento muito similar para o método AC, PP e IM, em função do comprimento da janela móvel, mostrando um maior valor *SNR* em 3λ .

A avaliação sobre a forma de processamento mostra que o aumento percentual de sinal para o processamento cumulativo é maior que para o processamento não cumulativo, o que já era evidente nas Figuras 17 – 20. O *SNR* para o processamento cumulativo também se mostra maior. Em relação ao aumento percentual esperado

teoricamente, o processamento cumulativo superestima a temperatura enquanto o processamento não cumulativo apresenta temperatura subestimada. Entretanto, o processamento cumulativo apresenta valores de desvio mais próximos de zero e menor variação em função da temperatura do que o processamento não cumulativo, sugerindo que seria a melhor forma de estimativa de temperatura por variação da amplitude do sinal fotoacústico.

Essa diferença entre as formas de processamento pode ser explicada pelo fato de imagens adquiridas em temperaturas mais próximas são mais similares devido a menor variação na velocidade do som, gerando uma menor deformação térmica. Uma menor deformação térmica sofre menor influência do corregristo dos sinais fotoacústicos, pois o algoritmo deve interpolar o sinal em um espaço linear com menor deformação. Além disso, comparar imagens adquiridas em um menor espaço de tempo é um processo que está sujeito a menor interferência de fatores externos, como pequenas alterações da posição do transdutor ou movimentação no interior do objeto que está sendo imageado. Porém, para um experimento com condições controladas para minimizar a influência de todos os parâmetros além da temperatura, uma diferença tão grande entre as formas de processamento não é algo esperado. Portanto, para avaliar a influência do algoritmo de corregristo nas imagens fotoacústicas termais, foram gerados mapas de variação percentual na amplitude do sinal sem a realização do corregristo. As Figuras 23 e 24 mostram o desvio e *SNR*, respectivamente, calculadas sem corregristar os sinais adquiridos em temperaturas distintas.

Figura 23. Desvio médio sem o processo de correção de fase do sinal fotoacústico (a) em função do tamanho da janela móvel expressa em termos do comprimento de onda

(λ) para uma variação de temperatura de 3°C e (b) em função da temperatura para um comprimento de janela móvel fixa (3λ).

Figura 24. SNR sem a correção de fase (a) em função do comprimento da janela móvel para uma variação de temperatura igual a 3°C e (b) em função da temperatura usando um comprimento de janela móvel fixo (3λ).

Para o processamento cumulativo, observa-se um comportamento semelhante dos valores de desvio e SNR para os métodos PP, AC e IM, em relação aos valores calculados utilizando a correção de fase. Entretanto, é observada uma melhora bastante significativa para o processamento não cumulativo, apresentando valores mais próximos de zero, exceto o método AC que mostrou valores de desvios mais distantes de zero. Devido à presença do deslocamento do sinal causado pela variação da velocidade do som, o coeficiente de correlação entre sinais fotoacústicos diminui com o aumento da temperatura. Isso implica a avaliação da amplitude utilizando o método AC sofrer a interferência direta da mudança de fase do sinal fotoacústico que pode ser conferido pelos valores de desvio médio e SNR muito menor que os outros métodos de comparação. Sendo esperado, portanto, que o desempenho desse método seja mais prejudicado no método não cumulativo para maiores temperaturas onde a defasagem é maior. E isso fica bem evidenciado nos gráficos das Figuras 23 e 24.

Para o melhor entendimento da influência do algoritmo de correção na obtenção de imagens termais, fez-se a média da amplitude dos sinais que geram as imagens

fotoacústicas com e sem a aplicação do algoritmo de correção de fase, a Figura 25 mostra estes valores.

Figura 25. Média dos valores das imagens fotoacústicas com correção de fase e sem correção de fase em função da variação da temperatura.

É observado que a o algoritmo de correção influenciou, em média, reduzindo a amplitude do sinal fotoacústico. O processamento cumulativo baseia-se no cálculo da variação da amplitude do sinal fotoacústico para cada grau de temperatura, enquanto que o processamento não cumulativo baseia-se no valor de variação em relação a um valor de referência fixo. Dessa forma, no que diz respeito somente ao valor médio da amplitude do sinal fotoacústico, o processo de correção das imagens exerce maior influência no processamento não cumulativo devido à redução dos valores de amplitude do sinal fotoacústico. Porém, é importante ressaltar que a alteração na amplitude do sinal provocada pelo algoritmo de correção não é a única razão para os diferentes resultados apresentados. Ao aplicar o algoritmo de *speckle tracking* nas imagens fotoacústicas que apresentam diferença de fase devido à deformação térmica, o resultado está sujeito a erros devido ao fato de comparar amplitudes sinais defasados utilizando uma janela móvel. Esse erro está relacionado ao valor do deslocamento entre os sinais e o tamanho da janela móvel.

Mesmo sem a correção de fase, para as variações analisadas aqui, os resultados do processamento cumulativo são mais próximos do esperado teoricamente e sofrem menos interferência da variação de temperatura e comprimento da janela móvel,

correspondendo a uma forma mais confiável e estável de formação das imagens fotoacústicas termais.

Os resultados apresentados e discutidos mostram que não houve grande diferença entre os métodos de comparação. Visando uma aplicação prática, outros fatores podem influenciar na escolha do método de comparação como, por exemplo, o tempo computacional de cada método. Os métodos IM e AC obtiveram maior estabilidade em função da temperatura. Apesar do método AC obter melhor resultados de *SNR*, o método IM consegue gerar imagens fotoacústicas termais em menor tempo, portanto, foi escolhido para a formação das imagens fotoacústicas termais do experimento de aquecimento por ultrassom focalizado. O comprimento da janela móvel foi escolhido com valor de 3λ devido a ser o maior *SNR* obtido e as imagens foram processadas de forma cumulativa.

4.2.Aquecimento por ultrassom focalizado

A caracterização da pressão gerada pelo transdutor focal foi feita pelo cálculo da pressão gerada por tensão aplicada ao elemento piezelétrico. O ganho do amplificador é igual a 50 dB e a tensão aplicada na entrada do amplificador tem valor de 100 mV, portanto, a cerâmica piezoelétrica do transdutor focal era excitada com um valor de tensão de 31,62 V. Realizou-se a calibração do transdutor focal medindo a pressão na região focal do transdutor por meio de um hidrofone (*serial number 1861, precision acoustics*), para diferentes valores de tensão aplicada. A pressão de alta magnitude na região focal para valores de tensão maiores que 5 V poderia danificar o hidrofone. Assim, se fez medidas de pressão para baixos valores de tensão e calculou-se a aproximação linear dos dados, os resultados são mostrados na Figura 26:

Figura 26. Calibração da pressão gerada no foco do transdutor focal.

Utilizando a aproximação linear foi calculado um valor de $(0,16 \pm 0,01)MPa \cdot V^{-1}$. Desta forma, estima-se que a pressão no foco do transdutor durante os experimentos de aquecimento tinha valor igual à $(5,0 \pm 0,3)MPa$.

4.2.1. Parâmetros dependentes da temperatura para a carne suína

Com o objetivo de calibrar a resposta dos sinais de pulso-eco e fotoacústica na carne suína, fez-se um experimento similar ao do *phantom*. Foi calculada a média dos valores das imagens de deformação térmica geradas pela aplicação da derivada axial nos mapas de deslocamentos calculados utilizando as imagens pulso-eco da carne suína, adquiridas para cada grau de temperatura. O gráfico apresentado na Figura 27 mostra a aproximação linear da média da derivada:

Figura 27. Aproximação linear para a média da derivada dos mapas de deslocamento para os sinais de pulso-eco.

Por meio da aproximação linear, encontrou-se a calibração experimental da dependência da temperatura das imagens de deformação térmica. Desprezando os efeitos de expansão térmica linear [26], o parâmetro ξ (equação 15) encontrado é dado por:

$$\xi = (-1,72 \pm 0,05) \cdot 10^{-6} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}. \quad (28)$$

A Figura 28 mostra a calibração para as imagens fotoacústicas, feita calculando a média dos valores dos mapas de variação percentual na amplitude do sinal fotoacústico para cada grau de temperatura.

Figura 28. Aproximação linear para a variação percentual média da amplitude do sinal fotoacústico em função da temperatura.

A aproximação linear da dependência da amplitude do sinal fotoacústico com a temperatura fornece o parâmetro característico do material α mostrado na equação (12). Para a carne suína, com adição de tinta nanquim, têm-se:

$$\alpha_{carne\ suína} = (0.113 \pm 0,003)^{\circ}\text{C}^{-1}. \quad (29)$$

4.2.2. Estimativa de temperatura

Foi feita a estimativa de variação de temperatura na região do foco do transdutor focal por meio do cálculo do deslocamento de fase dos sinais de *RF* das imagens pulso-eco e pela variação na amplitude do sinal das imagens fotoacústicas.

Estimativa de temperatura por imagem Pulso-Eco

Foram adquiridas imagens pulso-eco até uma profundidade de 40 mm durante o aquecimento da carne pelo transdutor focal, sendo que o *buffer* de memória da máquina de ultrassonografia suportava 150 imagens com essa profundidade. A partir da aquisição deste número de imagens, o *software* da máquina de ultrassom começa a sobrescrever novas imagens no *buffer* de memória, perdendo as informações coletadas anteriormente. A solução para este problema foi feita de forma a encerrar a aquisição de imagens quando a 150ª imagem fosse adquirida, salvar as imagens do *buffer* em um

arquivo e reiniciar o processo de aquisição. A Figura 29 é uma amostra de imagem pulso-eco em modo B, adquirida durante o processo de aquecimento por *HITU*.

Figura 29. Imagem pulso-eco adquirida durante o aquecimento por ultrassom focalizado.

É importante observar na imagem em modo-B (Figura 29) em que, no canto inferior direito (indicado por uma flecha), existe uma região negra (sinal de amplitude baixa) que representa o sinal da água além da borda da carne suína, essa observação será importante quando para a análise das imagens termais por pulso-eco. Para a formação dessas imagens termais utilizando os sinais pulso-eco, foi feita a derivada axial dos mapas de deslocamento calculados. A contribuição do deslocamento devido à expansão térmica foi desprezada [26] e o fator de calibração da equação (28) foi utilizado para a transformação dos mapas da derivada axial em imagens termal, como descrito na equação (17). A Figura 30 mostra as imagens termais em diferentes instantes de tempo após o início do procedimento de *HITU*.

Figura 30. Imagens pulso-eco termiais calculadas utilizando a diferença de fase gerada pelo aquecimento por *HITU* na região focal.

As imagens termiais mostram o aquecimento na região focal, centrada em aproximadamente 20 mm de profundidade e com uma variação de temperatura de aproximadamente 1,5 °C, após 90 s de procedimento. A temperatura no entorno da região focal cresce com o tempo devido à difusão do calor para o tecido circundante. Depois de 90s de aquecimento, o transdutor focal foi deligado e o resfriamento da região focal pode ser observado comparando-se as imagens termiais correspondentes a 90 e 112,5 s. A região no canto inferior direito, que corresponde ao sinal fora da carne, produz uma área de ruído. Entretanto, essa área corresponde a uma região de sinal com amplitude do sinal de eco muito baixa, da ordem do ruído eletrônica, fazendo com que o algoritmo de detecção de deslocamento calculasse a correlação-cruzada entre sinais não correlacionados. Isso gerou diversos valores aleatórios que foram derivados em relação à profundidade e produziram as manchas observadas nas imagens termiais, que não tem representatividade na estimativa da temperatura.

Para a visualização da variação da temperatura ao longo do tempo, a imagem da Figura 31 mostra o comportamento de uma linha da imagem termal que passa pelo centro do foco do ultrassom, em função do tempo de aquisição das imagens. Por essa imagem, tanto o aumento de temperatura na região central como a difusão do calor ficam bem evidenciadas,

Figura 31. Linha que passa pelo centro do foco em função do tempo. Observa-se uma queda na temperatura depois de 90s devido ao desligamento do transdutor focal.

Estimativa de temperatura por imagem fotoacústica

Foram adquiridas imagens fotoacústicas a uma profundidade de 40 mm durante o aquecimento por ultrassom focalizado, para cada pulso *LASER* foi formada uma linha da imagem fotoacústica, sendo esta configurada para ter 98 linhas. A Figura 32 mostra uma imagem fotoacústica adquirida durante o aquecimento:

Figura 32. Amostra de uma imagem fotoacústica da carne suína adquirida durante o aquecimento por ultrassom focalizado.

A região de incidência do pulso *LASER* apresenta maior sinal fotoacústico devido à maior energia óptica depositada nesta região. Imagens fotoacústicas termais foram produzidas utilizando a calibração da equação (29) aplicada aos mapas de variação percentual na amplitude do sinal fotoacústico. A Figura 33 mostra a distribuição de variação de temperatura em diferentes instantes de tempo ao longo do aquecimento por ultrassom focalizado:

Figura 33. Imagens fotoacústicas termais após diferentes períodos de tempo de exposição ao transdutor focal.

As imagens fotoacústicas termais, assim como as imagens termais geradas pelo deslocamento de eco, mostram um aquecimento na região do foco, centrado em aproximadamente 20 mm com uma elevação de temperatura em torno de 8 °C após 470 s e apresentam um aumento de temperatura em seu entorno devido à difusão do calor gerado no foco. As imagens fotoacústicas termais foram capazes de mostrar, de forma quantitativa, a variação de temperatura na região focal e em seu entorno.

A capacidade de estimativa de temperatura por imagens fotoacústicas ao longo do tempo é mostrada na Figura 34, formada uma linha das imagens fotoacústica, que passa pelo centro do foco do transdutor focal, pelo tempo do experimento:

Figura 34. Linha que passa pelo centro do foco nas imagens fotoacústicas termais em função do tempo de aquisição.

Os resultados da estimativa de temperatura apresentam o aumento médio de temperatura na região focal de 8 °C. A estimativa de temperatura por pulso-eco mostra um aumento de aproximadamente 1,5 °C na região focal, entretanto o aquecimento durante a aquisição de imagens pulso-eco teve duração de somente 90 s, enquanto a aquisição de imagens fotoacústicas teve duração de 470 s. Olhando para a temperatura estimada pelas imagens fotoacústicas em 90 s, se tem um valor em torno 2 °C, próximo daquele estimado pelas imagens pulso-eco. Além disso, observa-se que a resolução temporal das imagens fotoacústica é muito menor que a resolução temporal das imagens pulso-eco. Essa diferença ocorre devido ao atual aparato experimental utilizado em que cada pulso *LASER* é capaz de gerar uma linha da imagem fotoacústica, a resolução temporal da estimativa de temperatura por imagens fotoacústicas pode ser muito melhorada com a utilização de um modulo de recepção pararr aquisição de dados em paralelo (SonixDAQ) em conjunto com o sistema de ultrassonografia, fazendo com que seja possível a aquisição de uma imagem fotoacústica a cada pulso *LASER*.

5. Conclusões

O processamento das imagens fotoacústicas para a aquisição de imagens termais, por meio da variação na amplitude do sinal fotoacústico, foi realizado utilizando quatro métodos de comparação. Foram avaliados o desvio do valor esperado e a relação sinal ruído das imagens termais. O processamento cumulativo, isto é, o processo de comparação de variação da amplitude do sinal em imagens fotoacústicas adquiridas em temperaturas incrementais, mostrou-se mais próximo do valor esperado teoricamente. Não há diferença entre os métodos de comparação de amplitude em condições ideais, entretanto os métodos AC e IM mostraram-se mais estáveis nas condições experimentais, sendo escolhido o método IM para a estimativa de temperatura durante aquecimento por ultrassom focalizado, devido ao menor tempo computacional que este método demanda. Para o processamento não cumulativo, isto é, seleção de um grau de temperatura de referência, não houve diferença significativa entre os métodos de comparação e a estimativa de temperatura foi subestimada, mesmo quando o algoritmo de correção era retirado do processo de formação das imagens fotoacústicas termais.

O experimento de estimativa de temperatura durante aquecimento por ultrassom focalizado foi feito por deslocamento de eco e por variação na amplitude do sinal fotoacústico. Uma variação de temperatura de aproximadamente 1,5 °C na região focal, após 90s de aplicação do *HITU* foi observada pelas imagens termais por deslocamento de eco. Para este mesmo tempo observou-se uma variação próxima a 2 °C nas imagens termais por variação de amplitude do sinal fotoacústico, chegando a um valor em torno de 8 °C após 470 s. Estes resultados mostram a possibilidade de aquecimento por absorção da radiação acústica e uma estimativa de temperatura próxima entre as duas formas de formação de imagens térmicas. Essa etapa também foi importante para desenvolver um método experimental capaz de sincronizar o aquecimento por ultrassom focalizado e aquisição dos sinais de *RF* sem que o aquecimento causasse interferência nas imagens, mas ainda com capacidade de aquecimento por absorção da radiação acústica.

A estimativa de temperatura por deslocamento de eco também apresentou a capacidade de mostrar o resfriamento da região focal após o desligamento do transdutor focal. Para a estimativa de temperatura por variação na amplitude do sinal fotoacústico, foi feito somente o aquecimento pelo transdutor focalizado, sem seu desligamento, devido à baixa frequência de amostragem do atual aparato experimental. Com uma

maior resolução temporal das imagens fotoacústica pretende-se avaliar sua capacidade de medir o resfriamento da região focal como feito com as imagens pulso-eco.

Para futuros trabalhos, é pretendida a aplicação do aquecimento por ultrassom focalizado e utilização de imagens fotoacústicas para análise, caracterização e influência da oxigenação de tumores desenvolvidos em modelo animal.

6. Publicações

A proposta de formação de imagens fotoacústicas termais utilizando um sistema de ultrassonografia comercial foi publicado no XXXVIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada (ENFMC) com o título “*Photoacoustic mapping temperature and spatial distribution of magnetic nanoparticles*”. Os resultados da comparação entre os quatro métodos de formação das imagens fotoacústicas termais foram publicados no 2016 – *IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* com o título “*Optimizing photoacoustic-based thermal image formation by comparing four different methods*”. Um artigo sobre todo o trabalho está em fase de confecção e pretende-se submeter à *IEEE Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control Society*.

7. Referências

- [1] J. Shah, S. Park, S. Aglyamov, T. Larson, L. Ma, K. Sokolov, K. Johnston, T. Milner, and S. Y. Emelianov, “Photoacoustic imaging and temperature measurement for photothermal cancer therapy,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 13, no. 3, p. 34024, 2008.
- [2] M. H. Falk and R. D. Issels, “Hyperthermia in oncology,” *Int. J. Hyperthermia*, vol. 17, no. 1, pp. 1–18, 2001.
- [3] P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, B. Rau, J. Gellermann, H. Riess, R. Felix, and P. M. Schlag, “Hyperthermia in combined treatment of cancer,” *Lancet Oncol.*, vol. 3, no. 8, pp. 487–497, 2002.
- [4] A. C. Steger, W. R. Lees, K. Walmsley, and S. G. Bown, “Interstitial laser hyperthermia: a new approach to local destruction of tumours,” *BMJ*, vol. 299, no. 6695, pp. 362–5, 1989.

- [5] J. Wu and G. Du, "Temperature elevation generated by a focused Gaussian beam of ultrasound," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 16, pp. 489–498, 1990.
- [6] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, and J. Dobson, "Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine," *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 36, pp. R167–R181, 2003.
- [7] S. Crouzet, F. J. Murat, G. Pasticier, P. Cassier, J. Y. Chapelon, and A. Gelet, "High intensity focused ultrasound (HIFU) for prostate cancer: current clinical status, outcomes and future perspectives.," *Int. J. Hyperthermia*, vol. 26, no. December, pp. 796–803, 2010.
- [8] J. W. Jenne, T. Preusser, and M. Günther, "High-intensity focused ultrasound: Principles, therapy guidance, simulations and applications," *Z. Med. Phys.*, vol. 22, no. 4, pp. 311–322, 2012.
- [9] T. Varghese, J. . Zagzebski, Q. Chen, U. Techavipoo, G. Frank, C. Johnson, A. Wright, and F. . Lee, "Ultrasound monitoring of temperature change during radiofrequency ablation: preliminary in-vivo results," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 28, no. 3, pp. 321–329, 2002.
- [10] J. Allen and K. Howell, "Infrared thermal imaging in medicine," *Physiol. Meas.*, vol. 33, pp. R33–R46, 2012.
- [11] V. Rieke and K. B. Pauly, "MR Thermometry," *J. Magn. Ressonance Imaging*, vol. 390, pp. 376–390, 2008.
- [12] T. Z. Pavan, A. A. Carneiro, and S. Y. Emelianov, "Fotoacústica, imagens da interação de luz e som no corpo humano," *Ciência Hoje*, vol. 50, no. 297, pp. 38–42, 2012.
- [13] M. Xu and L. V. Wang, "Photoacoustic imaging in biomedicine," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 77, no. 4, p. 41101, 2006.
- [14] L. V. Wang and H. Wu, *Biomedical Optics: Principles and Imaging*. John Wiley & Sons, 2007.
- [15] C. Kim, T. N. Erpelding, L. Jankovic, M. D. Pashley, and L. V. Wang, "Deeply penetrating in vivo photoacoustic imaging using a clinical ultrasound array system," *Biomed. Opt. Express*, vol. 1, no. 1, p. 278, 2010.

- [16] L. V. Wang and S. Hu, "Photoacoustic Tomography: In Vivo Imaging from Organelles to Organs," *Science* (80-.), vol. 335, no. 6075, pp. 1458–1462, 2012.
- [17] I. V Larina, K. V Larin, and R. O. Esenaliev, "Real-time optoacoustic monitoring of temperature in tissues," *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 38, no. 15, pp. 2633–2639, 2005.
- [18] S. Kim, Y. S. Chen, G. Luke, and S. Emelianov, "In-Vivo ultrasound and photoacoustic image-guided photothermal cancer therapy using silica-coated gold nanorods," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 61, no. 5, pp. 891–897, 2014.
- [19] H. Ke, S. Tai, and L. V Wang, "Photoacoustic thermography of tissue.," *J. Biomed. Opt.*, vol. 19, no. 2, p. 26003, 2014.
- [20] J. Yao, H. Ke, S. Tai, Y. Zhou, and L. V Wang, "Absolute photoacoustic thermometry in deep tissue.," *Opt. Lett.*, vol. 38, no. 24, pp. 5228–31, 2013.
- [21] M. Chu, Y. Shao, J. Peng, X. Dai, H. Li, Q. Wu, and D. Shi, "Near-infrared laser light mediated cancer therapy by photothermal effect of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles.," *Biomaterials*, vol. 34, no. 16, pp. 4078–88, May 2013.
- [22] A. J. Welch and M. J. C. van Gemert, Eds., *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, 2nd Editio. NY: Springer-Verlag, 2011.
- [23] F. A. DUCK, *Physical Properties Of Tissue*. New York: Academic, 1990.
- [24] J. C. Bamber and C. R. Hill, "Ultrasonic Attenuation And Propagation Speed In Mammalian Tissues As A Function Of Temperature," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 5, pp. 149–157, 1979.
- [25] I. K. Kikoin, *Handbook Of Chemistry And Physics*, 54th ed. Cleveland: CRC Press, 1974.
- [26] C. H. Seo, Y. Shi, S.-W. Huang, K. Kim, and M. O'Donnell, "Thermal strain imaging: a review," *Interface Focus*, vol. 1, no. 4, pp. 649–664, 2011.
- [27] R. Maass-Moreno and C. Damianou, "Noninvasive temperature estimation in tissue via ultrasound echoshifts, Part I. Analytical model.," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 100, pp. 2514–2521, 1996.

- [28] R. Nasoni and T. Bowen, *Ultrasonic speed as a parameter for noninvasive thermometry. In Non-invasive temperature measurement*. New York: NY: Gordon and Breach, 1989.
- [29] J. G. Lynn, R. L. Zwemer, A. J. Chick, and A. E. Miller, "A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology," *J. Gen. Physiol.*, vol. 26, no. 2, pp. 179–193, 1942.
- [30] G. T. Clement, "Perspectives in clinical uses of high-intensity focused ultrasound," *Ultrasonics*, vol. 42, no. 10, pp. 1087–1093, 2004.
- [31] E. S. Ebbini and G. Ter Haar, "Ultrasound-guided therapeutic focused ultrasound: Current status and future directions," *Int. J. Hyperth.*, vol. 31, no. 2, pp. 77–89, 2015.
- [32] a H. Chung, F. a Jolesz, and K. Hynynen, "Thermal dosimetry of a focused ultrasound beam in vivo by magnetic resonance imaging,," *Med. Phys.*, vol. 26, no. 1999, pp. 2017–2026, 1999.
- [33] S. Vaezy, X. Shi, R. W. Martin, E. Chi, P. I. Nelson, M. R. Bailey, and L. A. Crum, "Real-time visualization of high-intensity focused ultrasound treatment using ultrasound imaging," *Ultrasound Med Biol*, vol. 27, no. 1, pp. 33–42, 2001.
- [34] Z. Wang, J. Li, and R. Wu, "Time-delay- And time-reversal-based robust Capon beamformers for ultrasound imaging," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 24, no. 10, pp. 1308–1322, 2005.
- [35] M. M. Rahman, S. B. Khan, A. Jamal, M. Faisal, and A. M. Aisiri, "Iron Oxide Nanoparticles," *Nanomaterials*, vol. 3, no. December, pp. 43–67, 2011.
- [36] M. a Lubinski, S. Y. Emelianov, and M. O'Donnell, "Speckle tracking methods for ultrasonic elasticity imaging using short time correlation," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 46, no. 1, pp. 82–96, 1999.
- [37] J. R. Cook, R. R. Bouchard, and S. Y. Emelianov, "Tissue-mimicking phantoms for photoacoustic and ultrasonic imaging,," *Biomed. Opt. Express*, vol. 2, no. 11, pp. 3193–206, 2011.