

Desarrollo de un sistema de fotoirradiación para terapia fotodinámica con control dosimétrico

Development of a photoirradiation system for photodynamic therapy with dosimetric control

Luis Hernández Quintanar*, Suren Stolik Isakina, José Manuel de la Rosa Vázquez

Sección de Estudios de Posgrado. ESIME-IPN. Edificio No.5, U.P. "Adolfo López Mateos". Zacatenco C.P. 07630 México D.F. Mexico.

(Recibido el 21 de junio de 2011. Aceptado el 17 de noviembre de 2011)

Resumen

La Terapia Fotodinámica es un tratamiento bien conocido basado en la interacción de la luz con un fármaco fotosensibilizador, utilizado en el tratamiento de ciertas enfermedades como el cáncer. En este trabajo se propone el desarrollo de un sistema de irradiación superficial para Terapia Fotodinámica, que posibilite la aplicación de radiación óptica a 630 nm, utilizando un diodo emisor de luz como fuente de radiación. Se presenta el desarrollo de un control de la dosis de energía en profundidad, el cual incorpora los cálculos de un modelo de distribución de la radiación. Se reporta también la construcción y caracterización de tejidos sintéticos en suspensión acuosa, utilizados para la verificación de los modelos y las pruebas de desempeño del sistema.

----- *Palabras clave:* Dosimetría, instrumentación biomédica, terapia fotodinámica, tejido sintético

Abstract

Photodynamic Therapy is a well know treatment based on light interaction with a photosensitizing drug, used in the treatment of certain diseases like cancer. In this issue, the development of a system for superficial irradiation, which allows the application of Photodynamic Therapy at 630nm using a light emitting diode as a radiation source. It is proposed a control for the energy dose delivery in depth, which incorporates the calculations from a radiation distribution model. Also it is reported the construction and characterization of optical phantoms in aqueous suspensions, used for models' verification and system performance testing.

* Autor de correspondencia: teléfono + 52 + 55 + 57 29 60 00 ext. 54608, ext. 54622 (fax), correo electrónico: xbio_ionic@yahoo.com.mx (L. Hernández)

----- *Keywords:* Dosimetry, biomedical instrumentation, photodynamic therapy, phantoms

Introducción

La luz ha sido utilizada como agente terapéutico desde la antigüedad. No fue hasta principios del siglo XX cuando Niels Finsen desarrolló el término fototerapia para designar al uso de luz para el tratamiento de enfermedades [1]. Entre las fototerapias, la Terapia Fotodinámica (PDT) ha emergido como un tratamiento promisorio del cáncer y otras enfermedades utilizando la activación de un agente químico, llamado fotosensibilizador (PS, por sus siglas en inglés), el cual al ser activado mediante luz de cierta longitud de onda, contribuye a la formación de especies reactivas de oxígeno que destruye de forma localizada las células enfermas [2], así como también la desactivación de virus y la destrucción de bacterias y hongos [3]. Debido a la facilidad de irradiar directamente a la piel, gran parte de las investigaciones se han dirigido a las aplicaciones dermatológicas, utilizando como agente PS un pro-fármaco conocido como Ácido 5-Amino-Levulínico (5-ALA) el cual está involucrado en la generación de una porfirina altamente fotoactiva, la Ptoporfirina IX (PpIX) [4]. En la figura 1 se muestra el espectro de absorción de la PpIX.

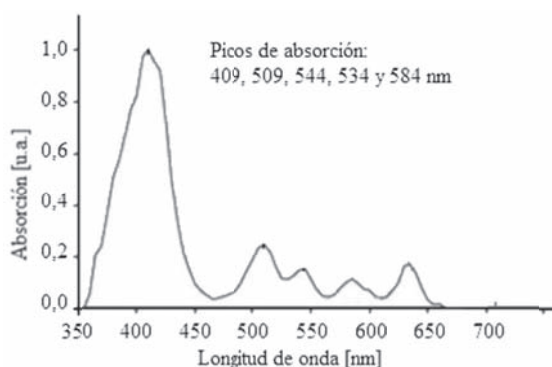


Figura 1 Espectro de absorción de la PpIX. Se presenta la absorción en unidades arbitrarias (u.a.). Tomado de [4].

Los requerimientos básicos para las fuentes de luz en la PDT son: coincidir con un máximo del espectro de activación del PS, generar la potencia necesaria de forma eficiente y que la penetración tisular sea óptima [5]. Para la aplicación de la PDT en clínica se han utilizado diversos tipos de fuentes luminosas, entre las que se incluyen láseres, lámparas con filtros y diodos emisores de luz (LEDs), las cuales han mostrado eficiencias similares [6]. El principal problema del uso de láseres es el alto costo asociado a su operación y mantenimiento, mientras que con el desarrollo de los LEDs, estos son ahora una tecnología viable para su aplicación en la PDT, debido a la disminución de su costo y al aumento en su potencia óptica. Aunque presentan la desventaja de no ser sintonizables, su bajo costo permite la construcción de diferentes unidades para cada fotosensibilizador. Si bien aún no existe una normatividad sobre las fuentes de luz para PDT, la Asociación Americana de Físicos en Medicina (AAPM, por sus siglas en inglés) ha propuesto que las fuentes de luz para PDT deben presentar una estabilidad del 5%/hora de la potencia óptica y el 10%/semana [7].

Una de las potenciales ventajas de la PDT es que la selección de los parámetros del tratamiento como son el fotosensibilizador, el intervalo de tiempo entre administración del fármaco y la luz, la dosis total y el ritmo de fluencia de luz, puede, al menos en parte, ser ajustada para elegir los principales blancos biológicos y la respuesta resultante [8]. Para una PDT efectiva se debe asegurar que el producto de la irradiancia y el tiempo de exposición excedan un valor umbral en el cual ocurren efectos letales en el área deseada minimizando los daños en el tejido sano. Entonces, el objetivo de la dosimetría en la PDT es que la combinación de los factores involucrados en la PDT resulte en una máxima ablación del tumor [9]. Con el objeto de describir la propagación de la luz en los materiales biológicos y conocer la relación existente entre la irradiancia incidente

con los resultados fisiológicos y así modelar el proceso para poder realizar una planeación y optimización de la terapia, se han desarrollado descripciones matemáticas basadas en la teoría de transporte radiativo [10], como son el método de difusión [10,11] y el de Montecarlo [12] entre otros.

Para la verificación del funcionamiento de los nuevos equipos de fotorradiación, pruebas de desempeño y pruebas de control rutinarias se desarrollan y utilizan objetos que mimeticen las propiedades ópticas de los tejidos biológicos, conocidos como tejidos sintéticos [13,14]. Estos se han desarrollado tanto en medios acuosos como sólidos, utilizando diversas sustancias para imitar las propiedades ópticas de los tejidos. Entre los tejidos sintéticos más utilizados se encuentran las suspensiones de micropartículas de lípidos, las cuales son biológicamente similares a lo que se cree es la causa del esparcimiento en los tejidos, la membrana bi-lipídica de las células y organelos [14].

En este trabajo se presenta el desarrollo de un sistema de irradiación para aplicaciones superficiales de PDT. El sistema posee un LED de 5W de potencia, y cuenta con la capacidad de calcular la dosis de energía luminosa que debe irradiarse de acuerdo a las propiedades del tejido, para obtener un efecto óptimo en la terapia utilizando un modelo de transporte de radiación en profundidad. La fuente se ajustó a los parámetros de estabilidad de la AAPM, además para su verificación se construyeron y utilizaron tejidos sintéticos con diferentes propiedades ópticas.

Experimentación

Sistema

El sistema desarrollado fue optimizado para la aplicación de PDT con 5-ALA. Acorde al espectro de absorción mostrado en la figura 1, se seleccionó un LED (LG-05W4C3-503FB) ya que cuenta, con un espectro de emisión con máximo en 630nm y un FWHM de 15nm, con

una máxima potencia de emisión de 801,8mW, a 1200mA. Debido a su amplio ángulo de divergencia (140°), fue necesario acoplar un cilindro de acrílico (50mm longitud, 10mm de diámetro). El haz obtenido presenta un ángulo menor (40°). Se eligió el acrílico por su alta transmitancia (92%) en esta longitud de onda, la facilidad de maquinado y su resistencia. El sistema LED/acrílico fue montado en una pieza cilíndrica de aluminio utilizada como montura y como disipador de calor.

Para regular la corriente que alimenta el LED, se utilizó un módulo BUCKPLUS7021-DE-1000 (LUXDRIVE). Este módulo no requiere de disipador de calor para operar, tiene una alta eficiencia ($>90\%$), respuesta rápida ($15\mu\text{s}$), además de poder controlar su salida por señales TTL.

Para el control de la potencia óptica del LED se utilizó un microcontrolador PIC16F876A, que permite al operador seleccionar el tipo de tejido, la irradiancia y el tiempo de irradiación por medio de un teclado matricial, además controla una pantalla LCD de 16x2 líneas que muestra el menú con los requerimientos para la terapia, la potencia óptica de salida y el tiempo de tratamiento restante. Se propuso el uso de la modulación por ancho de pulso (PWM, por sus siglas en inglés) para controlar la corriente del LED, ya que es más precisa que otros métodos, además el PIC utilizado cuenta con dos salidas PWM con una resolución máxima de salida de 10 bits lo que permite una resolución del 0,1% en el ciclo de trabajo (DC), y puede operar hasta con una frecuencia de 50kHz usando un cristal de 4MHz. Diferentes valores del período PWM fueron probados para encontrar la mejor relación entre el período y la corriente en el LED.

Para verificar y controlar la estabilidad de la potencia óptica durante el funcionamiento, una resistencia de $0,5\Omega \pm 1\%$ fue colocada en serie con el LED, lo cual permite medir la corriente. Se añadió un filtro pasabajos con frecuencia de corte de 1Hz y un amplificador para ajustar la salida a 5V ya que éste circuito va conectado a

una entrada del Convertidor Digital Analógico (ADC, por sus siglas en inglés) del PIC, el cual por medio de software verifica la estabilidad de la corriente. Finalmente se incorporó un sistema de verificación de la potencia óptica, utilizando un fotodetector SD1420 (Honeywell) el cual se colocó dentro de la caja de control, detrás de un vidrio esmerilado para que pueda ser colocado el irradiador a 1cm de distancia del detector. La señal del fotodetector se amplifica y filtra de la misma forma que la señal del arreglo de resistencias y se conecta a otra entrada ADC del PIC.

Las mediciones de potencia óptica fueron realizadas utilizando una termopila TPM-510 (LEXEL Laser), con un área de detección de 1cm². Las mediciones de corriente fueron realizadas con un multímetro FLUKE 710. El espectro de emisión fue medido con un espectrómetro HR4000 (OceanOptics). El cilindro de acrílico fue alineado con la termopila a una distancia de 0,5cm en completa oscuridad, tomando mediciones de la potencia óptica, la corriente en el LED y el valor del voltaje en el ADC, tomando muestras cada 30 segundos, para un total de 15 minutos, repetido para cada intervalo de 10% del DC.

Tejido sintético

Para las pruebas del sistema, se construyeron tejidos sintéticos en los que se puede reproducir las propiedades ópticas de esparcimiento, absorción y anisotropía. Se utilizó una suspensión acuosa de intralípido, Lipofundin N® al 10% (B. Braun Melsungen AG), como medio esparcidor y azul de metileno como medio absorbente. Las soluciones fueron caracterizadas de manera similar a como se muestra en [15] para obtener sus parámetros ópticos en función de la concentración.

Para la caracterización de las sustancias, además de la medición del ritmo de fluencia a profundidad, se utilizaron fibras ópticas de 700µm con una punta esférica isotrópica de 3mm de diámetro. Las suspensiones fueron colocadas en un recipiente de acrílico (10cm x 10cm x 10cm), el cual se colocó dentro de otro recipiente de acrílico (12cm x 12cm x 12cm) con agua para acoplar los índices de

refracción, ambos recipientes se colocaron dentro de un tercero (13cm x 13cm x 13cm) de acrílico negro que cuenta con una ventana de 1,1cm de diámetro para acomodar el irradiador. La fibra óptica se introdujo a las suspensiones por medio de un tubo de vidrio que puede ser desplazado a lo largo del eje de irradiación y el otro extremo se conectó a un fotodetector (SD1420). El arreglo utilizado para los experimentos se muestra en la figura 2.

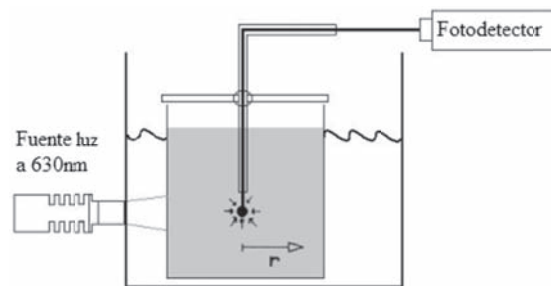


Figura 2 Arreglo experimental para las mediciones del ritmo de fluencia. El detector se desplazó a lo largo del eje de irradiación una distancia r

Modelo de radiación en profundidad

Para la modelación de la distribución de la luz en profundidad dentro del tejido, se utilizaron dos modelos: uno fue la aproximación de difusión de la ecuación de transporte radiativo para un haz colimado de diámetro finito (1cm) en un medio semi-infinito, utilizando las soluciones reportadas para el caso unidimensional [10,16]; el otro modelo utilizado fue el de Montecarlo (MC), utilizando como base un código de distribución libre [17], modificado para agregar la fuente luminosa del modelo de difusión. En ambas soluciones se utilizaron diferentes parámetros ópticos, un diámetro del haz de 10mm, mientras que en el programa de Montecarlo se realizó la simulación con 50.000 fotones, ya que un proporciona una respuesta detallada del comportamiento de la luz en el tejido y un número mayor no refleja mejoras en el resultado de la simulación.

Resultados y discusión

En la figura 3 se muestra el diagrama de bloques del sistema desarrollado.

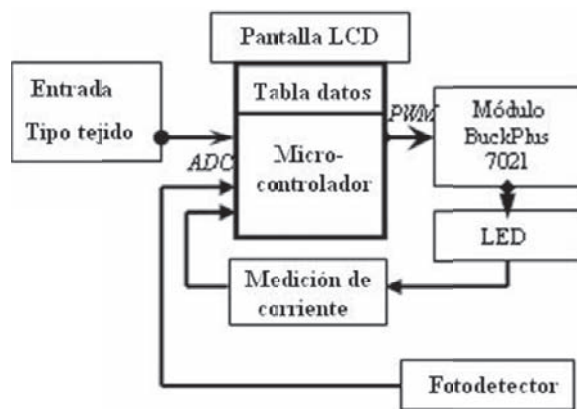


Figura 3 Diagrama a bloques del sistema

Primeramente, se realizó la selección de la frecuencia de operación del PWM. Las pruebas mostraron que a la frecuencia de 1kHz, la relación entre el DC y la corriente es lineal y además, es posible alcanzar una corriente en el LED de 1.100mA (datos no mostrados). El siguiente paso fue la medición de la estabilidad de la corriente y la potencia óptica. La relación entre estos dos parámetros es completamente lineal; la corriente máxima alcanzada fue de 1.101,9±2,8mA y además la potencia óptica fue comparada sin y con el sistema óptico de acrílico, esto mostró que sin el acrílico la máxima potencia óptica alcanzada fue de 499,0±6,0mW y con el acrílico fue de 300,7±3,6mW, mostrando una eficiencia de acople de 60,24%. Esta comparación se muestra en la figura 4.

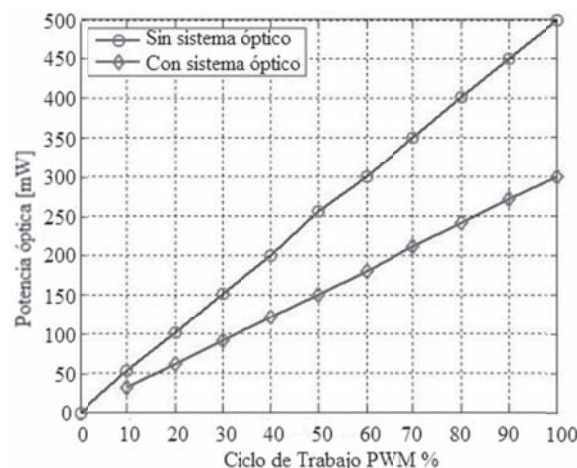


Figura 4 Comparativo entre la potencia óptica de salida sin y con el cilindro de acrílico

La relación entre la potencia óptica y el porcentaje de DC, fue ajustada utilizando una regresión lineal por mínimos cuadrados para incluir la ecuación obtenida en el PIC para controlar la potencia óptica de salida. Con el ajuste de los datos, se obtuvo la ecuación 1.

$$P(D) = 3,006 D - 0,6725 \quad (1)$$

donde D es el porcentaje de DC.

Posteriormente al introducir la ecuación 1 al sistema, se realizaron correcciones al software del PIC para mantener la estabilidad del sistema dentro de un ±5%, incrementando o disminuyendo el DC de acuerdo al valor leído en el arreglo de resistencias. Se realizaron pruebas de estabilidad y en los resultados sin la corrección por software, se halló que por debajo del 10% del DC algunos valores no se encuentran dentro del intervalo permitido, sin embargo al añadir la corrección por software, todos los valores se encontraron dentro del intervalo. Esta desviación hallada por debajo del 10% del DC, se debe a la curva de respuesta del módulo BuckPlus, puesto que presenta un comportamiento lineal solo cuando el voltaje en el pin de control está en el intervalo de 1,6V a 4,6V, por lo que fuera de este intervalo y en especial en valores bajos del DC, se requiere del ajuste. En la figura 5 se muestran las pruebas de retroalimentación realizadas por corrección del software del DC con el valor en el ADC del PIC leído de la pantalla LCD.

Por otro lado se verificó el máximo de emisión del LED con el sistema óptico encontrando que existe una deriva en la longitud de onda pico de acuerdo al DC de alrededor de 5nm, sin embargo estese encuentra en el intervalo de una banda de absorción de la PpIX. Además de acuerdo a algunos estudios [6] se ha encontrado por cálculos biofísicos que las fuentes de luz LED con emisión de 631±2 nm presentan una acción fotodinámica a mayor profundidad en el tejido que otras longitudes de onda, por lo que se asegura tanto la emisión en el intervalo de absorción de la PpIX como una mayor profundidad del tratamiento. En la figura 6 se muestra el pico de emisión del sistema.

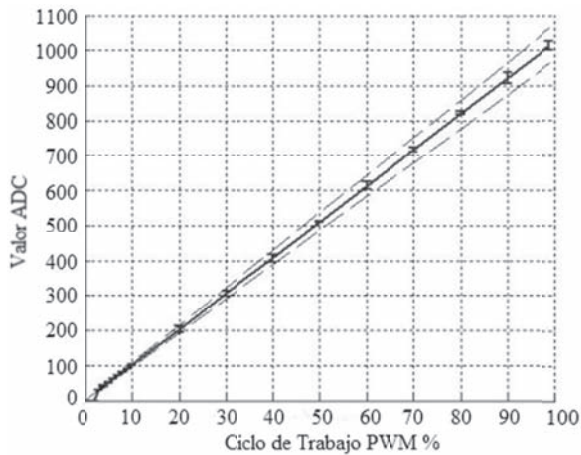


Figura 5 Prueba de retroalimentación del sistema con corrección por software. Se muestra el intervalo de $\pm 5\%$

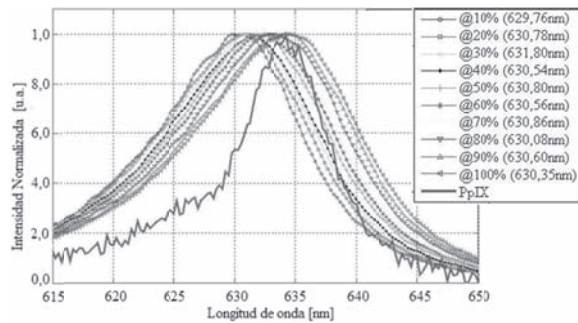


Figura 6 Desviación de la longitud de onda con respecto al ciclo de trabajo. El ancho de banda a la mitad del máximo (FWHM) promedio: $15,48 \pm 0,58 \text{ nm}$. La línea continua gruesa muestra el pico de absorción de la PpIX obtenido de [18].

Finalmente se caracterizó el sistema de verificación con el fotodetector ajustando los valores leídos en la entrada del ADC del PIC con el DC por medio de un polinomio cuadrático, mostrado en la ecuación 2.

$$V(D) = -0,0001462D^2 + 0,0594D + 0,3056 \quad (2)$$

De acuerdo a los valores que se obtengan en cuanto al polinomio de ajuste de la corriente, la potencia óptica y el valor del ADC del fotodetector, el microcontrolador compara los

valores y así se podrá verificar si el LED continua funcionando adecuadamente o si es necesaria una recalibración o cambio del mismo. El módulo de medición de potencia se verificó colocando entre el irradiador y el fotodiodo algunos objetos que disminuyen la intensidad de luz transmitida, y se comparó con la termopila. En la tabla 1 se muestra los resultados de la medición de la transmisión detectada por el sistema y por la termopila.

Tabla 1 Transmisión detectada por el sistema y la termopila

Objeto (espesor)	%Transmisión	
	Sistema	Termopila
Vidrio (1mm)	81,3	79,1
Acrílico (3mm)	85,2	84,6
Baquelita (1mm)	63,4	60,1

En la figura 7 se muestra una fotografía del sistema desarrollado.

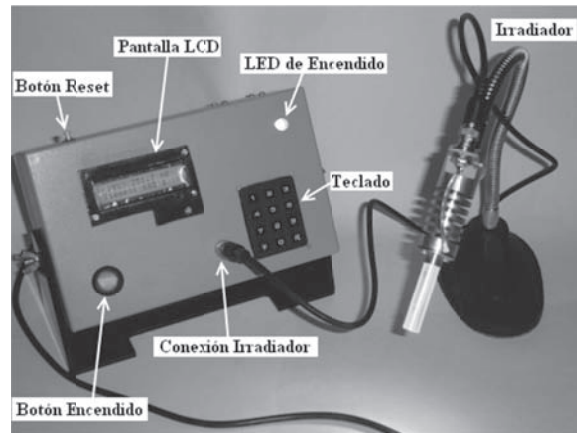


Figura 7 Sistema desarrollado

Para caracterizar los tejidos sintéticos, se obtuvieron los coeficientes ópticos para el intralípido (esparcimiento y absorción) y el azul de metileno (absorción, ya que por la solubilidad del compuesto en agua, no hay influencia en el esparcimiento de luz), además del valor promedio de la anisotropía para los tejidos sintéticos construidos ($g=0,75 \pm 0,05$). Los datos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2 Propiedades ópticas del intralípido y del azul de metileno

	Intralípido	Azul de Metileno
Esparcimiento	$\mu_s = (59,10 \pm 0,20) \times 10^{-3} \text{ mm}^{-1} \text{ mL}^{-1} \text{ L}$	-
Absorción	$\mu_a = (6,05 \pm 0,18) \times 10^5 \text{ mm}^{-1} \text{ mL}^{-1} \text{ L}$	$\mu_s = (13,39 \pm 0,17) \text{ mm}^{-1} \text{ mL}^{-1} \text{ L}$

Con estos coeficientes se simularon tejidos ópticos con diferentes propiedades ópticas, mostrados en la tabla 3. Se seleccionaron estos coeficientes para

simular medios predominantemente absorbentes, esparsivos o diluidos, así como uno similar a la dermis.

Tabla 3 Propiedades ópticas de los tejidos sintéticos construidos

#	$\mu_s [\text{mm}^{-1}]$	$\mu_a [\text{mm}^{-1}]$	g	Característica especial
1	2	0,05	0,75	Medio absorbente
2	1	0,025	0,75	Dilución del tejido 1 al 50%
3	0,5	0,0125	0,75	Dilución del tejido 2 al 50%
4	0,4	0,01	0,75	Dilución del tejido 1 al 20%
5	0,53	0,096	0,75	Similar a dermis[19]
6	1	0,001	0,75	Medio esparsivo
7	0,4	0,001	0,75	Medio tenue

Se realizaron las pruebas del sistema en estos tejidos sintéticos, junto con los cálculos de los modelos de distribución de la radiación en profundidad.

En la figura 8 se observa el ritmo de fluencia entre la irradiancia incidente en función de la profundidad de penetración óptica (δ) para medios absorbentes, los valores obtenidos tanto en las simulaciones como los experimentales, son muy similares entre si (diferencia de alrededor del 10%), con algunos puntos notables que están cercanos a la frontera, sin embargo esto es debido a las consideraciones tomadas en las condiciones de frontera de la aproximación de la difusión; además se observó que el ritmo de fluencia inmediatamente al entrar al medio es mayor que la irradiancia y esta proporción en general fue menor de 4,5, dependiendo de la concentración de azul de metileno, ya que en el caso del medio más absorbente (figura 8c), fue menor a 1,5, y esto es causado por la reflexión interna en los bordes.

Por otro lado de la misma forma que en la figura 8, en la figura 9 se puede observar para medios diluidos que los valores experimentales no corresponden a lo simulado (asteriscos). Se observó que, en estos casos, al ser soluciones diluidas, la penetración de la luz es mayor y aparecen algunos efectos de reflexión en las paredes del recipiente donde se coloca el agua y dado que tanto el modelo de difusión como la simulación Montecarlo consideran un medio infinito en el plano de incidencia del haz y semi-infinito en el eje de incidencia, este tipo de situaciones no pueden ser simuladas con este arreglo, por lo que se procedió a cubrir las paredes de este recipiente con un plástico de color negro mate que funciona como un medio absorbente y permite simular el medio infinito. En la figura 9 se observan los resultados obtenidos con este arreglo experimental (puntos), los cuales presentan una menor diferencia con las simulaciones.

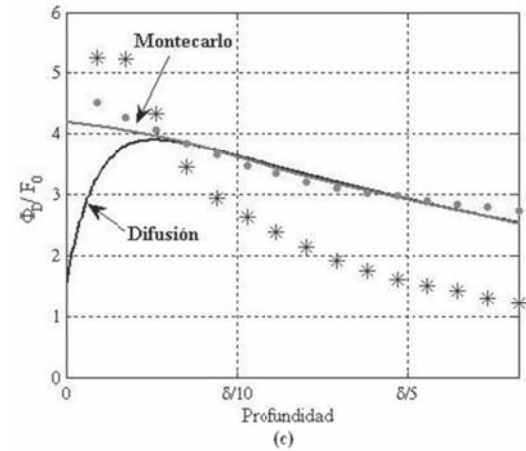
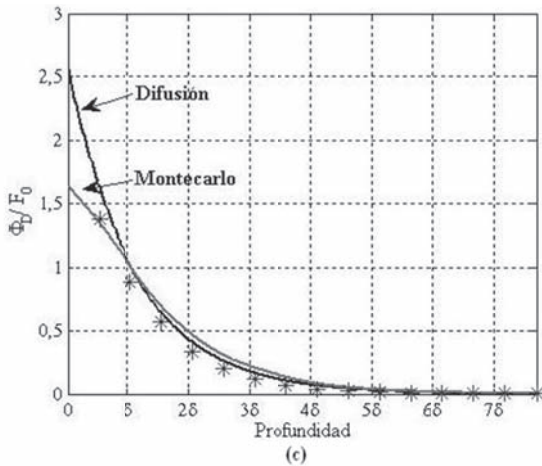
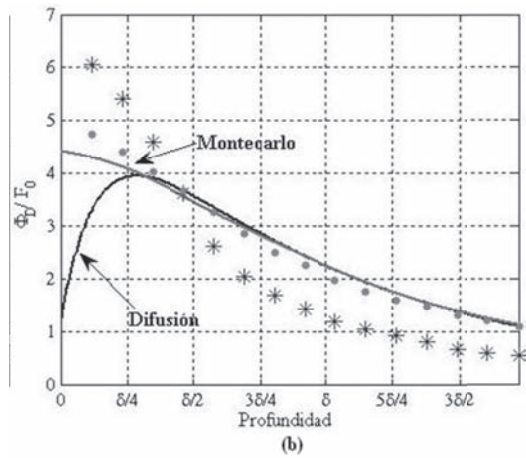
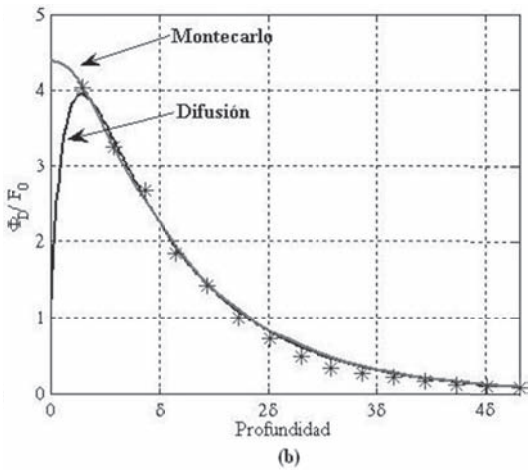
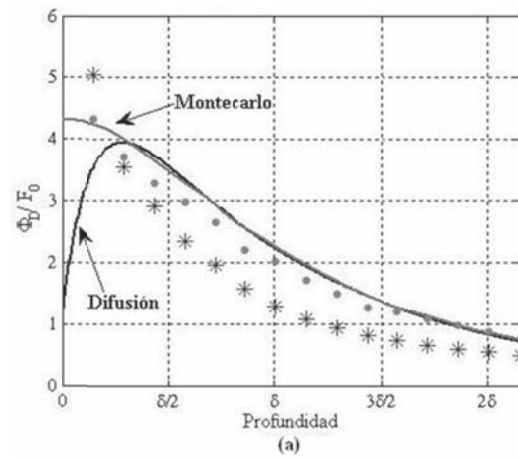
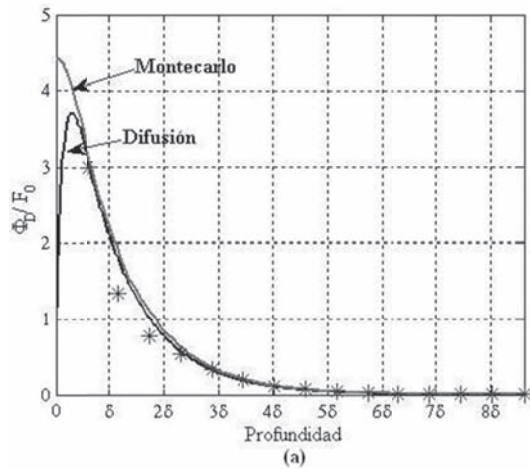


Figura 8 Comparación de las pruebas experimentales (asteriscos) contra lo obtenido con el modelo de difusión y Montecarlo (líneas continuas), para medios absorbentes, (a) tejido 1, $\delta = 3,48$ mm, (b) tejido 2, $\delta = 6,96$ mmy (c) tejido 3, $\delta = 3,90$ mm

Figura 9 Comparación del modelo de difusión y Montecarlo (líneas continuas), contra las pruebas experimentales (asteriscos), para medios diluidos, (a) tejido 4, $\delta = 13,92$ mm, (b) tejido 5, $\delta = 17,41$ mm y (c) tejido 6, $\delta = 113,23$ mm. Al evitar las reflexiones internas (puntos) se observa una menor diferencia

Finalmente puede observarse que en el caso de la prueba realizada sin empatar los índices de refracción en el medio mayormente esparso (figura 10), se obtuvieron valores mayores de fluencia cercanos al borde, a causa de una mayor reflexión interna en la frontera medio-acrílico-aire, que en la frontera medio-acrílico-agua, de la misma forma que lo que se observa en la figura 9c con los efectos de reflexión, y las diferencias con los modelos fue en gran medida debida a que no se tomó en consideración la diferencia de índices de refracción en los cálculos.

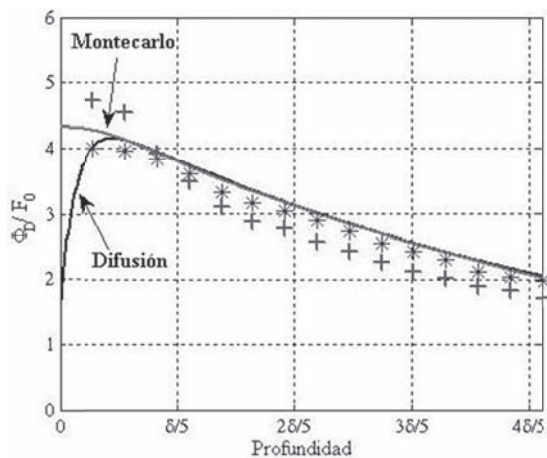


Figura 10 Comparación de las pruebas experimentales contra lo obtenido con el modelo de difusión y Montecarlo. Se observa las pruebas sin empatar los índices de refracción (cruces) y empatando los índices (asteriscos), $\delta = 36,44$ mm.

Conclusiones

Se desarrollo un sistema para la radiación en PDT utilizando 5-ALA con la capacidad de calcular la dosis deseada en profundidad dependiendo del tejido a irradiar, además el sistema satisface las necesidades de potencia, longitud de onda y estabilidad para la aplicación de la PDT. Por otro lado, el uso de los tejidos sintéticos proporcionó una herramienta útil para la comprobación del sistema sin necesidad de la realización de pruebas *in vitro* o *in vivo*.

Referencias

1. J. Moan, Q. Peng. "An outline of the hundred-year history of PDT". *Anticancer Res.* Vol. 23. 2003. pp. 3591-600.
2. P. N. Prasad. *Introduction to Biophotonics*. Ed. John Wiley & Sons Inc. USA. 2003 pp. 237-243.
3. A. E. da Hora Machado. "Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas". *Química Nova*. Vol. 23. 2000. pp. 273-243.
4. M. H. Gold, M. P. Goldman. "5-Aminolevulinic Acid Photodynamic Therapy: Where We Have Been and Where We Are Going". *Dermatol. Surg.* Vol. 30. 2004. pp. 1077-1084.
5. T. S. Mang. "Dosimetric Concepts for PDT". *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. Vol. 5. 2008. pp. 217-223.
6. A. Juzeniene, P. Juzenas, Li-Wei Ma, V. Iani, J. Moan. "Effectiveness of different light sources for 5-ALA PDT". *Laser Med Sci.* Vol. 19. 2004. pp. 139-149
7. AAPM Report No. 88. *Photodynamic Therapy Dosimetry*. American Association of Physicist in Medicine. USA. 2005. pp. 11-12.
8. B. W. Henderson, T. M. Busch, J. W. Snyder. "Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms". *Lasers Surg. Med.* Vol. 38. 2006. pp. 489-93.
9. B. C. Wilson, M. S. Patterson, "The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy". *Phys. Med. Biol.* Vol. 53. 2008. pp 61-109.
10. A. Ishimaru. "Diffusion Approximation". *Wave Propagation and scattering in random media, single scattering and transport theory*. Vol. 1. Ed. Academic Press. USA. 1978. pp. 175-185.
11. J. L. Karagiannes, Z. Zhang, B. Grossweiner, L. I. Grossweiner. "Applications of the 1-D diffusion approximation to the optics of tissues and tissue phantoms". *Applied Optics*. Vol. 28. 1989. pp. 2311-2317.
12. S. L. Jacques, L. Wang. "Montecarlo modeling of light transport tissues". *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*. J. Ashley Welsh, Martin J. C. van Gemert (editors). Ed. Plenum Press. New York (USA). 2005. pp. 73-99.
13. B. W. Pogue, M. S. Patterson. "Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry". *Journal of Biomedical Optics*. Vol. 11. 2006. pp. 1-16.

14. H. J. van Staveren, C. J. M. Moes, J. van Marle, S. A. Prahl, M. van Gemert. "Light scattering in intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm." *App. Opt.* Vol. 30. 1991. pp. 4507-4514.
15. C. J. M Moes, M. J. C. van Gemert, W.M. Star, P. A. Marijnissen, S. A. Prahl. "Measurements and calculations of the energy fluence rate in a scattering and absorbing phantom at 633 nm". *App. Opt.* Vol. 28. 1989. pp. 2292-2296.
16. S. A. Prahl. *Light Transport in tissue, Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy*. University of Texas. USA. 1988. pp. 63-99.
17. S. L. Jacques, S. A. Prahl. *Steady-state Monte Carlo: A minimal program*. ECE532 Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute. 1998. en: <http://omlc.ogi.edu/classroom/ece532/class4/ssmc/mc321.c>. Consultado el 18 mayo 2011.
18. Photochem CAD Spectra by Category. en: http://omlc.ogi.edu/spectra/PhotochemCAD/abs_html/OEP.html. Consultado el 18 mayo 2011.
19. Tuan Vo-Dihn. *Biomedical Photonics Handbook*. Ed. CRC Press LCL. USA. 2003. pp. 80-101.