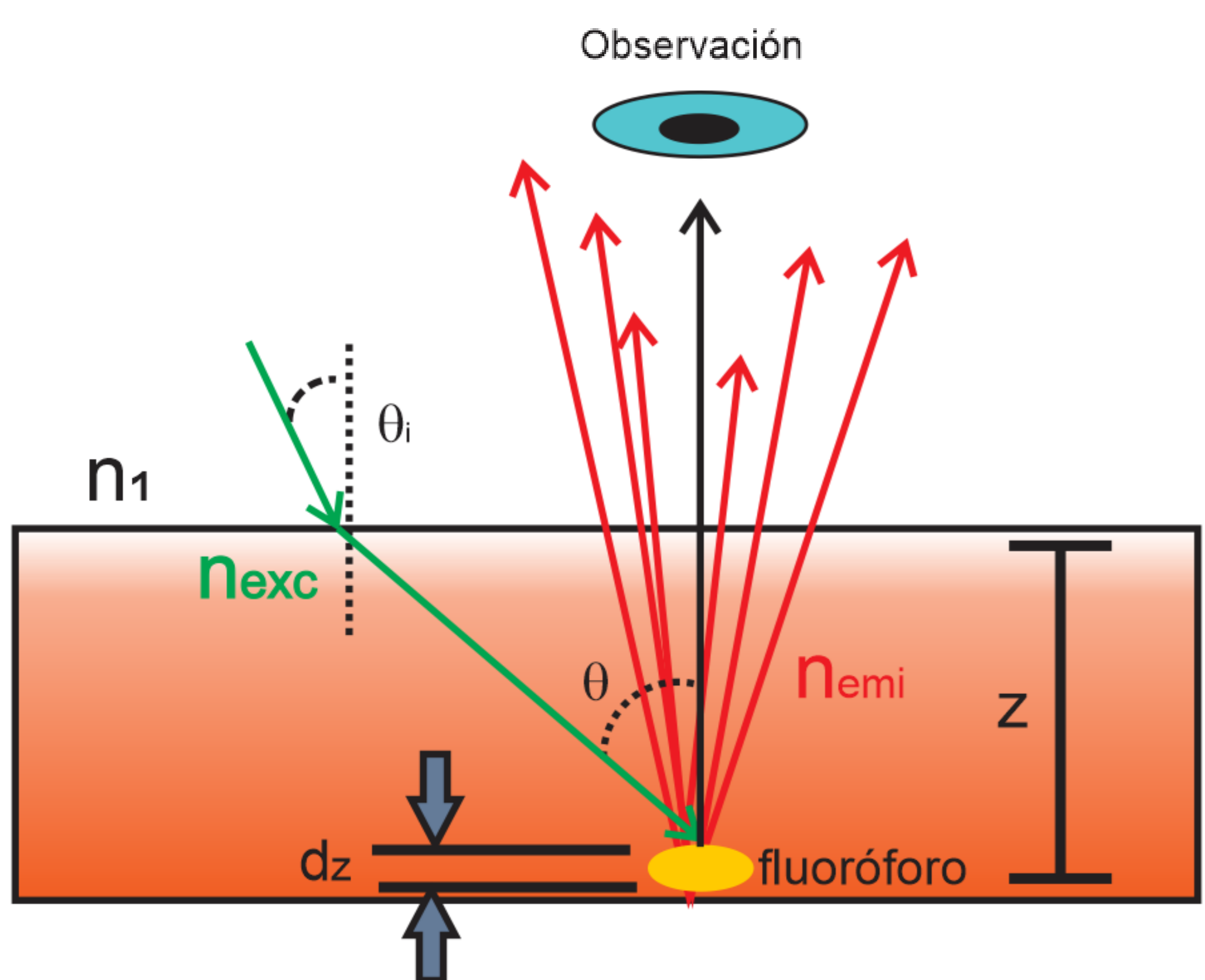


Introducción

Cambios identificados en los espectros de fluorescencia de tejido epitelial superficial pueden proporcionar información relacionada con la presencia y distribución de fluoróforos extrínsecos en los diferentes estratos del tejido empleados como biomarcadores.

En el presente trabajo proponemos el uso de la técnica espectroscópica de fluorescencia para el estudio del fenómeno de emisión y los cambios de intensidad de fluorescencia (IF) como función del ángulo de incidencia de la fuente de excitación, además estimar el índice de refracción efectivo de la muestra.

Nuestro objetivo es mejorar las capacidades de las herramientas de estudio y evaluación de enfermedades crónico degenerativas mediante la técnica de espectroscopia de fluorescencia. Ejemplo de ellas, la evaluación del proceso de cierre de heridas crónicas y la detección de bordes de lesiones cancerosas, líneas de investigación en la Unidad del ICAT en el Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga.



Marco Teórico

Para modelar la IF como función del ángulo de incidencia de la energía de excitación simulamos el campo electromagnético esparcido por un fluoróforo a una distancia z de la superficie en un medio homogéneo que llamamos matriz. En una región dz se produce el fenómeno de luminiscencia después de ser excitado el fluoróforo y su proceso de fluorescencia lo describimos como:

$$I(z) = I_0 e^{-2k_z^{exc} \cdot z} \cdot e^{-2k_z^{emi} \cdot z} \quad (1)$$

Después propagamos el campo electromagnético radiado por el fluoróforo hasta el detector y calculamos la intensidad.

$$I(z) = \int \frac{d}{dz} I(z) = \int_0^\infty e^{-2(k_z^{exc} + k_z^{emi})z} dz \quad (2)$$

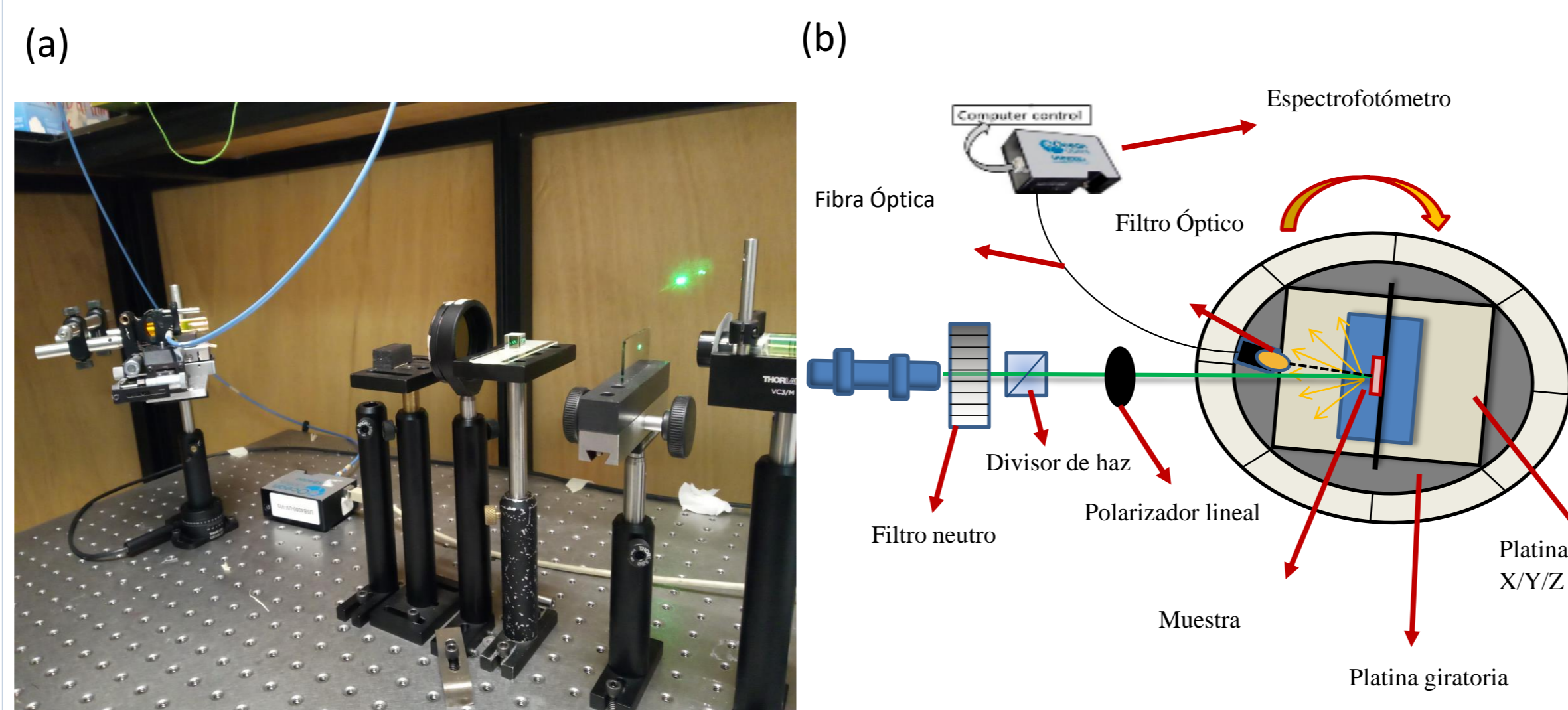
Por último, sumamos incoherentemente la intensidad debida a cada fluoróforo excitado en la muestra para así obtener una ecuación que describa el comportamiento de la fluorescencia del tejido como función del ángulo de excitación.

$$I(\theta_i) = \frac{I_0 (T^{TE}(\theta_i) + T^{TM}(\theta_i))}{k_0^{exc} \text{Im}(n_{eff}^{exc})^2 - n_a^2 \sin^2 \theta_i)^{1/2} + 2k_0^{emi} \text{Im}(n_{eff}^{emi})}$$

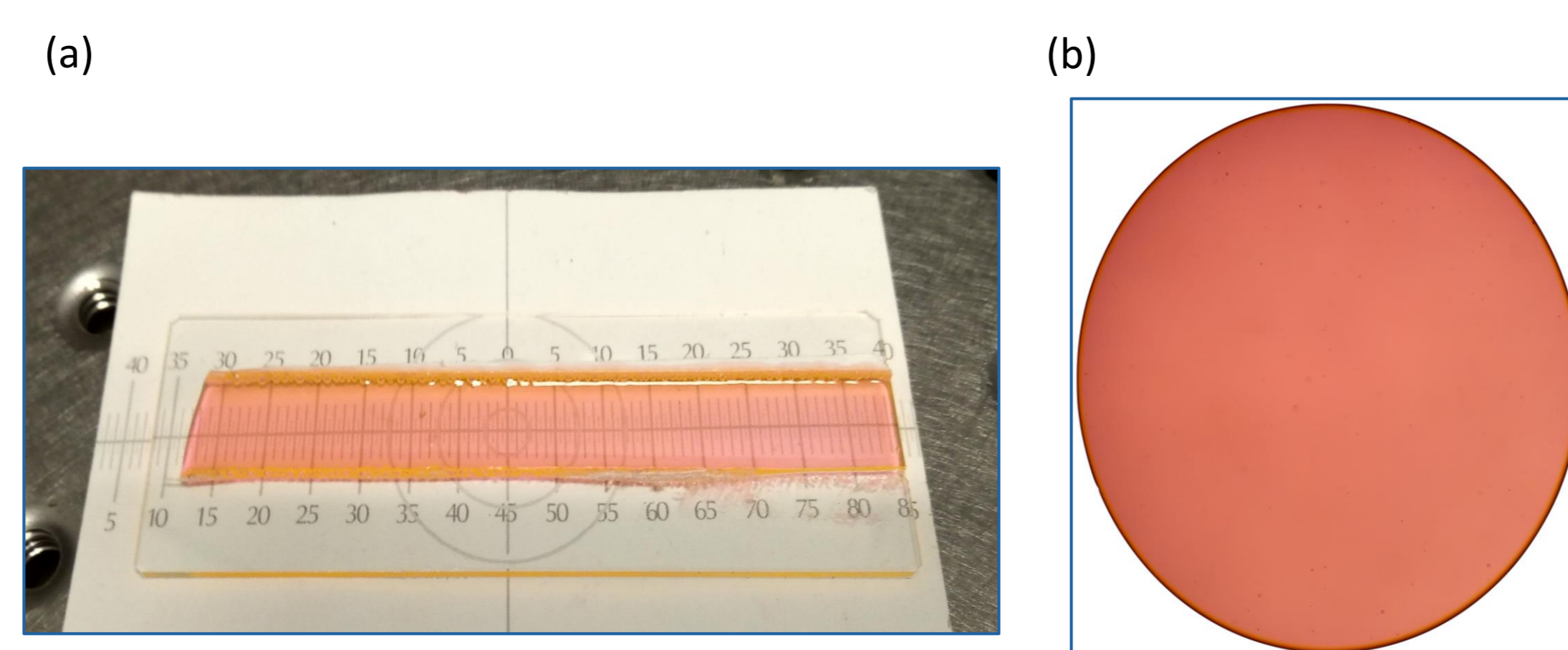
Donde T^{TE} y T^{TM} son los coeficientes de transmisión de Fresnel para una polarización transversal eléctrica y transversal magnética, respectivamente; k_0^{exc} y k_0^{emi} representan los vectores de onda a las longitudes de onda de excitación y emisión, en este orden; n_a es el índice de refracción del aire y n_{eff}^{exc} y n_{eff}^{emi} son los índices de refracción efectivos de excitación y emisión, respectivamente.

Metodología experimental

Para validar el modelo propuesto diseñamos e implementamos un arreglo óptico que permite medir los cambios de la IF como función del ángulo de incidencia de la energía de excitación.

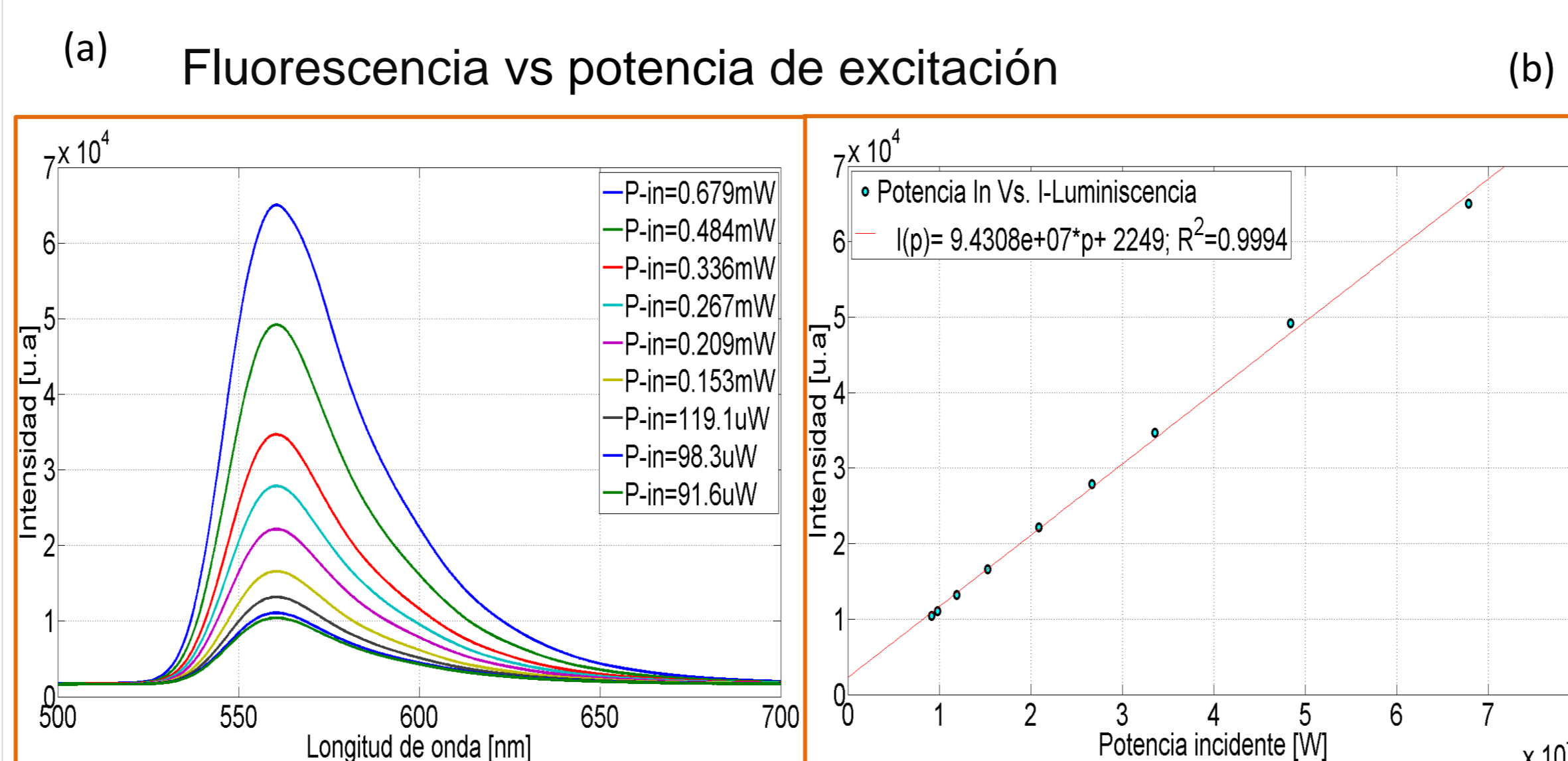


Fabricamos una película fluorescente apegada a las características del medio modelado. La muestra consiste en una película de esmalte de 100 μm con rodamina 6G (R6G) a una concentración de 0.333 ml/ μl .

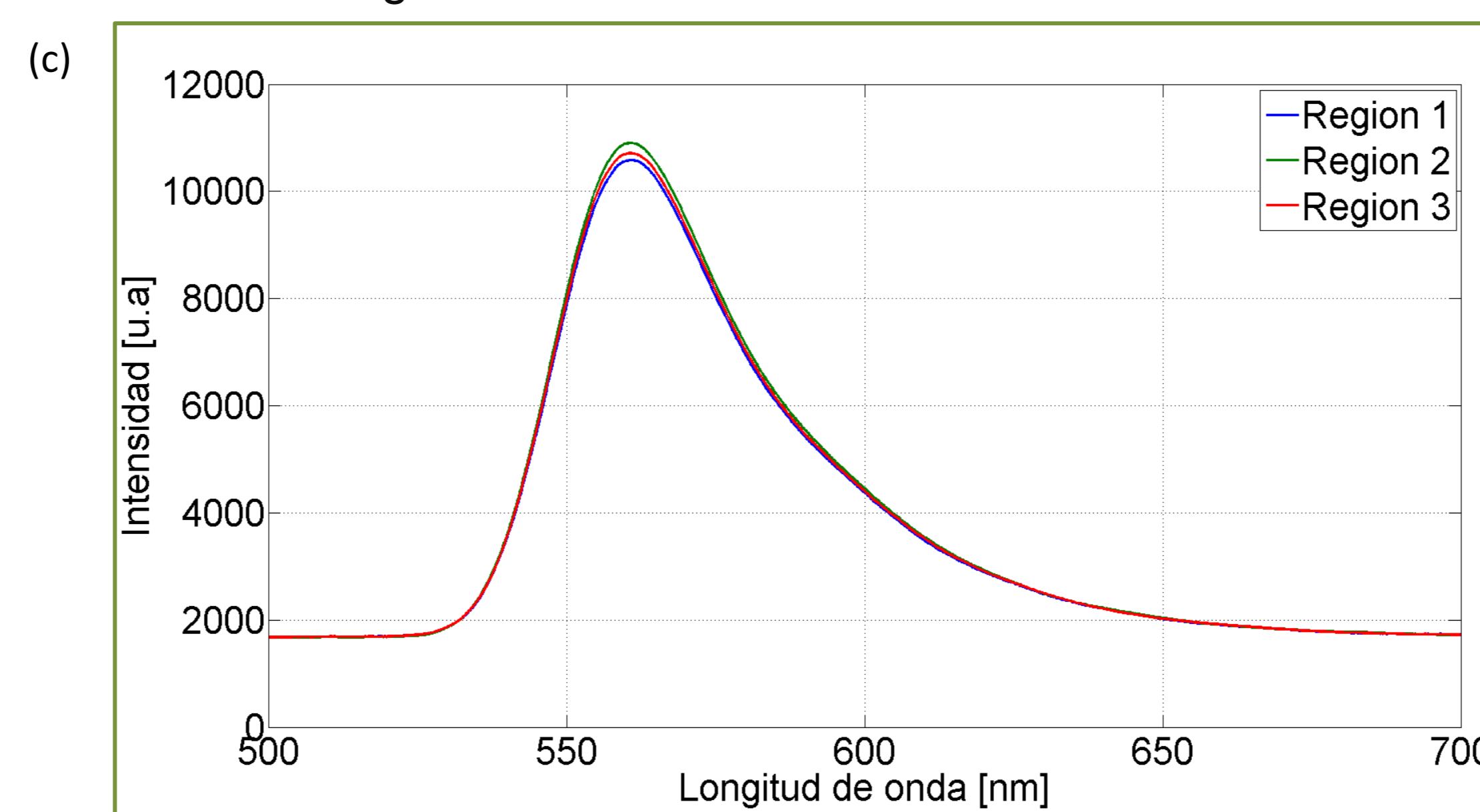


Resultados

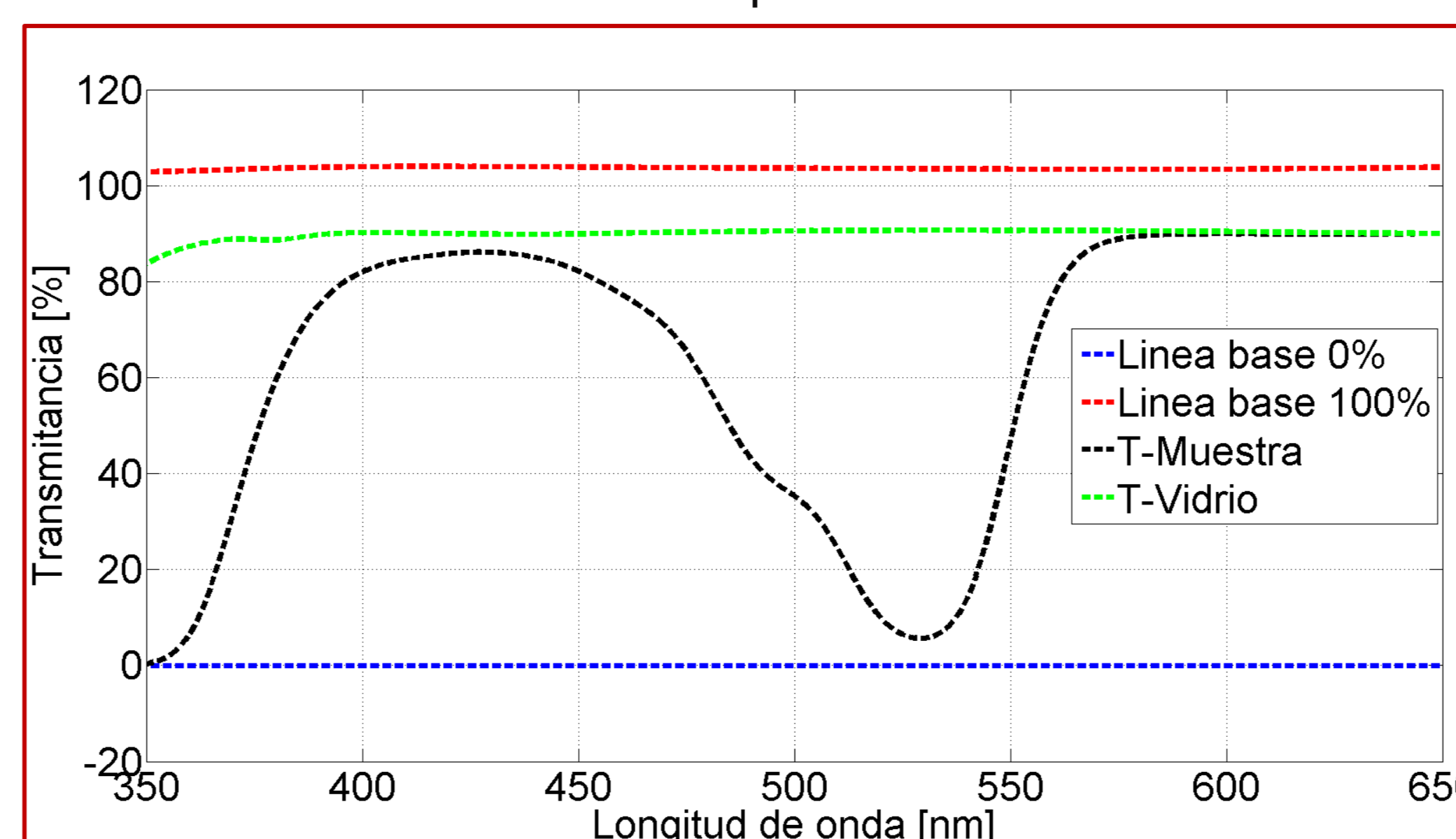
A. Caracterización de la muestra de referencia



Homogeneidad en la distribución de fluoróforos



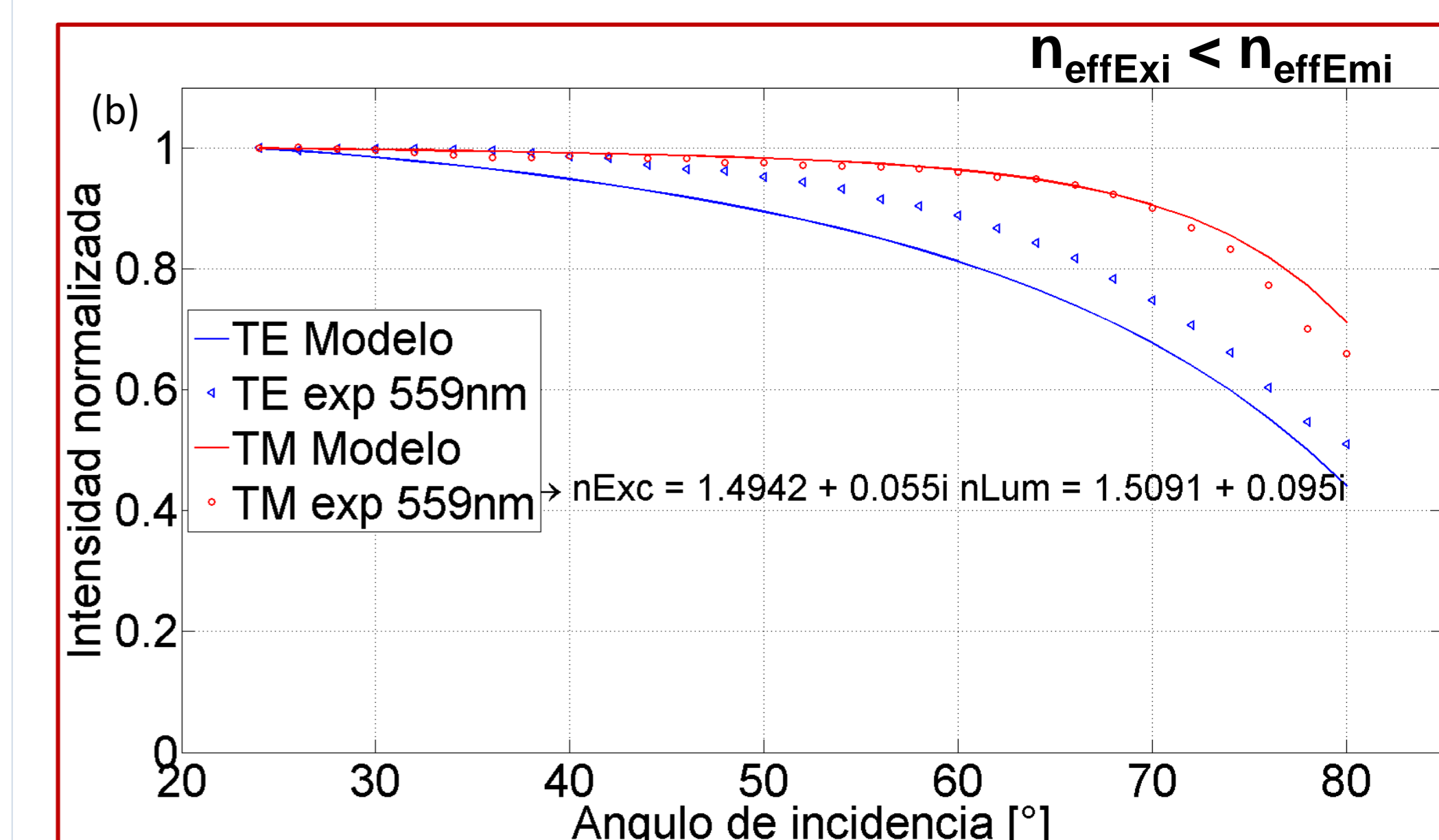
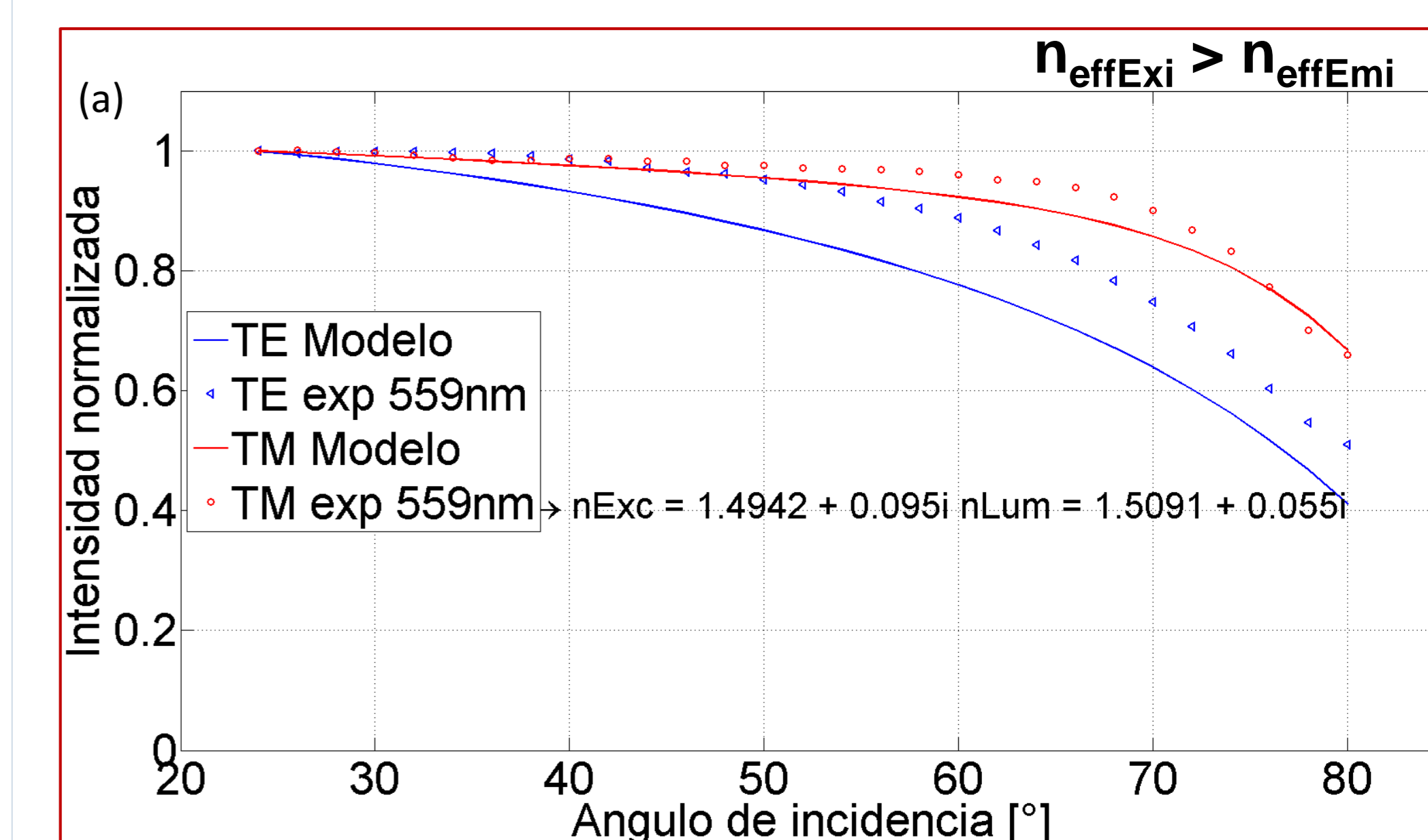
Transmitancia de la película fluorescente



Observamos una relación lineal de la fluorescencia vs la potencia de excitación y no se modifica el espectro de fluorescencia. Los cambios de IF en diferentes regiones de la película es menor al 1% por lo cual asumimos una distribución homogénea de las partículas de R6G.

B. Validación del modelo

Modelo matemático vs Intensidad de fluorescencia (@ 559nm)



Resumen

En esta primera aproximación, el modelo matemático mostró una buena concordancia con los datos experimentales. El modelo matemático describe con buena similitud el perfil de decaimiento de la intensidad de la fluorescencia en función del ángulo de incidencia de la fuente de excitación para los modos de polarización TE y TM. Sin embargo, es necesario ampliar el estudio del fenómeno de fluorescencia y ajustar el modelo con el propósito de mejorar su eficacia para posteriormente aplicarlo en tejidos biológicos.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM) por el apoyo económico a través de los proyectos PAPIIT IA103918 y IN102218; así como al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE) del ICAT y a la Dra. Selene Rubí Islas Sánchez por el apoyo durante la caracterización de las muestras en el LUCE.

Referencias

1. G. Morales-Luna, H. Contreras-Tello, A. García-Valenzuela, and R. G. Barrera, "Experimental test of reflectivity formulas for turbid colloids: Beyond the Fresnel reflection amplitudes", *J. Phys. Chem. B*, **120**:583-595, 2016.
2. E. Gutierrez, AE. Ortiz, A. Doukas, W. Franco, "Fluorescence Excitation Photography of Epidermal Cellular Proliferation" *British Journal of Dermatology*, **174**(5), pp. 1086-1091. 2016
3. Javier E. Vitela, "Electromagnetic waves in dissipative media revisited", *American Journal of Physics*, **72**(393) 2004.