



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

EL ÍNDICE DE REFRACCIÓN EFECTIVO  
DE LA SANGRE COMO HERRAMIENTA  
DE DIAGNÓSTICO MÉDICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
FÍSICO

PRESENTA:  
ALEXANDER NAHMAD ROHEN

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. AUGUSTO GARCÍA VALENZUELA



2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Agradecimientos

Varias personas me han ayudado muchísimo durante el tiempo que he pasado trabajando en este tema. Quisiera agradecerles por lo que han hecho por mí.

Gracias a Martín Sobral por recomendarme que trabajara bajo la supervisión de Augusto García, y gracias a Karen Volke y Citlali Sánchez por enamorarme profundamente de la óptica en un principio.

Gracias a Omar Vázquez por ayudarme a comprender la teoría de la difracción anómala. Gracias también a Mayra Gutiérrez por su ayuda en encontrar una lista completa de las componentes del plasma sanguíneo y sus concentraciones en humanos sanos. Gracias a Eduardo Nahmad, Veronika Rohen y Augusto por ayudarme a adquirir varios artículos científicos cuya lectura fue de vital importancia para este trabajo.

Gracias a Carmen Quiroz, Claudia Torregrosa, Veronika, Humberto Contreras, Omar, Roberto Márquez y Gesuri Morales por hacer posible el experimento realizado; sobre todo, gracias a Humberto por mostrar que un refractómetro tipo Abbe es capaz de realizar mediciones de la parte real del índice de refracción de la sangre, a Omar y Roberto por mostrar que la parte imaginaria del índice de refracción de la sangre no es fácilmente medible por transmisión de luz coherente, y a Gesuri por comprobar que la parte real del índice de refracción de la sangre no puede ser medido por reflectividad cerca del ángulo crítico.

Gracias a Rubén Barrera, Pedro Quinto, Celia Sánchez, Víctor Velázquez y Rafael Barrio por sus valiosos comentarios, sugerencias y correcciones.

Gracias a Suzanne Lidström por su amabilidad infinita desde que la conocí, por siempre alentarme en mi trabajo y por invitarme a publicar un artículo en *Physica Scripta*.

Finalmente, estoy más agradecido de lo que puede decirse por la paciencia sin límites y la supervisión invaluable de Augusto, así como por el empuje constante de Claudia y su interés adquirido en mi tema de trabajo.

# Notación

Símbolo	Descripción
$a$	tamaño característico de una partícula
$\vec{B}$	campo magnético
$C$	concentración de una sustancia en una solución
$\vec{D}$	vector de desplazamiento eléctrico
$\vec{D}_m$	vector de desplazamiento eléctrico en la matriz
$\vec{D}_p$	vector de desplazamiento eléctrico en el interior de una partícula
$\vec{E}$	campo eléctrico
$\vec{E}_i$	campo eléctrico incidente
$\vec{E}_{loc}$	campo eléctrico en la vecindad inmediata de una partícula pequeña
$\vec{E}_m$	campo eléctrico en la matriz
$\vec{E}_p$	campo eléctrico en el interior de una partícula
$\vec{E}_s$	campo eléctrico esparcido
$\vec{E}_{sph}$	campo eléctrico en el interior de una esfera imaginaria
$f$	fracción de llenado
$f_{def}$	fracción de llenado de eritrocitos deformados
$f_{ery}$	fracción de llenado de eritrocitos
$f_{leu}$	fracción de llenado de leucocitos
$f_{lym}$	fracción de llenado de linfocitos (un tipo de leucocito)
$f_{neu}$	fracción de llenado de neutrófilos (un tipo de leucocito)
$f_{pf}$	fracción de llenado de parásitos de plasmodium falciparum
$f_{pf,d}$	fracción de llenado de parásitos en desarrollo
$f_{pf,m}$	fracción de llenado de parásitos maduros
$f_{sanos}$	fracción de llenado de eritrocitos sanos
$f_{thr}$	fracción de llenado de trombocitos
$i$	$\sqrt{-1}$
$k$	número de onda
$\vec{k}$	vector de onda

Símbolo	Descripción
$\vec{k}_i$	vector de onda incidente
$\vec{k}_m$	vector de onda en la matriz
$\vec{k}_p$	vector de onda en el interior de una partícula
$\vec{k}_s$	vector de onda esparcido
$M$	masa
$m$	índice de refracción relativo (razón entre $n_p$ y $n_m$ )
$N$	número de partículas por unidad de volumen
$n$	índice de refracción
$n_{eff}$	índice de refracción efectivo de una mezcla
$n_{ery}$	índice de refracción de un eritrocito
$n_{H_2O}$	índice de refracción del agua
$n_{IDA}$	índice de refracción de un eritrocito con deficiencia de hierro
$n_{leu}$	índice de refracción de un leucocito
$n_m$	índice de refracción de la matriz
$n_{nuc}$	índice de refracción del núcleo de un leucocito
$n_p$	índice de refracción de una partícula
$n_{pf}$	índice de refracción de un parásito de plasmodium falciparum
$n_{plasma}$	índice de refracción del plasma sanguíneo
$n_{thr}$	índice de refracción de un trombocito
$\vec{P}$	densidad de polarización
$\vec{p}$	momento dipolar inducido en una partícula por un campo eléctrico
$S(\theta, \varphi)$	matriz de amplitud de esparcimiento
$\alpha$	polarizabilidad eléctrica de una partícula
$\delta$	incremento específico de refracción de una partícula
$\epsilon$	permitividad eléctrica
$\epsilon_0$	permitividad eléctrica del vacío
$\epsilon_{eff}$	permitividad eléctrica de una mezcla
$\epsilon_m$	permitividad eléctrica de la matriz
$\epsilon_p$	permitividad eléctrica de una partícula
$\epsilon_r$	permitividad eléctrica relativa (razón entre $\epsilon_p$ y $\epsilon_m$ )
$\lambda$	longitud de onda de la luz
$\lambda_m$	longitud de onda de la luz en la matriz
$\mu$	permeabilidad magnética
$\mu_0$	permeabilidad magnética del vacío
$\nu$	frecuencia de la luz
$\sigma$	densidad de carga superficial inducida por un campo eléctrico
$\chi$	susceptibilidad eléctrica
$\omega$	frecuencia angular de la luz

# Introducción

Decir que los tejidos biológicos son materiales complejos es decir poco. Su naturaleza irregular y aparentemente desordenada y las complicadas interacciones entre ellos hacen que sean difíciles de estudiar por la física en una forma simple. Todas las áreas de la física clásica, desde la mecánica hasta el electromagnetismo y la dinámica de fluidos, han sido aplicadas a un intento por caracterizar la materia viviente durante siglos; sin embargo, ésta sigue siendo en gran medida un misterio.

Ópticamente, muchos tejidos biológicos absorben luz fuertemente a longitudes de onda cortas ( $\lambda < 400$  nm). Este hecho deja el esparcimiento de la luz visible o infrarroja para el estudio de sus propiedades microscópicas — los rayos X han sido utilizados para estudiar las propiedades macroscópicas del tejido biológico durante muchas décadas, pero estas propiedades están bien entendidas y no serán discutidas en este trabajo. Nos preocuparemos por las propiedades microscópicas de un tejido particularmente importante, la sangre, y por cómo pueden ser estudiadas usando la interacción de la sangre con la luz visible.

Las teorías de medio efectivo son una manera de simplificar varias propiedades de los coloides, lo cual permite su estudio. Desafortunadamente, no existe una teoría que funcione en todos los casos; distintas teorías utilizan aproximaciones que son apropiadas en distintas regiones del espacio descrito por varios parámetros importantes, como  $m = n_p/n_m$  (el índice de refracción relativo de las partículas suspendidas del coloide con respecto al medio de fondo o “matriz”;  $n_p$  es el índice de refracción de las partículas, mientras que  $n_m$  es el de la matriz),  $x = ka$  (el producto del número de onda de la luz incidente,  $k$ , y un tamaño característico de las partículas,  $a$ ) y  $f$  (la fracción de llenado de las partículas). La forma de las partículas suspendidas también es importante. Por lo tanto, las diferentes partes de un coloide muy complejo generalmente requieren una combinación de varios enfoques diferentes. El plasma sanguíneo, por ejemplo, está formado por agua (que puede ser considerado un medio homogéneo para los propósitos de este trabajo) y muchos tipos de moléculas, todas muy pequeñas comparadas con la longitud de onda de la luz visible; los tres tipos de célula sanguínea, por otro lado, son grandes comparadas con la longitud de onda, y cada tipo de célula tiene una forma diferente. Finalmente, los patógenos que afectan la sangre pueden tener todo tipo de

formas y tamaños, desde virus poliédricos de tan sólo unas decenas de nanómetros de diámetro hasta parásitos amorfos que pueden llegar a ser macroscópicos.

Este trabajo es una introducción a los fundamentos de un nuevo método mediante el cual puede elucidarse la salud de la sangre de un paciente; el autor desconoce otros estudios tan completos del índice de refracción de la sangre entera y su aplicación a la medicina diagnóstica y cree firmemente que muchos de los resultados presentados aquí son novedosos. Comenzaremos por introducir algunas cantidades y conceptos básicos, tras lo cual derivaremos las teorías de medio efectivo que son aplicables al estudio óptico de la sangre. Después describiremos detalladamente la composición de la sangre y explicaremos cuáles teorías son relevantes para cuáles constituyentes. Concluiremos explicando cómo estas teorías pueden ser combinadas para formar un modelo con el cual las condiciones médicas de la sangre pueden ser estudiadas (nuestros resultados aquí no pretenden ser numéricamente exactos, sino permitir un aprendizaje cualitativo de la naturaleza de las variaciones en el índice de refracción de la sangre causadas por enfermedades), presentando los resultados de un experimento que llevamos a cabo (el cual demuestra que es posible realizar mediciones en sangre entera), y discutiendo el significado de los resultados experimentales y los objetivos que futuros experimentos deben tener.

# Contenido

<b>1</b>	<b>Conceptos preliminares</b>	<b>1</b>
1.1	Conceptos fundamentales en electromagnetismo	1
1.2	La matriz de amplitud de esparcimiento	3
1.3	Referencias	5
<b>2</b>	<b>Teorías de medio efectivo para partículas pequeñas</b>	<b>6</b>
2.1	Partículas pequeñas con volumen definido	6
2.1.1	Límites de aplicabilidad	8
2.2	La relación de Clausius-Mossotti	9
2.2.1	Límites de aplicabilidad	12
2.3	El incremento específico de refracción	13
2.4	Referencias	13
<b>3</b>	<b>El modelo de van de Hulst</b>	<b>15</b>
3.1	Límites de aplicabilidad	19
3.2	La teoría de esparcimiento de Mie	20
3.3	Difracción anómala	23
3.3.1	La validez de la difracción anómala para las células de la sangre	31
3.4	Referencias	31
<b>4</b>	<b>El índice de refracción efectivo de la sangre entera humana</b>	<b>33</b>
4.1	La composición de la sangre humana	33
4.1.1	Plasma sanguíneo	33
4.1.2	Células sanguíneas	34
4.2	Consideraciones y aproximaciones iniciales	35
4.3	Plasma sanguíneo	35
4.4	Eritrocitos en plasma sanguíneo	37
4.5	El efecto de los leucocitos	43
4.6	El efecto de los trombocitos: sangre entera	49



---

4.7	Observaciones . . . . .	52
4.8	Referencias . . . . .	55
<b>5</b>	<b>La luz como herramienta para el diagnóstico de sangre . . . . .</b>	<b>57</b>
5.1	Enfermedades no-patogénicas . . . . .	57
5.1.1	Enfermedades que afectan el plasma sanguíneo . . . . .	57
5.1.2	Enfermedades que afectan a los eritrocitos . . . . .	58
5.1.3	Enfermedades que afectan a los leucocitos . . . . .	79
5.2	Enfermedades patogénicas . . . . .	88
5.3	Comparación de las enfermedades estudiadas . . . . .	92
5.4	Comentarios finales: $n_{eff}$ como herramienta médica . . . . .	95
5.5	Referencias . . . . .	96
<b>6</b>	<b>Resultados experimentales . . . . .</b>	<b>98</b>
6.1	Consideraciones iniciales . . . . .	98
6.2	Descripción del experimento . . . . .	99
6.3	Resultados . . . . .	100
6.4	Discusión . . . . .	103
6.5	Referencias . . . . .	104
<b>7</b>	<b>Conclusiones . . . . .</b>	<b>105</b>

# Capítulo 1

## Conceptos preliminares

### 1.1 Conceptos fundamentales en electromagnetismo

Una onda de luz monocromática es un campo electromagnético  $(\vec{E}, \vec{B})$  para el cual cada parte —el campo eléctrico  $\vec{E}$  y el campo magnético  $\vec{B}$ — satisface la ecuación de Helmholtz,

$$\nabla \times \nabla \times \vec{F} + k^2 \vec{F} = 0, \quad (1.1.1)$$

y que, de acuerdo con las ecuaciones de Maxwell, viaja con rapidez constante  $c$  en el vacío (esta constante es la misma en cualquier sistema de referencia). La cantidad  $k$  se llama el “número de onda”, y  $\lambda = 2\pi/k$  se llama la “longitud de onda”, pues es la longitud espacial de una oscilación completa de  $\vec{F}$ . Las soluciones a la ecuación de Helmholtz en coordenadas arbitrarias pueden ser bastante complicadas, pero existe una solución muy simple en coordenadas cartesianas llamada la “onda plana”. Esta onda está descrita por

$$\vec{F} = \vec{F}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}, \quad (1.1.2)$$

donde  $\vec{k} = k\hat{k}$  se llama el “vector de onda”,  $\hat{k}$  es la dirección en la que viaja la onda, y  $\omega = 2\pi c/\lambda$  se llama la “frecuencia angular”.  $\nu = \omega/2\pi$  se llama la “frecuencia” de la onda.  $\vec{F}_0$ , llamado el “vector de polarización”, puede referirse a  $\vec{E}_0$  o a  $\vec{B}_0$ , dependiendo de cuál campo (eléctrico o magnético) representa, pero es perpendicular a  $\vec{k}$  en ambos casos (i.e. la onda es “transversal”; esto no es cierto en general, pero es cierto en los medios como los que estudiaremos aquí); además,  $\vec{E}_0$  y  $\vec{B}_0$  son mutuamente perpendiculares. A lo largo de este escrito, trabajaremos con campos eléctricos exclusivamente, pues el campo magnético de cualquier onda —sea o no plana— siempre puede ser calculado a partir de  $\vec{E}$  y  $\vec{k}$  y, por consiguiente, es redundante; siempre que hablemos de un campo eléctrico, se entiende que hay un campo magnético presente también.

Las ondas planas se extienden infinitamente en todas las direcciones perpendiculares a la dirección en la que se propagan,  $\hat{k}$ , y no tienen una fuente temporal ni espacial; son infinitas tanto temporalmente como espacialmente. Obviamente, ésta es una idealización que no ocurre en la vida real, pero es útil para muchos fines. En particular, una sección de onda esférica —que es una onda que viaja radialmente desde o hacia una fuente puntual y es, por lo tanto, también una aproximación, aunque una bastante buena en muchas situaciones— puede en gran medida ser aproximada como una onda plana cuando el punto de observación se encuentra muy lejos de la fuente. Los haces de luz colimados y coherentes, como los láseres, también pueden ser tratados como ondas planas en muchos casos. Este trabajo tratará con ondas planas extensivamente. Utilizaremos unidades del sistema internacional a lo largo del trabajo.

Un campo eléctrico incidente en un material dieléctrico inducirá en las moléculas del material pequeños dipolos eléctricos al desplazar espacialmente las cargas positivas y negativas. El grado al que esto ocurre está descrito por un campo llamado el “campo de desplazamiento eléctrico” y denotado por  $\vec{D}$ . Este campo se define como

$$\vec{D} \equiv \epsilon_0 \vec{E} + \vec{P}, \quad (1.1.3)$$

donde  $\vec{P}$  es la “densidad de polarización” y es una función de potencias de  $\vec{E}$ . La cantidad  $\epsilon_0$  se llama la “permitividad eléctrica” del vacío. Los materiales también tienen permitividades  $\epsilon$ . Para materiales inhomogéneos,  $\epsilon$  es un tensor no-singular de dimensión 3 y rango 2. La “permitividad relativa” de un material con respecto a la del vacío se define como  $\epsilon_r \equiv \epsilon/\epsilon_0$ . Es también posible generalizar la permitividad relativa de modo que se tome con respecto a un “medio de fondo” (también llamado “matriz”) con permitividad  $\epsilon_m$  (en el caso del vacío, simplemente escribimos  $\epsilon_m = \epsilon_0$ ):

$$\epsilon_m \epsilon_r \equiv \epsilon. \quad (1.1.4)$$

A menos que se especifique explícitamente otra cosa, ésta será la definición utilizada a lo largo de este trabajo. La “susceptibilidad eléctrica” de un material se define como  $\chi \equiv \epsilon_r - 1$ ; esto, por supuesto, depende de cuál definición de  $\epsilon_r$  se utilice, por lo que en este trabajo se entenderá que la susceptibilidad eléctrica de un material (y, por lo tanto, también cualquier cantidad que dependa de ella, como el momento dipolar total y la densidad de carga superficial inducidos en una partícula por un campo eléctrico incidente en ella) se refiere al exceso con respecto al medio de fondo.

Una cantidad relacionada con  $\epsilon$  y  $\chi$  es la “polarizabilidad eléctrica”, denotada por  $\alpha$ . Esta cantidad caracteriza la respuesta de las moléculas de un material al

campo “local” en la posición de las moléculas. Al igual que  $\epsilon$ , para materiales inhomogéneos  $\alpha$  es un tensor no-singular de dimensión 3 y rango 2.

La “permeabilidad magnética”  $\mu$  de un material cuantifica la respuesta del material a un campo magnético externo. Al igual que en el caso de la permitividad, el vacío tiene una permeabilidad  $\mu_0$ . Si  $v$  es la rapidez de la luz en un material con permitividad  $\epsilon$  y permeabilidad  $\mu$ , estas cantidades satisfacen  $\epsilon\mu v^2 = 1$ . En este trabajo, asumiremos que la permeabilidad magnética de todos los materiales es aproximadamente igual a  $\mu_0$  cuando la frecuencia del campo aplicado es grande.

Una cantidad particularmente importante en la óptica es el “índice de refracción”, denotado por  $n$ . Existen múltiples formas de definir el índice de refracción de un material; una de ellas es

$$n \equiv \sqrt{\frac{\epsilon\mu}{\epsilon_0\mu_0}} \approx \sqrt{\frac{\epsilon}{\epsilon_0}}. \quad (1.1.5)$$

$\epsilon$  y  $\mu$  están definidas en términos de la forma en la que los campos eléctricos y magnéticos interactúan con un material, por lo que también  $n$  sólo es relevante en el contexto de la interacción de luz con el material. Es obvio que el vacío tiene un índice de refracción exactamente igual a 1 por definición, pero el índice de refracción de un material es generalmente una función de muchas variables, incluyendo la longitud de onda de la luz que interactúa con el material. Es un número complejo que determina muchos aspectos de la interacción luz-materia, como la reflexión, la refracción, la fase, el esparcimiento y la absorción de la luz. La reflexión, la refracción y la fase están caracterizadas por la parte real del índice de refracción, mientras que el esparcimiento y la absorción (en conjunto llamados “extinción”) están cuantificados por la parte imaginaria.

## 1.2 La matriz de amplitud de esparcimiento

Consideremos una onda electromagnética plana descrita por

$$\vec{E}_i = \vec{E}_{i0} e^{ik_i z} \quad (1.2.1)$$

(el factor temporal  $e^{-i\omega t}$  está implícito). El hecho de que sólo aparezca  $z$  en vez  $\vec{r}$  en el exponente indica que la onda viaja en la dirección  $z$ : si  $\vec{k}_i \cdot \vec{r} = k_i z$ , entonces  $\hat{k}_i = \hat{z}$  (utilizamos la notación  $\hat{z}$  para denotar el vector unitario en la dirección en la que crece  $z$ ). Supongamos que la onda viaja a través de un medio homogéneo con permitividad eléctrica  $\epsilon_m$  e incide en la superficie de una partícula homogénea con volumen  $V$ , permitividad eléctrica  $\epsilon_p \neq \epsilon_m$  y forma arbitraria.

En general, la partícula esparcirá la luz en todas las direcciones (en algunas más fuertemente que en otras). Sea  $\hat{k}_s$  una dirección arbitraria, y sea  $\theta$  el ángulo entre  $\hat{k}_i$  y  $\hat{k}_s$ . Para el rayo esparcido en esa dirección, el plano generado por  $\hat{k}_i = \hat{z}$

y  $\hat{k}_s$  se llama el “plano de esparcimiento”. Podemos entonces descomponer los campos incidente y esparcido en componentes paralela y perpendicular al plano de esparcimiento; éstas estarán denotadas por  $E_{i\parallel}$ ,  $E_{i\perp}$ ,  $E_{s\parallel}$  y  $E_{s\perp}$ . El plano de esparcimiento está bien definido para cualquier valor de  $\theta$  excepto  $\theta = 0$  y  $\theta = \pi$ , pero para estos valores podemos tomar  $\hat{E}_{i\parallel}$  arbitrario (pero perpendicular a  $\hat{k}_i$ ),  $\hat{E}_{i\perp}$  perpendicular a  $\hat{E}_{i\parallel}$  y a  $\hat{k}_i$ ,  $\hat{E}_{s\parallel} = \hat{E}_{i\parallel}$ , y  $\hat{E}_{s\perp} = \hat{E}_{i\perp}$ . El hecho de que el plano de esparcimiento es diferente para cada valor del ángulo azimutal  $\varphi$  no tiene importancia aquí. Nótese, sin embargo, que lejos de la partícula el campo esparcido se aproximará a una onda esférica:<sup>1</sup>

$$\vec{E}_s = \frac{e^{ik_s r}}{-ik_s r} \vec{E}_{s_0}. \quad (1.2.2)$$

Escribiremos  $k_m$  en lugar de  $k_i$  o  $k_s$  para hacer explícito el hecho de que el número de onda no es el de la onda en el vacío, sino el de la onda en el medio con índice de refracción  $n_m$ :  $k_m = n_m k_0$ , donde  $k_0$  es el número de onda en el vacío.

$\vec{E}_s$  siempre será una función de  $\vec{E}_i$  (y de otras cosas, incluyendo la forma, el tamaño y la composición de la partícula).<sup>2</sup> Puesto que los campos incidente y esparcido generalmente tienen dos componentes (recordemos que  $\vec{E}$  es perpendicular a  $\vec{k}_m$  y por lo tanto tiene cuando mucho dos componentes distintas de cero) y cada componente del campo esparcido es una función de ambas componentes del campo incidente, el factor de proporcionalidad puede ser escrito como una matriz de  $2 \times 2$ . Esta matriz se llama la “matriz de amplitud de esparcimiento” y usualmente se denota por  $S(\theta, \varphi)$  (puede haber una dependencia en el ángulo azimutal  $\varphi$  para partículas asimétricas). Se define mediante

$$\begin{pmatrix} E_{s_{0\perp}} \\ E_{s_{0\parallel}} \end{pmatrix} = S(\theta, \varphi) \begin{pmatrix} E_{i_{0\perp}} \\ E_{i_{0\parallel}} \end{pmatrix}, \quad (1.2.3)$$

y sus componentes son

$$S(\theta, \varphi) = \begin{pmatrix} S_{11} & S_{12} \\ S_{21} & S_{22} \end{pmatrix}, \quad (1.2.4)$$

donde todas las  $S_{j\ell}$  son funciones de  $\theta$  y  $\varphi$ .

Usando las ecuaciones 1.2.1, 1.2.2 y 1.2.3, obtenemos

$$\begin{aligned} \vec{E}_s &= \frac{e^{ik_m r}}{ik_m r} S(\theta, \varphi) \vec{E}_{i_0} \\ &= e^{ik_m z} e^{-ik_m z} \frac{e^{ik_m r}}{-ik_m r} S(\theta, \varphi) \vec{E}_{i_0} \\ &= \frac{e^{ik_m(r-z)}}{-ik_m r} S(\theta, \varphi) \vec{E}_i. \end{aligned} \quad (1.2.5)$$

### 1.3 Referencias

1. van de Hulst H C: *Light scattering by small particles*; Dover Publications, Inc (1981); 28–29
2. Tsang L, Kong J A & Ding K-H: *Scattering of electromagnetic waves: theories and applications*; John Wiley & Sons, Inc (segunda edición, 2000); 2–8

## Capítulo 2

# Teorías de medio efectivo para partículas pequeñas

Cuando se trabaja con coloides, en ocasiones es útil definir un “índice de refracción efectivo”  $n_{eff}$ . Éste es el índice de refracción que el coloide tendría si fuera un medio homogéneo. Es, obviamente, una función del índice de refracción del medio,  $n_m$ , y del de las partículas suspendidas en el coloide,  $n_p$ , así como de la forma, el tamaño característico  $a$  (si las partículas son esferas, por ejemplo,  $a$  es su radio) y la fracción de llenado  $f$  de las partículas ( $f$  es la fracción del volumen del coloide que está ocupado por las partículas) y de la longitud de onda  $\lambda$  de la luz incidente ( $\lambda$  denota la longitud de onda en el medio, no en el vacío).

### 2.1 Partículas pequeñas con volumen definido

La teoría de medio efectivo que veremos en esta sección proporciona un método para calcular  $n_{eff}$  en el caso particular en el que  $a \ll \lambda$ , lo cual nos permite considerar que el campo eléctrico dentro de las partículas es aproximadamente constante. En este modelo, que es quizá la teoría de medio efectivo más simple,  $n_{eff}$  no depende de  $\lambda$  más allá de la dependencia que está implícita en  $n_m$  y  $n_p$ . Cuando las partículas son esféricas, tampoco hay dependencia en  $a$ , su radio.

Consideremos primero un campo eléctrico arbitrario  $\vec{E}$  viajando a través de un medio con permitividad  $\epsilon$ . En ausencia de polarización, el vector de desplazamiento eléctrico (véase la ecuación 1.1.3) es

$$\vec{D} = \epsilon \vec{E} \quad (2.1.1)$$

(independientemente de si el medio es polarizable, y en general sí lo es, aquí tomaremos en cuenta solamente densidades de carga en exceso y densidades de

polarización en exceso, como se mencionó anteriormente, así que  $\vec{P}$  denotará solamente la polarización en exceso de, digamos, una partícula suspendida en el medio. En otras palabras, la polarización del medio mismo está implícita en el uso de  $\epsilon$  en lugar de  $\epsilon_0$ ).

Consideremos ahora una onda plana viajando a través de un coloide formado por un medio homogéneo con permitividad  $\epsilon_m$  en el que hay suspendidas muchas partículas idénticas, pequeñas (en el sentido de que  $a \ll \lambda$ ) y uniformemente distribuidas con permitividad  $\epsilon_p$ .

El vector de desplazamiento será diferente dentro de la partícula y en el medio de fondo, por supuesto; lo mismo es cierto del campo eléctrico. Sean  $\vec{D}_m$  y  $\vec{E}_m$  el vector de desplazamiento y el campo eléctrico en el medio, y sean  $\vec{D}_p$  y  $\vec{E}_p$  los vectores correspondientes en el interior de las partículas. La polarización en exceso está implícita en el uso de la permitividad efectiva  $\epsilon_{eff}$  (el coloide será tratado como un medio "efectivo" homogéneo); por esto mismo, estaremos trabajando con los promedios volumétricos de los vectores de desplazamiento y los campos eléctricos. El vector de desplazamiento promedio en el coloide está, entonces, dado por<sup>1,2</sup>

$$\langle \vec{D} \rangle = \epsilon_{eff} \langle \vec{E} \rangle, \quad (2.1.2)$$

donde  $\langle \vec{E} \rangle$  es el campo eléctrico promedio en el coloide. Por otro lado, tenemos

$$\langle \vec{D} \rangle = (1 - f) \langle \vec{D}_m \rangle + f \langle \vec{D}_p \rangle, \quad (2.1.3)$$

$$\langle \vec{E} \rangle = (1 - f) \langle \vec{E}_m \rangle + f \langle \vec{E}_p \rangle. \quad (2.1.4)$$

Los vectores de desplazamiento promedio en el medio y en las partículas están dados por

$$\langle \vec{D}_m \rangle = \epsilon_m \langle \vec{E}_m \rangle, \quad (2.1.5)$$

$$\langle \vec{D}_p \rangle = \epsilon_p \langle \vec{E}_p \rangle. \quad (2.1.6)$$

Finalmente, como se verá en la sección 2.2, el campo eléctrico promedio dentro de las partículas es proporcional al campo eléctrico promedio en el medio:

$$\langle \vec{E}_p \rangle = K \langle \vec{E}_m \rangle. \quad (2.1.7)$$

Armados con estas ecuaciones, podemos calcular  $\epsilon_{eff}$  en términos de  $\epsilon_m$ ,  $\epsilon_p$  y  $f$ .

Juntando las ecuaciones 2.1.2 a 2.1.6, obtenemos

$$\epsilon_{eff} \left[ (1 - f) \langle \vec{E}_m \rangle + f \langle \vec{E}_p \rangle \right] = (1 - f) \epsilon_m \langle \vec{E}_m \rangle + f \epsilon_p \langle \vec{E}_p \rangle. \quad (2.1.8)$$

Usando esto y la ecuación 2.1.7, obtenemos

$$\epsilon_{eff} (1 - f + fK) \langle \vec{E}_m \rangle = [(1 - f) \epsilon_m + fK \epsilon_p] \langle \vec{E}_m \rangle, \quad (2.1.9)$$



de donde

$$\epsilon_{eff} = \frac{(1-f)\epsilon_m + fK\epsilon_p}{1-f+fK}. \quad (2.1.10)$$

Ésta es la ecuación general para partículas pequeñas con un volumen definido y fracción de llenado pequeña.

El índice de refracción de un dieléctrico con permitividad eléctrica  $\epsilon$  y permeabilidad magnética  $\mu$  está dado por la ecuación 1.1.5. Como se estableció en la sección 1.1, para luz incidente con frecuencia  $\nu \sim 10^{14}$  Hz la permeabilidad de cualquier material es esencialmente igual a la del vacío independientemente de la naturaleza del material. Esto implica que, para longitudes de onda en el espectro visible,

$$n = \sqrt{\frac{\epsilon}{\epsilon_0}}. \quad (2.1.11)$$

La ecuación 2.1.10 puede, por lo tanto, reescribirse en términos de índices de refracción como

$$n_{eff}^2 = \frac{(1-f)n_m^2 + fKn_p^2}{1-f+fK}. \quad (2.1.12)$$

Este modelo para el índice de refracción efectivo tiene la ventaja de que su generalización a coloides con varios tipos de partículas es inmediata;<sup>1</sup> uno simplemente sustituye  $\epsilon_p$ ,  $\vec{E}_p$ ,  $f$  y  $K$  con  $\{\epsilon_1, \epsilon_2, \dots\}$ ,  $\{\vec{E}_1, \vec{E}_2, \dots\}$ ,  $\{f_1, f_2, \dots\}$  y  $\{K_1, K_2, \dots\}$ , respectivamente, de modo que la ecuación 2.1.10 se convierte en

$$\epsilon_{eff} = \frac{(1-f)\epsilon_m + \sum f_\ell K_\ell \epsilon_\ell}{1-f + \sum f_\ell K_\ell}, \quad (2.1.13)$$

donde  $f = \sum f_\ell$  y todas las sumas son sobre  $\ell$ .

### 2.1.1 Límites de aplicabilidad

Una de las mayores limitaciones de este modelo es que no puede tomar en cuenta partículas grandes, pues el campo eléctrico no puede ser considerado constante dentro de una partícula cuyo tamaño es del orden de la longitud de onda o mayor (se ha estimado<sup>3</sup> que el mayor tamaño de partícula es  $a_{max} = \lambda/2\pi$ ).

La ecuación 2.1.10 es válida para partículas con cualquier forma; la sorprendentemente simétrica ecuación de Maxwell-Garnett,

$$\frac{\epsilon_{eff} - \epsilon_m}{\epsilon_{eff} + 2\epsilon_m} = f \frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + 2\epsilon_m}, \quad (2.1.14)$$

se obtiene si se calcula  $K$  para partículas esféricas (lo cual se hará en la sección 2.2; por ahora, simplemente mencionamos que el valor es  $3\epsilon_m/(2\epsilon_m + \epsilon_p)$ ). Como se ha mencionado anteriormente, la longitud de onda es irrelevante al modelo más allá de la dependencia de  $\epsilon_m$  y  $\epsilon_p$  en ella y del requisito de que  $a \ll \lambda$ .

Nótese que la ecuación es invariante bajo un intercambio de partículas por medio (en otras palabras, la ecuación permanece igual si pensamos en un material con permitividad  $\epsilon_p$  que tiene “agujeros” con permitividad  $\epsilon_m$ ), asumiendo que  $K$  no es una función de  $\epsilon_p$  y  $\epsilon_m$ , lo cual no necesariamente es cierto. Si realizamos este intercambio ( $\vec{E}_m \leftrightarrow \vec{E}_p$ ,  $\epsilon_m \leftrightarrow \epsilon_p$ ,  $f \leftrightarrow 1 - f$ , y  $K \leftrightarrow 1/K$ ), la ecuación 2.1.10 se vuelve

$$\begin{aligned} \epsilon'_{eff} &= \frac{f\epsilon_p + (1-f)\frac{1}{K}\epsilon_m}{f + (1-f)\frac{1}{K}} \\ &= \frac{fK\epsilon_p + (1-f)\epsilon_m}{fK + 1 - f} \\ &= \epsilon_{eff}. \end{aligned} \tag{2.1.15}$$

Si  $K$  sí es función de  $\epsilon_p$  y  $\epsilon_m$ , entonces hay que hacer la sustitución  $K \leftrightarrow K^{-1}$ ; en este caso, la ecuación 2.1.10 podría cambiar de forma.

El modelo usualmente se utiliza para fracciones de llenado pequeñas, pero mejoras pueden ser —y, de hecho, han sido— hechas para poder incluir fracciones de llenado mayores.<sup>1</sup> La diferencia entre éstas y el modelo original generalmente está en la relación entre  $\langle \vec{E}_p \rangle$  y  $\langle \vec{E}_m \rangle$ ; en otras palabras, el valor de  $K$  cambiará pero la teoría permanecerá intacta por lo demás (nótese que  $K$  no necesariamente será constante). Estas mejoras pueden considerar fracciones de llenado moderadas, aunque el requisito de que las partículas sean pequeñas es intrínseco a la teoría.

Una limitación importante de este modelo es que no toma en cuenta el esparcimiento de la luz por parte de las partículas; si  $\epsilon_p$  y  $\epsilon_m$  son reales, también lo será  $\epsilon_{eff}$ .

Una última desventaja del modelo es que requiere que las partículas suspendidas sean objetos con un volumen definido y una superficie definida (para que podamos definir un exterior y un interior). Como éste no es el caso para átomos y moléculas, necesitamos utilizar un enfoque distinto para estudiarlos.

## 2.2 La relación de Clausius-Mossotti

En ocasiones es más fácil o más apropiado trabajar con la polarizabilidad eléctrica de las partículas suspendidas en el coloide en vez de con su permitividad eléctrica. Éste es el caso cuando un volumen y una forma no pueden ser definidos para las

partículas, como en el caso de átomos y moléculas; sin un exterior y un interior bien definidos, uno no puede hablar de los campos externo e interno ni calcular la fracción de llenado de las partículas. La ecuación de Clausius-Mossotti relaciona la polarizabilidad de las partículas de un coloide con la permitividad efectiva (o el índice de refracción efectivo) del coloide.

Consideremos nuevamente un campo eléctrico  $\vec{E}_i$  viajando a través de un medio homogéneo con permitividad  $\epsilon_m$  y encontrándose con una partícula pequeña. Como se ha visto, el campo eléctrico induce un momento dipolar  $\vec{p}$  en la partícula;  $\vec{p}$  es paralelo a  $\vec{E}$ . La polarizabilidad  $\alpha$  de la partícula se define mediante

$$\vec{p} = \alpha \vec{E}_{loc}, \quad (2.2.1)$$

donde  $\vec{E}_{loc}$  es el campo eléctrico en la posición de la partícula (al estar trabajando con partículas pequeñas, podemos considerar que este campo es constante). En general, la polarizabilidad es un tensor (y, en la base en la que es diagonal,  $\vec{p}_\ell = \alpha_\ell \vec{E}_{loc_\ell}$ ), pero aquí haremos la aproximación de que es un escalar.

Consideremos una esfera imaginaria centrada en la partícula. Esta esfera debe tener un radio  $R$  mucho mayor que la distancia promedio entre partículas para que podamos tratar las partículas fuera de ella y las partículas dentro de ella como un continuo; sin embargo,  $R$  debe ser suficientemente pequeño para que podamos considerar que  $\vec{E}_i$  y  $\vec{E}_{loc}$  son constantes dentro de la esfera. Esto impone la restricción de que  $f \ll 1$ . Trataremos el interior de la esfera como un medio homogéneo con permitividad  $\epsilon_{eff}$  y su exterior como lo que es — un medio homogéneo con permitividad  $\epsilon_m$  en el que hay suspendidas muchas partículas idénticas (y distribuidas aleatoriamente).

El campo local  $\vec{E}_{loc}$  es la suma del campo incidente  $\vec{E}_i$  y el campo  $\vec{E}_{sph}$  producido por la polarización de la superficie de la esfera;<sup>3,4</sup> puesto que estamos tratando el material dentro de la esfera como un medio homogéneo, no consideraremos explícitamente la interacción electrostática entre nuestra partícula de interés y las otras partículas dentro de la esfera (está implícitamente considerada en el uso de  $\epsilon_{eff}$  en lugar de  $\epsilon_m$ ).

Calcular  $\vec{E}_{sph}$  es inmediato para una esfera si la fracción de llenado de las partículas es suficientemente pequeña para que el campo eléctrico local en una partícula elegida al azar no se vea influenciada apreciablemente por las partículas vecinas ( $f \ll 1$ ).<sup>5</sup> La susceptibilidad eléctrica del medio dentro de la esfera (con respecto al medio exterior) es  $\chi = \epsilon_{eff} - \epsilon_m$ . La densidad de polarización es, por lo tanto,

$$\vec{P} = (\epsilon_{eff} - \epsilon_m) \vec{E}_i. \quad (2.2.2)$$

El campo incidente induce una densidad de carga superficial en exceso

$$\begin{aligned} \sigma &= \vec{P} \cdot \hat{n} \\ &= P \cos(\theta) \end{aligned} \quad (2.2.3)$$

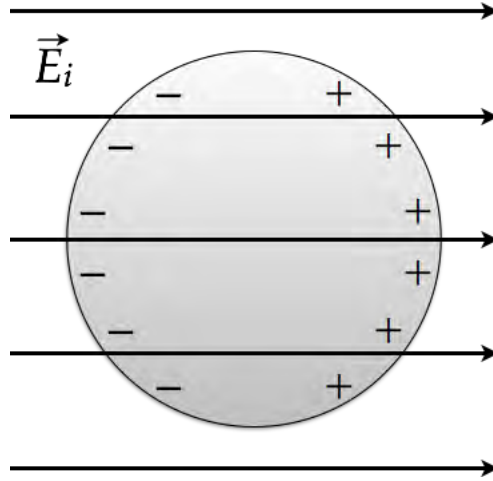


Figura 2.1. Densidad de carga superficial en exceso causada por una onda eléctrica plana incidiendo sobre una esfera. La onda viaja en la dirección  $z$ .

en la esfera, donde  $\hat{n}$  es el vector perpendicular a la superficie de la esfera en cada punto y las coordenadas se han elegido de modo que  $\vec{E}_i = E_i \hat{z}$ ; la esfera y el campo incidente se muestran en la figura 2.1. Puesto que  $\vec{E}_i$  y  $\vec{E}_{loc}$  se asumen constantes dentro de la esfera,  $\vec{E}_{sph}$  y  $\vec{P}$  también deben ser constantes ahí, por lo que podemos calcular  $\vec{E}_{sph}$  en el centro de la esfera, donde es más fácil. Tenemos, pues, de acuerdo con la ley de Coulomb,

$$\begin{aligned}
 \vec{E}_{sph} &= \int_0^{2\pi} \int_0^\pi \frac{\sigma \vec{r}}{4\pi\epsilon_m R^3} R^2 \sin(\theta) d\theta d\varphi \\
 &= \frac{P}{4\pi\epsilon_m} 2\pi \int_0^\pi \cos^2(\theta) \sin(\theta) d\theta \hat{z} \\
 &= \frac{1}{3\epsilon_m} \vec{P},
 \end{aligned} \tag{2.2.4}$$

donde las componentes  $x$  y  $y$  del integrando en la segunda línea han sido omitidos porque, por simetría, su integral es cero.

Usando este resultado y la ecuación 2.2.2, tenemos

$$\vec{E}_{loc} = \left( \frac{1}{\epsilon_{eff} - \epsilon_m} + \frac{1}{3\epsilon_m} \right) \vec{P}. \tag{2.2.5}$$

Si hay  $N$  partículas por unidad de volumen en el medio, la densidad de pola-

rización es

$$\vec{P} = N\vec{p}. \quad (2.2.6)$$

Juntando las ecuaciones 2.2.1, 2.2.5 y 2.2.6, obtenemos

$$\frac{N\alpha}{3\epsilon_m} = \frac{\epsilon_{eff} - \epsilon_m}{\epsilon_{eff} + 2\epsilon_m}. \quad (2.2.7)$$

Ésta es la relación de Clausius-Mossotti. Podemos calcular la permitividad efectiva de un coloide a partir de ella:

$$\epsilon_{eff} = \epsilon_m \frac{3\epsilon_m + 2N\alpha}{3\epsilon_m - N\alpha}. \quad (2.2.8)$$

Sustituyendo la polarizabilidad de una esfera, es posible derivar la ecuación de Maxwell-Garnett a partir de la relación de Clausius-Mossotti.<sup>2</sup>

Nótese que, como  $N$  tiene dimensiones de 1/volumen,  $\alpha$  tiene dimensiones de volumen  $\times$  permitividad (en unidades del sistema internacional, esto es  $\text{m}^2 \cdot \text{F}$ ).

Para un medio con  $N_1, N_2, \dots$  partículas por unidad de volumen con polarizabilidades  $\alpha_1, \alpha_2, \dots$ , la ecuación 2.2.7 se convierte en<sup>3</sup>

$$\sum \frac{N_\ell \alpha_\ell}{3\epsilon_m} = \frac{\epsilon_{eff} - \epsilon_m}{\epsilon_{eff} + 2\epsilon_m}, \quad (2.2.9)$$

donde la suma es sobre  $\ell$ .

### 2.2.1 Límites de aplicabilidad

Al igual que la ecuación 2.1.10, la relación de Clausius-Mossotti no puede ser usada cuando las partículas del coloide son suficientemente grandes para que  $\vec{E}_{loc}$  no sea prácticamente constante. Hemos hecho las mismas aproximaciones para derivar este modelo que las que hicimos para derivar el modelo anterior, por lo que el tamaño limitante debería ser el mismo para ambos modelos.

La relación de Clausius-Mossotti es válida solamente cuando  $f \ll 1$ . Si éste no es el caso, los efectos de las partículas cercanas sobre nuestra partícula de interés deberán ser consideradas. Esto resultará en una expresión diferente para  $\vec{E}_{loc}$  que la que hemos obtenido;  $\vec{E}_{loc}$  dejará entonces de ser proporcional a  $\vec{P}$ , por lo que una expresión tan simple como la ecuación 2.2.7 relacionando  $\alpha$  con  $\epsilon_{eff}$  no existirá.

La ventaja principal de la relación de Clausius-Mossotti sobre la ecuación 2.1.10 es que es válida para cualquier tipo de partícula, tenga o no un volumen y una forma definidos, siempre y cuando su polarizabilidad eléctrica sea conocida.

## 2.3 El incremento específico de refracción

Para muchas sustancias en solución, se ha mostrado experimentalmente que el índice de refracción de la solución es<sup>6</sup>

$$n_{eff} = n_m + \delta C, \quad (2.3.1)$$

donde  $C$  es la concentración de la sustancia en unidades de masa por unidad de volumen y  $\delta$  es una constante llamada el “incremento específico de refracción” de la sustancia. Para mezclas de varias sustancias con concentraciones  $C_\ell$  e incrementos específicos de refracción  $\delta_\ell$ , esto se vuelve

$$n_{eff} = n_m + \sum \delta_\ell C_\ell. \quad (2.3.2)$$

La ecuación 2.3.1 es, de hecho, una expansión de la relación de Clausius-Mossotti a primer orden en  $N$ . Usando la relación de Clausius-Mossotti y la ecuación 2.1.11,

$$\begin{aligned} n_{eff} &= n_m \sqrt{\frac{3\epsilon_0 n_m^2 + 2N\alpha}{3\epsilon_0 n_m^2 - N\alpha}} \\ &\approx n_m \sqrt{\frac{3\epsilon_0 n_m^2 + 2N\alpha}{3\epsilon_0 n_m^2 - N\alpha}} \Big|_{N=0} + N \frac{d}{dN} \left( n_m \sqrt{\frac{3\epsilon_0 n_m^2 + 2N\alpha}{3\epsilon_0 n_m^2 - N\alpha}} \right) \Big|_{N=0} \\ &= n_m \left( 1 + \frac{N\alpha}{2\epsilon_0 n_m^2} \right). \end{aligned} \quad (2.3.3)$$

Ahora bien, la concentración de la sustancia es

$$C = MN, \quad (2.3.4)$$

donde  $M$  es la masa de una molécula de la sustancia, por lo que, definiendo

$$\delta := \frac{\alpha}{2\epsilon_0 M n_m}, \quad (2.3.5)$$

obtenemos la ecuación 2.3.1.

## 2.4 Referencias

1. Mätzler C: *Physical principles of remote sensing: manuscript of the lecture course*; Universidad de Bern (2008); 31–34
2. Sihvola A H: *Electromagnetic mixing formulas and applications*; The Institution of Electrical Engineers (1999); sección 3.1

3. Priou A: *Dielectric properties of heterogeneous materials*; Elsevier Science Publishing & Co, Inc (1992); 104–107
4. Viljanen A & Vanhamäki H: *Applications of electrodynamics: lecture notes*; Instituto Meteorológico Finlandés (2005); 42–43
5. Rothwell E J & Cloud M J: *Electromagnetics*; CRC Press (2001); sección 4.6.3
6. Barer R: *Refractometry and interferometry of living cells*; Journal of the Optical Society of America 47(6) (1957); 545–556

## Capítulo 3

# El modelo de van de Hulst

Hasta ahora, hemos visto expresiones simples para  $n_{eff}$  o  $\epsilon_{eff}$  que funcionan bajo la condición de que las partículas sean mucho más pequeñas que la longitud de onda. En muchos casos, sin embargo, esto no es cierto y los modelos anteriormente mencionados dejan de funcionar. C H van de Hulst construyó un modelo más general que tiene la desventaja de involucrar cantidades que muchas veces son difíciles de calcular; sin embargo, tiene la ventaja de ser válido para partículas de cualquier tamaño y para un mayor intervalo de fracciones de llenado  $f$ .

Considérese una película delgada de un medio homogéneo y no-absorbente (con índice de refracción  $n_m$ ) que se extiende desde  $x = -\infty$  hasta  $x = +\infty$ , desde  $y = -\infty$  hasta  $y = +\infty$  y desde  $z = 0$  hasta  $z = H$ . Supóngase que hay  $N$  partículas por unidad de volumen y que las partículas son idénticas, están orientadas y distribuidas al azar, y tienen índice de refracción  $n_p$  (no necesariamente constante en todo el volumen de la partícula). Supóngase, además, que una onda plana  $\vec{E}_i = \vec{E}_{i_0} e^{ik_m z}$  incide sobre la película. Sean  $\vec{r}_j$  el vector que va del origen  $O$  a la  $j$ -ésima partícula y  $\vec{R}_j$  el vector que va de la  $j$ -ésima partícula a un punto  $P = (0, 0, d)$  lejos de la película ( $d \gg H$ ).

El campo en  $P$  es

$$\vec{E}(P) = \vec{E}_i + \sum_{j=1}^N \vec{E}_{s_j}, \quad (3.0.1)$$

donde

$$\vec{E}_{s_j} \approx \frac{e^{ik_m R_j}}{-ik_m R_j} \mathbf{S}(0) \vec{E}_i. \quad (3.0.2)$$

Hemos escrito  $\mathbf{S}$  en vez de  $S_{k\ell}$  ( $k, \ell \in \{1, 2\}$ ) por simplicidad; en general, la polarización de la luz esparcida no será la misma que la de la luz incidente, aún en la dirección de incidencia (aunque en el caso de partículas tenues lo es, de modo que



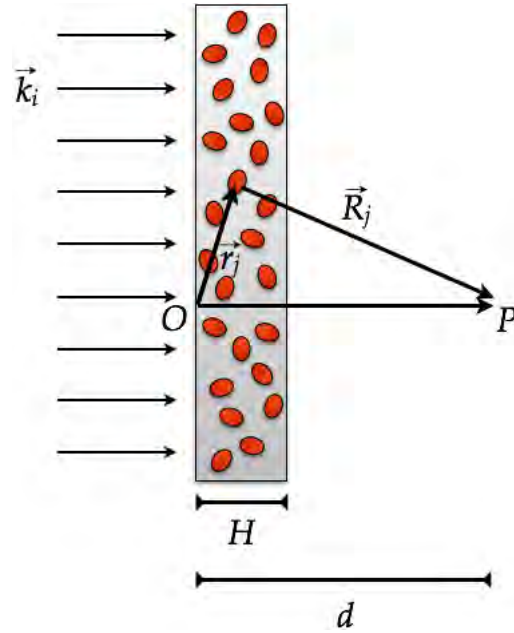


Figura 3.1. Una película de una mezcla formada por  $N$  partículas idénticas por unidad de volumen suspendidas en un medio homogéneo. La película tiene grosor  $H$ , y el punto de observación se coloca a una distancia  $d - H$  del borde cercano de la película.

$S$  se convierte en un escalar). Similarmente, hemos escrito  $S(0)$  en vez de  $S(\theta_j, \varphi_j)$  porque el hecho de que  $d \gg H$  significa que  $\theta_j \approx 0$  para toda  $j$  (en otras palabras,  $\vec{R}_j$  es casi paralelo al vector que va de  $O$  a  $P$ ). El hecho de que las partículas tengan distintas orientaciones causará que las  $S_j(0)$  sean diferentes entre sí, pero cuando  $N$  es grande podemos asumir que cada orientación ocurre con la misma probabilidad y entonces  $S(0)$  se refiere a la amplitud de esparcimiento promedio en la dirección de incidencia, donde el promedio se toma sobre todas las orientaciones posibles: si una orientación arbitraria está definida por una orientación inicial y dos ángulos de rotación  $\gamma, \psi \in [0, 2\pi)$ , entonces el promedio de  $S(0)$  está dado por

$$\langle S(0) \rangle = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_0^{2\pi} \int_0^{2\pi} S(0) d\gamma d\psi, \quad (3.0.3)$$

donde  $S(0)$  es, por supuesto, una función de  $\gamma$  y  $\psi$ . Escribiremos  $S(0)$  en vez de  $\langle S(0) \rangle$  por simplicidad, pero se entiende que nos referimos al promedio.

Como  $N$  es grande, podemos sustituir la suma en la ecuación 3.0.1 por una integral.<sup>1</sup> Así, obtenemos

$$\vec{E}(P) = \vec{E}_i + e^{ik_m z} \int_0^H \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{e^{ik_m R}}{-ik_m R} N S(0) dx dy dz \vec{E}_{i_0}, \quad (3.0.4)$$

donde  $R = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$ . Ahora, para  $x^2 + y^2$  grande,  $e^{ik_m(R+z)}$  oscila muy rápidamente y se cancela por interferencia. Por lo tanto, solamente tomamos la región donde  $x^2 + y^2$  es pequeño. La expansión de Taylor de  $R$  alrededor de  $x = y = 0$  es

$$\begin{aligned} R &\approx R \Big|_{x=y=0} + \frac{\partial R}{\partial x} \Big|_{x=y=0} x + \frac{\partial R}{\partial y} \Big|_{x=y=0} y \\ &\quad + \frac{1}{2} \left[ \frac{\partial^2 R}{\partial x^2} \Big|_{x=y=0} x^2 + 2 \frac{\partial^2 R}{\partial x \partial y} \Big|_{x=y=0} x y + \frac{\partial^2 R}{\partial y^2} \Big|_{x=y=0} y^2 \right] \\ &= z \left[ 1 + \frac{x^2 + y^2}{2z^2} \right]. \end{aligned} \quad (3.0.5)$$

Ahora bien,

$$\frac{x^2 + y^2}{z^2} = \tan^2(\theta), \quad (3.0.6)$$

de donde

$$\vec{E}(P) = \vec{E}_i + \int_0^{2\pi} \int_0^{\infty} \frac{e^{ik_m(z+\rho^2/2z)}}{-ik_m z \left[ 1 + \frac{\tan^2(\theta)}{2} \right]} NH \rho d\rho d\varphi S(0) \vec{E}_{i_0}, \quad (3.0.7)$$

donde  $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$ . Integrando sobre  $\varphi$  y notando que, como explicamos anteriormente, solamente la región donde  $x^2 + y^2$  es pequeño (la cual corresponde a  $\theta \approx 0$ ) contribuye a la integral, esto es

$$\begin{aligned} \vec{E}(P) &= \vec{E}_i + \frac{2\pi NH}{-ik_m} \int_0^{\infty} \frac{e^{ik_m(z+\rho^2/2z)}}{z} \rho d\rho S(0) \vec{E}_{i_0} \\ &= \vec{E}_i + \frac{2\pi NH e^{ik_m z}}{k_m^2} \int_0^{\infty} \frac{d}{d\rho} \left( e^{ik_m \rho^2/2z} \right) d\rho S(0) \vec{E}_{i_0}. \end{aligned} \quad (3.0.8)$$

Finalmente, notamos que, como ningún medio es verdaderamente no-dispersivo,  $k_m$  es complejo, aún si su parte imaginaria es muy pequeña. Por lo tanto, la exponencial se vuelve despreciable para  $\rho$  grande y tenemos solamente la exponencial en  $\rho = 0$ :

$$\begin{aligned} \vec{E}(P) &= \vec{E}_i - \frac{2\pi NH e^{ik_m z}}{k_m^2} S(0) \vec{E}_{i_0} \\ &= \left[ 1 - \frac{2\pi NH}{k_m^2} S(0) \right] \vec{E}_i(P). \end{aligned} \quad (3.0.9)$$

Si  $2\pi NS(0)/k_m^2$  es pequeño, entonces

$$\vec{E}(P) \approx e^{-2\pi NS(0)/k_m^2} \vec{E}_i(P). \quad (3.0.10)$$

La expresión para una onda de luz transmitida por un medio de grosor  $H$  cuyo índice de refracción es  $n_{eff}$  (el cual, a su vez, está embebido en un medio de fondo con índice de refracción  $n_m$ ) es

$$\vec{E}(z) = e^{ik_0(n_{eff}-n_m)H} \vec{E}_i(z). \quad (3.0.11)$$

Comparando las ecuaciones 3.0.10 y 3.0.11 y recordando que  $k_m = n_m k_0$ , tenemos

$$ik_0(n_{eff} - n_m) = -\frac{2\pi NS(0)}{k_m^2}, \quad (3.0.12)$$

de donde

$$n_{eff} = n_m \left[ 1 + i \frac{2\pi N}{k_m^3} S(0) \right]. \quad (3.0.13)$$

Por lo tanto, podemos (con ciertas limitaciones, pero cuáles son estas limitaciones es irrelevante para este trabajo) pensar que la película está hecha de un material homogéneo cuyo índice de refracción  $n_{eff}$  está dado por la ecuación 3.0.13.

La generalización de la ecuación 3.0.13 a mezclas con varios tipos de partículas es

$$n_{eff} = n_m \left[ 1 + i \frac{2\pi}{k_m^3} \sum N_\ell S_\ell(0) \right], \quad (3.0.14)$$

donde la suma es sobre  $\ell$ .

Puede llegar a ser bastante difícil calcular  $S(0)$  para partículas no-esféricas o inhomogéneas. Si las partículas son muy pequeñas, lo más sencillo es usar la ecuación 2.1.10 o la relación de Clausius-Mossotti en vez del modelo de van de Hulst, pero para partículas más grandes esto no es posible. Existen algunas situaciones en las que calcular  $S(0)$  es relativamente sencillo (la palabra “relativamente” es muy importante); la teoría de esparsamiento de Mie proporciona una expresión exacta para  $S(0)$  en el caso en el que las partículas son esféricas, pero, como trabajaremos con muchas partículas no-esféricas a lo largo de este trabajo, la aproximación llamada “difracción anómala” será más apropiada por ser computacionalmente más simple.

La condición de que  $d \gg H$  no es un requisito para que la teoría funcione; otras derivaciones<sup>2,3,4</sup> no hacen uso de ella. Hemos elegido esta derivación porque es intuitiva.

### 3.1 Límites de aplicabilidad

Las únicas suposiciones hechas en la derivación de la ecuación 3.0.13 son que  $N$  es suficientemente grande para que todas las posibles orientaciones de las partículas ocurran con aproximadamente la misma probabilidad y que  $\pi NS(0)H/k_m^2$  es pequeño. La validez del modelo de van de Hulst para valores grandes de  $f$  ha sido cuestionada; la verdadera pregunta es si  $\pi NS(0)H/k_m^2$  es suficientemente pequeño.

Se verá en el capítulo 4 que el número de células de un tipo dado (eritrocitos, leucocitos o trombocitos) por unidad de volumen de sangre es verdaderamente grande (por lo menos algunos millares por microlitro). También se verá que, para eritrocitos,  $f = 0.45$  en el caso de hombres adultos sanos y  $f = 0.40$  en el caso de mujeres adultas sanas. Asumiendo  $f = 0.45$  por ahora y considerando que modelaremos eritrocitos como partículas con un volumen promedio de  $97.933 \mu\text{m}^3$ , el número de eritrocitos por unidad de volumen es aproximadamente  $4.59 \times 10^6$  por microlitro. Nuestros cálculos de  $S(0)$  para eritrocitos (como se verá, en la aproximación de la difracción anómala la amplitud de esparcimiento es un escalar) resultan en una función compleja de  $\lambda$  cuya parte real es casi monótonamente decreciente y toma valores máximo y mínimo de 3,080.620 y 659.897, respectivamente, y cuya parte imaginaria toma valores entre  $-406.483$  y  $234.149$ ; la magnitud de  $S(0)$  está entre 760.912 y 3,093.651. Si calculamos  $\pi N|S(0)|H/k_m^2$  para cada  $\lambda$  entre 400 nm y 800 nm, obtenemos  $H$  multiplicado por  $1.900 \times 10^{-7} \mu\text{m}^{-1}$ , que es pequeño (digamos, del orden de máximo  $10^{-2}$ ) para valores de  $H$  menores o iguales a 5.26 cm, lo cual es enorme (la parte imaginaria del índice de refracción de la sangre entera es tan grande que una película con un grosor de algunas decenas de micras es suficiente para extinguir casi toda la luz incidente). Cualquier corrección a la ecuación 3.0.13 debe incluir un término del orden de  $[\pi NS(0)H/k_m^2]^2 \leq 3.61093 \times 10^{-14} H^2$ , que, para  $H \leq 5.26$  cm, corresponde a una diferencia del orden de máximo  $10^{-4}$  entre el verdadero valor de  $n_{eff}$  y el valor calculado mediante el modelo de van de Hulst. Como la contribución de los eritrocitos a  $n_{eff}$  es del orden de  $10^{-2}$  tanto en la parte real como en la parte imaginaria, esto constituye un error menor o igual al 1%. En cuanto a la posibilidad de pruebas experimentales, películas de no más de 100  $\mu\text{m}$  deben ser usadas;  $H = 100 \mu\text{m}$  implica una corrección al índice de refracción del orden de  $10^{-10}$ , lo cual es diez mil veces más pequeño que la contribución de las células sanguíneas que menos contribuyen, los trombocitos. Por lo tanto, el modelo de van de Hulst es apropiado para describir sangre entera aún cuando la fracción de llenado de los eritrocitos sea muy grande.

Es importante notar que el modelo de van de Hulst es válido únicamente para luz transmitida por el medio en cuestión;<sup>5</sup> la luz reflejada en su frontera no será

afectada del mismo modo que si se reflejara en la frontera de un medio con índice de refracción  $n_{eff}$  porque la frontera de la mezcla es físicamente diferente del resto del medio: la luz se encontrará con el borde de una partícula o con el borde de la matriz, pero no con el borde de un medio con índice de refracción  $n_{eff}$ . Los dos métodos para calcular  $S(0)$  presentados en este trabajo y el trabajo experimental que hemos realizado involucran luz entrando en el medio y viajando a través de él, pero mediciones de  $n_{eff}$  por reflectancia están condenadas a tener resultados erróneos.

### 3.2 La teoría de esparcimiento de Mie

La teoría de Mie es apropiada para describir el esparcimiento de luz por partículas esféricas. Consiste en resolver la ecuación de Helmholtz en coordenadas esféricas para el tipo específico de partícula que se desea estudiar.

La ecuación de Helmholtz escalar es

$$(\nabla^2 + k^2) \psi(\vec{r}) = 0, \quad (3.2.1)$$

y la ecuación de Helmholtz (electromagnética) vectorial es

$$\nabla \times [\nabla \times \vec{E}(\vec{r})] - k^2 \vec{E}(\vec{r}) = 0. \quad (3.2.2)$$

Para resolver la ecuación 3.2.1, escribimos

$$\psi(\vec{r}) = R(r) \Theta(\theta) \Phi(\varphi),$$

de modo que la ecuación se convierte en

$$\begin{aligned} \left( \frac{d^2 R}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{dR}{dr} \right) \Theta \Phi + \frac{1}{r^2} R \left[ \frac{d^2 \Theta}{d\theta^2} + \frac{1}{\tan(\theta)} \frac{d\Theta}{d\theta} \right] \Phi \\ + \frac{1}{r^2 \sin^2(\theta)} R \Theta \frac{d^2 \Phi}{d\varphi^2} + k^2 R \Theta \Phi = 0. \end{aligned}$$

La solución general es<sup>1,6</sup>

$$R_n(r) = z_n^{(\ell)}(kr), \quad (3.2.3)$$

$$\Theta_{n,m}(\theta) = P_n^m[\cos(\theta)], \quad (3.2.4)$$

$$\Phi_m(\varphi) = e^{im\varphi}, \quad (3.2.5)$$

donde  $z_n^{(\ell)}(x)$  es una función esférica de Bessel de orden  $n$  y

$$P_n^m(x) = \frac{(-1)^m}{2^n n!} (1-x^2)^{m/2} \frac{d^{n+m}}{dx^{n+m}} [(x^2-1)^n] \quad (3.2.6)$$

es el polinomio asociado de Legendre de orden  $(n, m)$ , que a su vez es la solución de la ecuación diferencial de Legendre,

$$(1 - x^2) \frac{d^2 P}{dx^2} - 2x \frac{dP}{dx} + \left[ n(n+1) - \frac{m^2}{1-x^2} \right] P = 0.$$

Las funciones esféricas de Bessel están dadas en términos de las funciones de Bessel del primer tipo  $J_n$  y del segundo tipo  $Y_n$  como sigue:

$$\begin{aligned} z_n^{(1)}(x) &\equiv j_n(x) = \sqrt{\frac{\pi}{2x}} J_{n+\frac{1}{2}}(x), \\ z_n^{(2)}(x) &\equiv y_n(x) = \sqrt{\frac{\pi}{2x}} Y_{n+\frac{1}{2}}(x), \\ z_n^{(3)}(x) &\equiv h_n^{(1)}(x) = j_n(x) + i y_n(x), \\ z_n^{(4)}(x) &\equiv h_n^{(2)}(x) = j_n(x) - i y_n(x). \end{aligned}$$

Las soluciones a la ecuación 3.2.2 son<sup>1,6</sup>

$$\vec{M}_{n,m}(\vec{r}) = \frac{\gamma_{n,m}}{\sqrt{n(n+1)}} \nabla \times (\psi_{n,m} \vec{r}), \quad (3.2.7)$$

$$\vec{N}_{n,m}(\vec{r}) = \frac{1}{k} \nabla \times \vec{M}_{n,m}(\vec{r}), \quad (3.2.8)$$

$$(3.2.9)$$

donde

$$\gamma_{n,m} = \sqrt{\frac{(2n+1)(n-m)!}{4\pi(n+m)!}} \quad (3.2.10)$$

con  $n \in \mathbb{N}$ .

Los armónicos esféricos vectoriales se definen como<sup>1,6</sup>

$$\vec{V}_{n,m}^{(1)}(\theta, \varphi) = \Theta_{n,m}(\theta) \Phi_m(\varphi) \hat{r}, \quad (3.2.11)$$

$$\vec{V}_{n,m}^{(2)}(\theta, \varphi) = r \nabla [\Theta_{n,m}(\theta) \Phi_m(\varphi)] \quad (3.2.12)$$

$$\vec{V}_{n,m}^{(3)}(\theta, \varphi) = \nabla \times [\Theta_{n,m}(\theta) \Phi_m(\varphi) \vec{r}], \quad (3.2.13)$$

donde  $n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$  para  $\vec{V}_{n,m}^{(1)}$  y  $n \in \mathbb{N}$  para  $\vec{V}_{n,m}^{(2)}$  y  $\vec{V}_{n,m}^{(3)}$ .

Las funciones angulares de Mie se definen como<sup>1,6</sup>

$$\pi_n [\cos(\theta)] = -\frac{P_n^1 [\cos(\theta)]}{\sin(\theta)}, \quad (3.2.14)$$

$$\tau_n [\cos(\theta)] = -\frac{dP_n^1 [\cos(\theta)]}{d\theta}. \quad (3.2.15)$$

Sean

$$\hat{k} = \sin(\theta_k) \cos(\varphi_k) \hat{x} + \sin(\theta_k) \sin(\varphi_k) \hat{y} + \cos(\theta_k) \hat{z}, \quad (3.2.16)$$

$$\hat{v} = \hat{\theta}_k, \quad (3.2.17)$$

$$\hat{h} = \hat{\varphi}_k. \quad (3.2.18)$$

Una onda electromagnética plana viajando en la dirección  $\hat{k}$  puede, entonces, ser expresada en términos de ondas esféricas como<sup>1,6</sup>

$$\begin{aligned} \vec{E}(\vec{r}) &= (E_h \hat{h} + E_v \hat{v}) e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}} \\ &= \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=-n}^n \alpha_{n,m} \left[ E_v \left( \hat{\theta}_k \cdot \vec{V}_{n,-m}^{(3)}(\theta_k, \varphi_k) \right) \right. \\ &\quad \left. + E_h \left( \hat{\varphi}_k \cdot \vec{V}_{n,-m}^{(3)}(\theta_k, \varphi_k) \right) \right] \vec{M}_{n,m}(\vec{r}) \\ &\quad - i \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=-n}^n \alpha_{n,m} \left[ E_v \left( \hat{\theta}_k \cdot \vec{V}_{n,-m}^{(2)}(\theta_k, \varphi_k) \right) \right. \\ &\quad \left. + E_h \left( \hat{\varphi}_k \cdot \vec{V}_{n,-m}^{(2)}(\theta_k, \varphi_k) \right) \right] \vec{N}_{n,m}(\vec{r}), \quad (3.2.19) \end{aligned}$$

donde

$$\alpha_{n,m} = \frac{(-1)^m i^n (2n+1)}{\gamma_{n,m} \sqrt{n(n+1)}}. \quad (3.2.20)$$

En la teoría de Mie, la amplitud de esparcimiento de una esfera está dada por<sup>7</sup>

$$S_{11}(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} \left[ a_n \pi_n [\cos(\theta)] + b_n \tau_n [\cos(\theta)] \right], \quad (3.2.21)$$

$$S_{12}(\theta) = 0, \quad (3.2.22)$$

$$S_{21}(\theta) = 0, \quad (3.2.23)$$

$$S_{22}(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} \left[ b_n \pi_n [\cos(\theta)] + a_n \tau_n [\cos(\theta)] \right], \quad (3.2.24)$$

donde  $a_n$  y  $b_n$  se obtienen de las condiciones de frontera en la superficie de la esfera (para lo cual la expresión de una onda plana en términos de ondas esféricas es

útil):<sup>1,6</sup>

$$a_n = \frac{m \eta_n(mkr) \frac{d\eta_n(kr)}{d(kr)} - \eta_n(kr) \frac{d\eta_n(mkr)}{d(mkr)}}{m \eta_n(mkr) \frac{d\xi_n(kr)}{d(kr)} - \xi_n(kr) \frac{d\eta_n(mkr)}{d(mkr)}}, \quad (3.2.25)$$

$$b_n = \frac{\eta_n(mkr) \frac{d\eta_n(kr)}{d(kr)} - m \eta_n(kr) \frac{d\eta_n(mkr)}{d(mkr)}}{\eta_n(mkr) \frac{d\xi_n(kr)}{d(kr)} - m \xi_n(kr) \frac{d\eta_n(mkr)}{d(mkr)}}, \quad (3.2.26)$$

donde

$$m = \frac{n_p}{n_m}, \quad (3.2.27)$$

$$\eta_n(x) = x j_n(x), \quad (3.2.28)$$

$$\xi_n(x) = x h_n^{(1)}(x). \quad (3.2.29)$$

### 3.3 Difracción anómala

Si las partículas en cuestión son grandes, podemos pensar en ellas como medios en sí; la luz viajará a través de ellas como lo haría a través de cualquier otro medio. Si, además, su índice de refracción  $n_p$  (posiblemente inhomogéneo) es muy similar al del medio de fondo (en cuyo caso se dice que las partículas son “tenues”), serán casi transparentes para la luz incidente y causarán una refracción despreciable; su único efecto significativo será introducir un cambio de fase  $\beta$  en la luz que las atraviese.<sup>8</sup> Podemos expresar estas dos condiciones como

$$k_m a \gg 1, \quad (3.3.1)$$

$$\left| \frac{n_p}{n_m} - 1 \right| \ll 1. \quad (3.3.2)$$

La cantidad  $\lambda_m = 2\pi/k_m$  denotará la longitud de onda en el medio de fondo.

Consideremos una partícula tenue con índice de refracción uniforme  $n_p$ . Nuevamente, consideremos que la luz incidente viaja en la dirección  $z$ , y coloquemos el origen de coordenadas en algún punto de la sombra de la partícula de modo que la partícula esté contenida completamente en el semiespacio en el que  $z \leq 0$ .

En algún punto  $(x', y', 0)$  fuera de la sombra de la partícula, el campo es igual al campo incidente; escribimos  $\vec{E}(x', y', 0) = \vec{E}_0$ . En cambio, en algún punto  $(x, y, 0)$  dentro de la sombra de la partícula, el campo es  $\vec{E}(x, y, 0) = \vec{E}_0 e^{i\beta(x, y)}$ , donde

$$\beta(x, y) = (k_p - k_m) h(x, y) \quad (3.3.3)$$



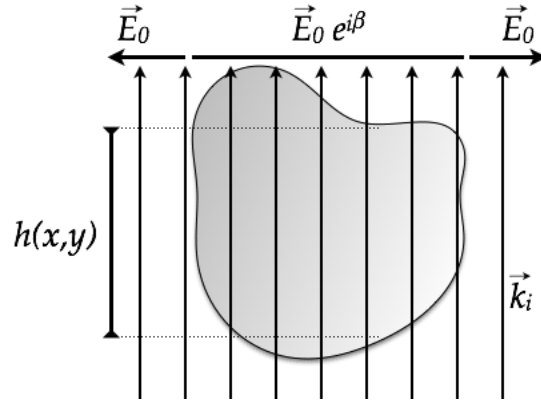


Figura 3.2. Una partícula de forma arbitraria. La distancia que viaja dentro de la partícula un rayo de luz en la posición  $(x, y)$  se denota por  $h(x, y)$ . La partícula provoca un cambio de fase  $\beta(x, y)$  en la luz que la atraviesa.

y  $h(x, y)$  es la "altura" de la partícula en la posición  $(x, y)$  (en otras palabras,  $h(x, y)$  es la distancia que la luz viaja dentro de la partícula en  $(x, y)$ ). Si  $n_p$  no es constante (dicho de otro modo, si es una función de la posición  $(x, y, z)$  dentro de la partícula), sustituimos el lado derecho de la ecuación 3.3.3 por la integral de  $k_p(x, y, z) - k_m$  con respecto a  $z$ .

La transformada de Fourier de una función  $f(x)$  es

$$F(k) = \int_{-\infty}^{\infty} f(x) e^{-ikx} dx. \quad (3.3.4)$$

La transformada inversa de Fourier de  $F(k)$  es

$$f(x) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} F(k) e^{ikx} dk. \quad (3.3.5)$$

Para una función de dos variables, tenemos

$$F(k_x, k_y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy, \quad (3.3.6)$$

$$f(x, y) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(k_x, k_y) e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y. \quad (3.3.7)$$

Podemos denotar la transformada de Fourier de una función  $f$  por  $\mathcal{F}[f]$  y la transformada inversa de  $F$  por  $\mathcal{F}^{-1}[F]$ .

Una propiedad importante de la transformada de Fourier es

$$\mathcal{F} \left[ \frac{df}{dx} \right] = ik \mathcal{F} [f(x)], \quad (3.3.8)$$

de donde se sigue fácilmente que

$$\mathcal{F} \left[ \frac{d^N f}{dx^N} \right] = (ik)^N \mathcal{F} [f(x)] \quad (3.3.9)$$

para cualquier  $N \in \mathbb{N}$ . El símbolo  $\mathcal{F}_{xy} [f(x, y)]$  denotará la transformada de Fourier con respecto a  $y$  de la transformada de Fourier con respecto a  $x$  de la función  $f(x, y)$ .

Conocemos  $\vec{E}(x, y, 0)$  para todos los valores de  $x$  y  $y$ . Sacando la transformada de Fourier de cada término de la ecuación de Helmholtz y la primera ecuación de Maxwell,  $\nabla \cdot \vec{E} = 0$ , en coordenadas cartesianas, obtenemos

$$\left( \frac{\partial^2}{\partial z^2} + k_m^2 - k_{m_x}^2 - k_{m_y}^2 \right) \vec{\mathcal{E}}(k_{m_x}, k_{m_y}, z) = 0, \quad (3.3.10)$$

$$k_{m_x} \mathcal{E}_x + k_{m_y} \mathcal{E}_y - i \frac{\partial \mathcal{E}_z}{\partial z} = 0. \quad (3.3.11)$$

Escribiendo

$$\begin{aligned} \vec{\mathcal{E}}(k_{m_x}, k_{m_y}, z) &= \vec{\mathcal{E}}_1(k_{m_x}, k_{m_y}) e^{ik_{m_z} z} \\ &= \left( \mathcal{E}_{0_x}(k_{m_x}, k_{m_y}), \mathcal{E}_{0_y}(k_{m_x}, k_{m_y}), \mathcal{E}_{0_z}(k_{m_x}, k_{m_y}) \right) e^{ik_{m_z} z}, \end{aligned} \quad (3.3.12)$$

la ecuación 3.3.11 se convierte en

$$\left( k_{m_x} \mathcal{E}_{0_x} + k_{m_y} \mathcal{E}_{0_y} + k_{m_z} \mathcal{E}_{0_z} \right) e^{ik_{m_z} z} = \left( \vec{k}_m \cdot \vec{\mathcal{E}} \right) e^{ik_{m_z} z} = 0, \quad (3.3.13)$$

lo cual implica que

$$\vec{k}_m \cdot \vec{\mathcal{E}} = 0 \quad (3.3.14)$$

porque  $e^{ik_{m_z} z}$  nunca es cero. Entonces

$$\mathcal{E}_{0_z} = - \frac{k_{m_x} \mathcal{E}_{0_x} + k_{m_y} \mathcal{E}_{0_y}}{\sqrt{k_m^2 - k_{m_x}^2 - k_{m_y}^2}}. \quad (3.3.15)$$

Tomando la transformada inversa de Fourier de  $\vec{\mathcal{E}} = \vec{\mathcal{E}}_0 e^{ik_{m_z} z}$ , obtenemos

$$\vec{E}(x, y, z) = \frac{1}{4\pi^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \vec{\mathcal{E}}_0 e^{i\vec{k}_m \cdot \vec{r}} dk_{m_x} dk_{m_y}. \quad (3.3.16)$$

Utilizando las ecuaciones 3.3.15 y 3.3.16, podemos conocer  $\vec{E}(x, y, z)$  para cualquier valor de  $z > 0$ ; basta resolver la integral doble de la ecuación 3.3.16. Supongamos que, dado un punto  $\vec{r} = (x, y, z)$  tal que  $r \gg \lambda_m$  y  $z > 0$ , queremos calcular  $\vec{E}(\vec{r})$ .

Existe un punto  $\vec{r}_0 = (x_0, y_0, z_0)$  tal que

$$\frac{\partial(\vec{k}_m \cdot \vec{r}_0)}{\partial k_{m_x}} = \frac{\partial(\vec{k}_m \cdot \vec{r}_0)}{\partial k_{m_y}} = 0. \quad (3.3.17)$$

Este punto se llama "punto de fase estacionaria".<sup>9</sup>  $\vec{k}_m \cdot \vec{r}_0$  cambia muy poco con pequeños cambios en  $\vec{k}_m$ ; en otros puntos, la condición  $r \gg \lambda_m$  implica  $\vec{k}_m \cdot \vec{r} \gg 1$  y, por consiguiente, que  $e^{i\vec{k}_m \cdot \vec{r}}$  oscila rápidamente, por lo cual ahí el integrando en la ecuación 3.3.16 se cancela por interferencia. Ahora bien, en coordenadas esféricas tenemos

$$\begin{aligned} \vec{k}_m \cdot \vec{r} &= r \left[ k_{m_x} \sin(\theta) \cos(\varphi) + k_{m_y} \sin(\theta) \sin(\varphi) \right. \\ &\quad \left. + \sqrt{k_m^2 - k_{m_x}^2 - k_{m_y}^2} \cos(\theta) \right]. \end{aligned} \quad (3.3.18)$$

En  $\vec{r}_0$ , tenemos que

$$0 = \frac{\partial(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x}} = r \sin(\theta) \cos(\varphi) - \frac{r k_{m_x} \cos(\theta)}{\sqrt{k_m^2 - k_{m_x}^2 - k_{m_y}^2}}, \quad (3.3.19)$$

$$0 = \frac{\partial(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_y}} = r \sin(\theta) \sin(\varphi) - \frac{r k_{m_y} \cos(\theta)}{\sqrt{k_m^2 - k_{m_x}^2 - k_{m_y}^2}} \quad (3.3.20)$$

de donde

$$k_{m_x}^2 = \frac{(k_m^2 - k_{m_y}^2) \sin^2(\theta) \cos^2(\varphi)}{\cos^2(\theta) + \sin^2(\theta) \cos^2(\varphi)}, \quad (3.3.21)$$

$$k_{m_y}^2 = \frac{(k_m^2 - k_{m_x}^2) \sin^2(\theta) \sin^2(\varphi)}{\cos^2(\theta) + \sin^2(\theta) \sin^2(\varphi)}. \quad (3.3.22)$$

Sustituyendo la ecuación 3.3.22 en la ecuación 3.3.21 y despejando  $k_{m_x}$ , obtenemos

$$k_{m_x} = k_m \sin(\theta) \cos(\varphi); \quad (3.3.23)$$

sustituyendo este valor de  $k_{m_x}$  en la ecuación 3.3.22 y despejando  $k_{m_y}$ , obtenemos

$$k_{m_y} = k_m \sin(\theta) \sin(\varphi). \quad (3.3.24)$$

La expansión de Taylor de  $\vec{k}_m \cdot \vec{r}$  alrededor del punto de fase estacionaria (donde escribimos  $k_m = k_{m_0}$ ) es

$$\begin{aligned} \vec{k}_m \cdot \vec{r} = & k_{m_0} r + \frac{1}{2!} \left[ \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x}^2} \Big|_{k_{m_0}} (k_{m_x} - k_{m_{x_0}})^2 \right. \\ & + 2 \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x} \partial k_{m_y}} \Big|_{k_{m_0}} (k_{m_x} - k_{m_{x_0}}) (k_{m_y} - k_{m_{y_0}}) \\ & \left. + \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_y}^2} \Big|_{k_{m_0}} (k_{m_y} - k_{m_{y_0}})^2 \right] + \dots, \end{aligned} \quad (3.3.25)$$

pues la primera derivada parcial de  $\vec{k}_m \cdot \vec{r}$  con respecto a  $k_{m_x}$  o  $k_{m_y}$  es cero en dicho punto. Reescribimos la ecuación 3.3.25 como

$$\vec{k}_m \cdot \vec{r} \approx k_{m_0} r - (A u^2 + B v^2 + C u v), \quad (3.3.26)$$

donde hemos despreciado los términos con derivadas de orden mayor a 2 y

$$A = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x}^2} \Big|_{k_{m_0}},$$

$$B = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_y}^2} \Big|_{k_{m_0}},$$

$$C = -\frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x} \partial k_{m_y}} \Big|_{k_{m_0}},$$

$$u = k_{m_x} - k_{m_{x_0}},$$

$$v = k_{m_y} - k_{m_{y_0}}.$$

Recordando que la única contribución significativa a la integral de la ecuación 3.3.16 es la de los puntos cercanos al punto de fase estacionaria y notando que  $dk_{m_x} = du$  y  $dk_{m_y} = dv$ , la ecuación 3.3.16 se convierte en

$$\vec{E}(x, y, z) = \frac{1}{4\pi^2} \vec{E}_0 e^{ik_m r} \iint_{\Delta_s} e^{-i(A u^2 + B v^2 + C u v)} du dv, \quad (3.3.27)$$

donde  $\Delta_s$  es un círculo pequeño centrado en  $(u, v) = (0, 0)$ . Ahora bien, para puntos en el plano  $uv$  tales que  $(u, v) \notin \Delta_s$ , nuevamente  $e^{-i(A u^2 + B v^2 + C u v)}$  oscila

rápidamente, pues  $A$ ,  $B$  y  $C$  son proporcionales a  $r$  y  $r \gg \lambda$ . Por lo tanto, podemos escribir

$$\vec{E}(x, y, z) = \frac{1}{4\pi^2} \vec{\mathcal{E}}_0 e^{ik_m r} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i(Au^2 + Bv^2 + Cuv)} du dv. \quad (3.3.28)$$

Pero

$$\left( \sqrt{A}u + \frac{Cv}{2\sqrt{A}} \right)^2 - \frac{C^2 v^2}{4A} + Bv^2 = Au^2 + Bv^2 + Cuv, \quad (3.3.29)$$

por lo que, haciendo el cambio de variable  $w := \sqrt{A}u + (C/2\sqrt{A})v$  y notando que la diferencial de  $w$  es  $dw = \sqrt{A}du + (C/2\sqrt{A})dv$ , obtenemos

$$\begin{aligned} \vec{E}(x, y, z) &= \frac{1}{4\pi^2} \vec{\mathcal{E}}_0 e^{ik_m r} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{e^{-i[w^2 + (B - \frac{C^2}{4A})v^2]}}{\sqrt{A}} dw dv \\ &= \frac{1}{4\pi^2} \vec{\mathcal{E}}_0 e^{ik_m r} \frac{1}{\sqrt{A}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-iw^2} dw \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i(B - \frac{C^2}{4A})v^2} dv \\ &= -\frac{2\pi i}{\sqrt{4AB - C^2}} \end{aligned} \quad (3.3.30)$$

(la integración con respecto a  $u$  se hace a  $v$  constante, por lo que la diferencial de  $v$  en la expresión de la diferencial de  $w$  es cero al sustituir  $du$  en la integral de la primera línea).

Recordando que  $\sqrt{k_m^2 - k_{m_x}^2 - k_{m_y}^2} = k_{m_z} = k_m \cos(\theta)$ , tenemos que

$$A = -\frac{1}{2} \left. \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x}^2} \right|_{k_{m_0}} = \frac{r}{2k_{m_0}} \left[ 1 + \frac{k_{m_{x_0}}^2}{k_{m_0}^2 \cos^2(\theta)} \right], \quad (3.3.31)$$

$$B = -\frac{1}{2} \left. \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_y}^2} \right|_{k_{m_0}} = \frac{r}{2k_{m_0}} \left[ 1 + \frac{k_{m_{y_0}}^2}{k_{m_0}^2 \cos^2(\theta)} \right], \quad (3.3.32)$$

$$C = -\left. \frac{\partial^2(\vec{k}_m \cdot \vec{r})}{\partial k_{m_x} \partial k_{m_y}} \right|_{k_{m_0}} = -\frac{r k_{m_{x_0}} k_{m_{y_0}}}{k_{m_0}^3 \cos^2(\theta)}. \quad (3.3.33)$$

Sustituyendo esto en la ecuación 3.3.30, obtenemos finalmente

$$\vec{E}(x, y, z) = -\frac{ik_m \cos(\theta)}{2\pi r} \vec{\mathcal{E}}_0 e^{ik_m r}. \quad (3.3.34)$$

Pero

$$\vec{\mathcal{E}}_0 = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \vec{E}_1(x, y, 0) e^{i(k_{m_x}x + k_{m_y}y)} dx dy, \quad (3.3.35)$$

por lo que

$$\vec{E}(x, y, z) = -\frac{ik_m \cos(\theta)}{2\pi r} e^{ik_m r} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \vec{E}_1(x, y, 0) e^{i(k_{m_x}x + k_{m_y}y)} dx dy \quad (3.3.36)$$

para toda  $z > 0$  cuando  $r \gg \lambda_m$ . Para  $z \gg 1$ , tenemos que  $\cos(\theta) \approx 1$  y la ecuación 3.3.36 se reduce a

$$\vec{E}(x, y, z) = -\frac{ik_m}{2\pi r} e^{ik_m r} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \vec{E}_1(x, y, 0) e^{i(k_{m_x}x + k_{m_y}y)} dx dy. \quad (3.3.37)$$

Recordemos que  $\vec{E}_1(x, y, 0) e^{i(k_{m_x}x + k_{m_y}y)} = \vec{E}_1(x, y, 0) e^{i\vec{k}_m \cdot \vec{r}} = \vec{E}_0 e^{i\beta(x, y)}$ , donde  $\beta(x, y)$  es el cambio de fase introducido por la partícula y es cero fuera de la sombra de ésta. Podemos pensar que el campo total,  $\vec{E}$ , es igual a la suma del campo incidente,  $\vec{E}_i$ , y el campo esparcido por la partícula,  $\vec{E}_s$ . Pero el campo incidente en  $z = 0$  es precisamente  $\vec{E}_0$ . Por lo tanto, escribimos

$$\vec{E}_s = -\frac{ik_m}{2\pi r} e^{ik_m r} \vec{E}_0 \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} [e^{i\beta(x, y)} - 1] dx dy. \quad (3.3.38)$$

Recordando la ecuación 1.2.3, la amplitud de esparcimiento en la dirección de incidencia es

$$S(0) = \frac{k_m^2}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} [1 - e^{i\beta(x, y)}] dx dy, \quad (3.3.39)$$

(fuera de la sombra,  $\beta = 0$  y por lo tanto el integrando es cero, de modo que podríamos reducir la región de integración de todo el plano  $xy$  a cualquier región que contenga completamente la sombra de la partícula). Para partículas homogéneas, esto es

$$S(0) = \frac{k_m^2}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} [1 - e^{i(n_p - n_m)h(x, y)}] dx dy. \quad (3.3.40)$$

Es importante recordar que aquí  $S(0)$  es el promedio (sobre todas las orientaciones posibles de la partícula) de la amplitud de esparcimiento en la dirección de incidencia.

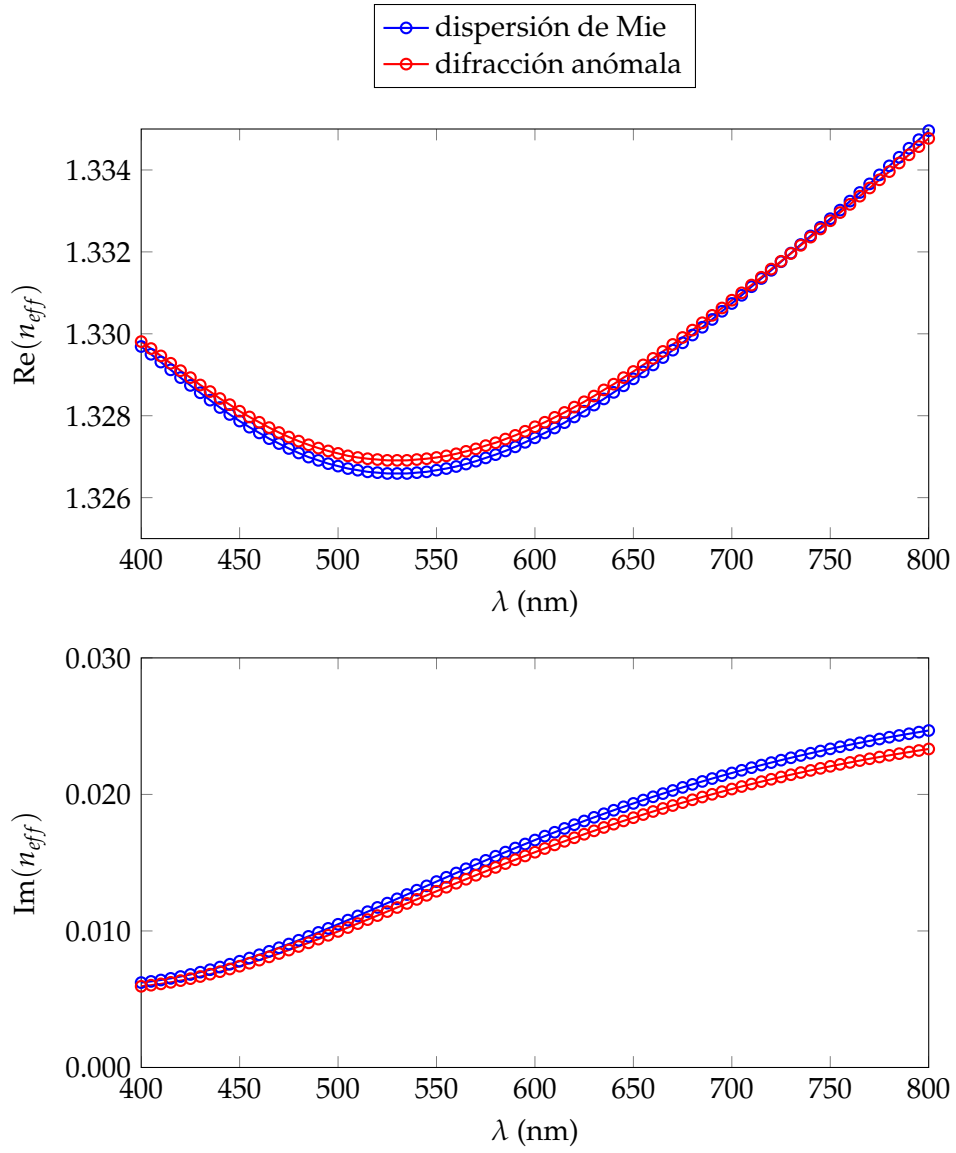


Figura 3.3.  $\text{Re}(n_{eff})$  (arriba) y  $\text{Im}(n_{eff})$  (abajo) para una mezcla formada por un medio con índice de refracción constante  $n_m = 1.33$  y partículas esféricas con índice de refracción constante  $n_p = 1.415 + 0.0009i$ , fracción de llenado  $f = 0.45$  y radio  $a = 2.85943 \mu\text{m}$ .

### 3.3.1 La validez de la difracción anómala para las células de la sangre

Hemos dicho que la difracción anómala solamente funciona para partículas que satisfacen  $k_m a \gg 1$  y  $|n_p/n_m - 1| \ll 1$ . Exactamente qué tanto mayor y menor que 1 (respectivamente) deben ser estas cantidades depende del grado de precisión con el que uno quiera trabajar. Se calculará  $k_m a$  y  $|n_p/n_m - 1|$  en el capítulo 4 para los principales objetos de estudio de este trabajo, las células sanguíneas; estas células tienen  $k_m a \in [10, 100]$  y  $|n_p/n_m - 1| \approx 0.07$ , cantidades suficientemente cercanas a 1 para hacer que sea razonable dudar de la validez de la difracción anómala para su estudio.

La figura 3.3 muestra que  $k_m a$  es suficientemente mayor que 1 y  $|n_p/n_m - 1|$  es suficientemente menor que 1 para que la difracción anómala sea apropiada; las curvas de difracción anómala y las de la teoría de Mie son cualitativamente idénticas y suficientemente similares numéricamente para que los errores introducidos por el uso de la difracción anómala sean despreciables. Las curvas muestran  $n_{eff}$  como función de  $\lambda$  para una mezcla formada por un medio homogéneo con índice de refracción  $n_m = 1.33$  y partículas esféricas con radio  $a = 2.85943 \mu\text{m}$  e índice de refracción  $n_p = 1.415 + 0.0009i$ , para las cuales se tiene  $k_m a \in [29.87, 59.74]$  y  $|n_p/n_m - 1| = 0.064$ , valores suficientemente cercanos a aquéllos obtenidos para las células sanguíneas. Aunque los eritrocitos y los trombocitos no son esféricos, el hecho de que la difracción anómala se defienda tan bien para partículas esféricas es un buen indicador de que también debe defenderse (con un error del mismo orden de magnitud) para partículas elipsoidales.

## 3.4 Referencias

1. Bohren C F & Huffman D R: *Absorption and scattering of light by small particles*; Wiley Science Paperback Series (1983); 77–78, 83–101
2. Barrera R G & García-Valenzuela A: *Coherent reflectance in a system of random Mie scatterers and its relation to the effective medium approach*; Journal of the Optical Society of America A 20(2) (2003); 296–311
3. Barrera R G, Reyes-Coronado A & García-Valenzuela A: *Nonlocal nature of the electrodynamic response of colloidal systems*; Physical Review B 75 (2007); 184202
4. Gutiérrez-Reyes E, García-Valenzuela A & Barrera R G: *Overview of an effective-medium approach to the reflection and refraction of light at a turbid colloidal half-space*; Physica Status Solidi (b) 249(6) (2012); 1140–1147



5. García-Valenzuela A, Barrera R G & Gutiérrez-Reyes E: *Rigorous theoretical framework for particle sizing in turbid colloids using light refraction*; Optics Express 16(24) (2008); 19741
6. Tsang L, Kong J A & Ding K-H: *Scattering of electromagnetic waves: theories and applications*; John Wiley & Sons, Inc (segunda edición, 2000); 21–30
7. Evans F: *Radiative processes in planetary atmospheres: lecture notes*; capítulo sobre esparcimiento de Lorenz-Mie; Universidad de Colorado (2001); 1–2
8. van de Hulst H C: *Light scattering by small particles*; Dover Publications, Inc (1981); 105–106, 172–175
9. Collin R E: *Antennas and radiowave propagation*; McGraw-Hill (1985); 164–169, 284–286

## Capítulo 4

# El índice de refracción efectivo de la sangre entera humana

### 4.1 La composición de la sangre humana

La sangre es un fluido complejo formado por plasma sanguíneo y células de tres tipos: trombocitos (en humanos también llamados “plaquetas” por su forma), eritrocitos y leucocitos. Revisaremos cada componente superficialmente; además de aquello que es relevante para este trabajo, solamente se hará una breve mención de la función biológica de cada tipo de célula.

Es importante mencionar que, mientras que medir el índice de refracción de sangre pura (no-diluida) experimentalmente presenta grandes dificultades y, por consiguiente, debe usarse sangre diluida, el análisis presentado aquí es para sangre pura. Mientras que los valores exactos de las cantidades involucradas ( $n_m$ ,  $n_{eff}$ , etc) obviamente variarán, el comportamiento cualitativo de las curvas obtenidas en este capítulo y el siguiente será el mismo en muestras diluidas.

#### 4.1.1 Plasma sanguíneo

El plasma sanguíneo es en sí una mezcla de muchos tipos de átomos y moléculas suspendidos en agua; aproximadamente el 90% del plasma es agua. Las partículas (átomos y moléculas) presentes son tantas que es mejor dividirlos por tipo. A continuación se hace un breve recuento de todas las componentes principales del plasma:<sup>1</sup>

Los átomos y iones incluyen protones, oxígeno, iones de sodio, fósforo, iones de cloro, potasio, iones de calcio, y hierro.

El dióxido de carbono, el bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y el ácido úrico son los tres compuestos simples principales que pueden ser encontrados en el plasma.

Compuestos más complejos incluyen glucosa, triglicéridos, y muchos tipos de enzimas y proteínas no-enzimáticas. Las enzimas principales que existen en la sangre son fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, creatina quinasa y lactato deshidrogenasa. Las proteínas no-enzimáticas son albúmina; componentes 3 y 4; creatina; creatinina; digoxina; ferritina; fibrinógeno; hemoglobina; inmunoglobulinas A, D, E, G y M;  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2,  $\beta$  y  $\gamma$  globulinas; fenitoína; y lipoproteínas de baja densidad y de alta densidad.

Cada una de estas componentes tiene un rango de concentraciones específico que se considera sano. Muchos factores, incluyendo el tiempo transcurrido desde la última comida de una persona y el contenido de dicha comida, afectan la composición exacta del plasma, y a su vez las propiedades del plasma (incluyendo su índice de refracción) cambian en un periodo menor a un día. Sin embargo, dado que los sistemas reguladores del cuerpo usualmente mantienen estas componentes dentro de sus rangos normales, estos cambios no son demasiado pronunciados y el índice de refracción del plasma puede asumirse constante en el tiempo con buena precisión.

#### 4.1.2 Células sanguíneas

Los eritrocitos son células anucleadas cuya forma es más o menos la de un disco bicóncavo. Transportan hemoglobina a través del torrente sanguíneo; esta molécula se une a una molécula de oxígeno, de modo que los eritrocitos son responsables de la oxigenación de todo el cuerpo. Los eritrocitos tienen una concentración máxima de hemoglobina de aproximadamente 340 g/L y, en adultos sanos, mantienen una concentración cercana a este máximo durante toda su vida.<sup>3</sup>

Los leucocitos son células esféricas y ligeramente más grandes. Existen en la sangre en una concentración de aproximadamente el 1%. Existen cinco tipos de leucocitos, aunque algunos tipos pueden ser divididos en subtipos. Los cinco tipos son neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos; sus concentraciones relativas son 62%, 2.3%, 0.4%, 5.3% y 30%, respectivamente. Todos los leucocitos participan en el sistema inmune del cuerpo, aunque cada tipo de leucocito tiene una función particular. Los leucocitos son las únicas células sanguíneas nucleadas. Los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos no tienen núcleos esféricos, sino divididos en varios (usualmente 2-5) "lóbulos" interconectados; los monocitos tienen núcleos con forma de riñón; y los núcleos de los linfocitos son esféricos y casi tan grandes como los mismos linfocitos.<sup>3</sup>

Los trombocitos humanos son células esferoidales anucleadas de 1.5-3  $\mu\text{m}$  de diámetro y 1-2  $\mu\text{m}$  de grosor.<sup>2</sup> Generalmente hay alrededor de 300,000 plaquetas por microlitro en humanos adultos sanos.<sup>3</sup> Son de gran importancia en la coagulación de la sangre, la cual a su vez ayuda en la reparación de tejido dañado o roto.

No todas las células son idénticas, y la forma y el tamaño exactos de las células

de un tipo dado pueden variar de forma medible. Esto también es cierto del número de células por unidad de volumen de sangre; los trombocitos, por ejemplo, pueden existir en concentraciones tan bajas como 150,000 por microlitro o tan altas como 400,000 por microlitro en humanos adultos. Como en el caso del plasma sanguíneo, sin embargo, el comportamiento general de los resultados presentados en este capítulo es válido con buena precisión a pesar de estas fluctuaciones.

## 4.2 Consideraciones y aproximaciones iniciales

El índice de refracción efectivo de la sangre entera, como el índice de refracción de cualquier sustancia, es un número; es de poca utilidad por sí solo. Es considerablemente más útil un “espectro del índice de refracción”, una gráfica del índice de refracción como función de la longitud de onda. Hemos obtenido varias gráficas de este estilo para este trabajo; serán presentadas en este capítulo junto con una discusión de los fenómenos físicos que cada gráfica revela sobre la sangre, al menos a nivel teórico. Primero presentaremos gráficas para una mezcla formada por eritrocitos y plasma sanguíneo, pues éstas son por mucho las dos componentes con las mayores contribuciones al índice de refracción efectivo de la sangre. Posteriormente, estudiaremos el efecto de los leucocitos. Finalmente, añadiremos trombocitos a la mezcla para modelar adecuadamente la sangre entera.

Muchas aproximaciones han sido hechas para hacer este estudio realizable; cálculos más exactos están más allá del alcance de este trabajo. Por ejemplo, hemos considerado que los índices de refracción del plasma, el material nuclear y el citoplasma son cantidades puramente reales y que los núcleos de todos los tipos de leucocito son esféricos. Estas aproximaciones serán mencionadas conforme se vuelvan relevantes. Sin embargo, los errores causados por ellas son suficientemente pequeños para que los resultados obtenidos aquí sean válidos cualitativamente y para que los órdenes de magnitud de las cantidades reportadas sean los correctos. Se verá que un tratamiento más exacto de la sangre no es necesario para obtener la información importante que se detalla a continuación.

## 4.3 Plasma sanguíneo

El plasma sanguíneo no es, estrictamente hablando, un medio homogéneo. Como se describió en la sección 4.1.1, es una mezcla formada por muchos tipos de moléculas y átomos suspendidos en agua. Ópticamente, sin embargo, puede ser considerado homogéneo debido al tamaño tan pequeño de las moléculas; aún el tamaño de las moléculas más grandes no sobrepasa algunos nanómetros, mientras que la longitud de onda de la luz visible se encuentra entre 400 nm y 800 nm. El índice de refracción del plasma es una función de las concentraciones relativas de estos

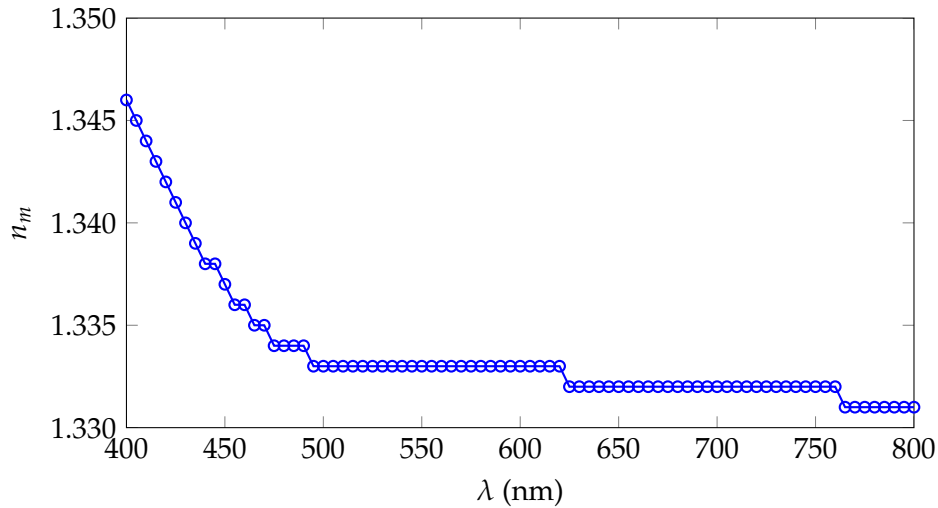


Figura 4.1. El índice de refracción del plasma sanguíneo. Los “escalones” no reflejan una propiedad real de la forma de la curva, sino que son producto de la resolución relativamente baja de los datos graficados. El índice de refracción del plasma se asume real; aunque en realidad debe ser complejo, la parte imaginaria es evidentemente muy pequeña, pues el plasma no esparce ni absorbe la luz fuertemente.

átomos y moléculas. Esto será discutido en mayor medida en el siguiente capítulo; por ahora, trataremos el plasma como un medio homogéneo en el cual están suspendidos tres tipos muy distintos de célula.

La figura 4.1 muestra el índice de refracción del plasma; se obtuvo utilizando la ecuación 2.3.2 con el índice de refracción del agua<sup>4</sup> y los incrementos específicos de refracción de las moléculas y los átomos suspendidos en el plasma<sup>5,6</sup> (se asumió 4.6 g/dL de albúmina, 2.6 g/dL de globulinas y 0.38 g/dL de fibrinógeno; se desconoce cuáles eran las concentraciones de las otras componentes del plasma). A lo largo de este trabajo, se considerará que éste es el índice de refracción del plasma sanguíneo. Cualquier cambio en la concentración de un tipo de átomo o molécula presente en el plasma producirá un cambio en el índice de refracción; este cambio puede ser calculado utilizando la relación de Clausius-Mossotti (la ecuación 2.2.7) si uno conoce la polarizabilidad eléctrica del átomo o la molécula en cuestión o utilizando la ecuación 2.3.2 si uno conoce su incremento específico de refracción (ambos enfoques son apropiados porque  $f < 0.1$  para todas las componentes).

#### 4.4 Eritrocitos en plasma sanguíneo

Los eritrocitos tienen una forma única que hace que los cálculos exactos sean demasiado largos y sujetos a errores para valer la pena. La superficie de un eritrocito con su eje de simetría a lo largo del eje  $z$  está descrita con muy buena precisión por la ecuación<sup>7</sup>

$$(\rho^2 + z^2)^2 - 15.3\mu\text{m}^2 \rho^2 + 42\mu\text{m}^2 z^2 - 1.06\mu\text{m}^4 = 0, \quad (4.4.1)$$

donde  $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$ .

Aún tomando  $1 \mu\text{m}$  como el tamaño característico de un eritrocito (un tamaño característico más apropiado estaría entre 2 y  $3 \mu\text{m}$ ),  $k_m a > 10.45 \gg 1$  para todas las longitudes de onda. Adicionalmente,  $|n_{ery}/n_m - 1| < 0.073 \ll 1$  para todas las longitudes de onda. Por lo tanto, los eritrocitos pueden ser modelados apropiadamente por la difracción anómala.

Como se ha mencionado, los eritrocitos no tienen núcleo. Por lo tanto, modelamos un eritrocito como un saco homogéneo lleno de una solución de hemoglobina y agua en la que la concentración de hemoglobina es cercana a  $340 \text{ g/L}$ , y podemos calcular el índice de refracción de esta solución de hemoglobina mediante el mismo método que se utilizó para calcular el índice de refracción del plasma. La figura 4.2 muestra las partes real<sup>8</sup> e imaginaria<sup>9</sup> de este índice de refracción asumiendo una concentración de hemoglobina de  $355.5 \text{ g/L}$ . En lo sucesivo, asumiremos que éste es el índice de refracción de un eritrocito sano.

La ecuación 4.4.1 es una ecuación polinomial de segundo orden en  $z^2$  con soluciones relativamente simples  $z_1(x, y)$ ,  $z_2(x, y)$ ; ambas soluciones son reales si y sólo si  $x$  y  $y$  son suficientemente pequeños para que el punto  $(x, y, 0)$  se encuentre dentro del eritrocito. La distancia viajada por un haz de luz que se encuentra en la posición  $(x, y)$  dentro de un eritrocito es simplemente

$$h(x, y) = \text{Re}(z_2) - \text{Re}(z_1), \quad (4.4.2)$$

donde se asume que  $\text{Re}(z_2) \geq \text{Re}(z_1)$  en todos los puntos. Sin embargo, como se discutió en la sección 3.3, para calcular  $S(0)$  para partículas no-esféricas debemos tomar  $\langle S(0) \rangle$ , el promedio de  $S(0)$  sobre todas las posibles orientaciones de una partícula. Como los eritrocitos tienen simetría cilíndrica, una rotación alrededor del eje  $z$  no tiene ningún efecto sobre  $S(0)$  a pesar de que sí cambia el campo esparcido; para fines de calcular  $S(0)$ , cualquier orientación que el eritrocito pueda tener es, por lo tanto, equivalente a la orientación dada por una única rotación alrededor de cualquier eje contenido en el plano  $xy$ . La ecuación 3.3.40 se convierte, entonces, en

$$\langle S(0) \rangle = \frac{k_m^2}{4\pi^2} \int_0^{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \left[ 1 - e^{i(n_p - n_m)h(x, y, \gamma)} \right] dx dy d\gamma, \quad (4.4.3)$$

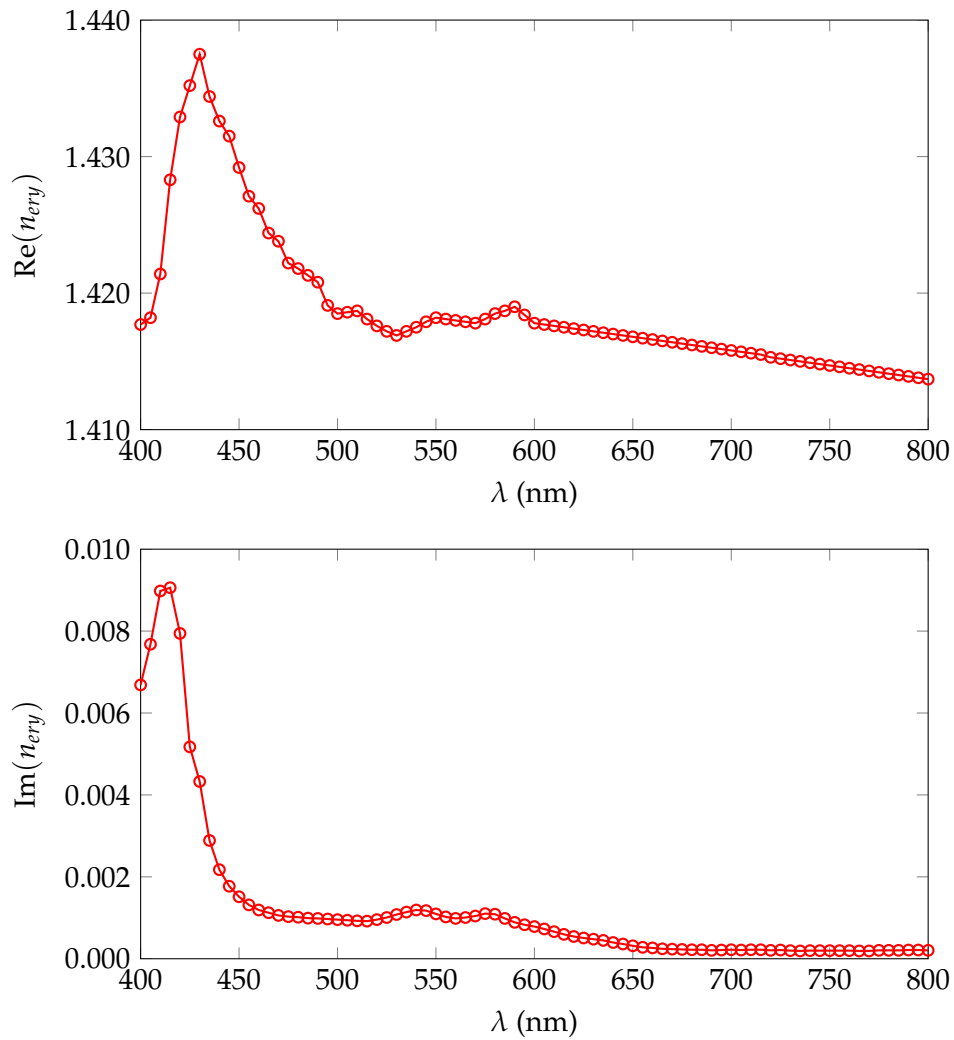


Figura 4.2. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción de un eritrocito.

donde  $\gamma$  es el ángulo de rotación. Cuando el eritrocito rota al rededor del eje  $y$  (elegimos este eje por simplicidad), la ecuación 4.4.1 se convierte en la ecuación polinomial de cuarto orden

$$z^4 + A_2 z^2 + A_1 z + A_0 = 0 \quad (4.4.4)$$

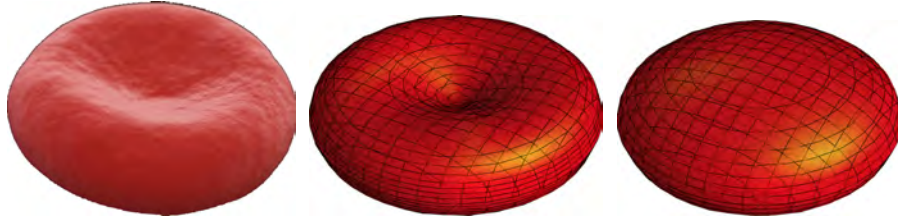


Figura 4.3. Comparación entre la forma real de un eritrocito (izquierda), la forma definida por la ecuación 4.4.1 (centro) y la aproximación de esferoide (derecha).

con

$$\begin{aligned} A_2 &= 2(x^2 + y^2) + 42\mu\text{m}^2 \cos^2(\gamma) - 15.3\mu\text{m}^2 \sin^2(\gamma), \\ A_1 &= 114.6\mu\text{m}^2 y \cos(\gamma) \sin(\gamma), \\ A_0 &= (x^2 + y^2)^2 + 57.3\mu\text{m}^2 y^2 \sin^2(\gamma) - 15.3\mu\text{m}^2 (x^2 + y^2) - 1.06\mu\text{m}^4. \end{aligned}$$

Esta ecuación tiene, por supuesto, cuatro soluciones  $z_j(x, y, \gamma)$ . Dependiendo de los valores exactos de  $x$ ,  $y$  y  $\gamma$ , cero, dos o cuatro de estas soluciones pueden ser reales. Si ordenamos las soluciones de modo que  $\text{Re}(z_4) \geq \text{Re}(z_3) \geq \text{Re}(z_2) \geq \text{Re}(z_1)$ , entonces

$$h(x, y, \gamma) = \text{Re}(z_4) - \text{Re}(z_3) + \text{Re}(z_2) - \text{Re}(z_1). \quad (4.4.5)$$

El problema de calcular esto es que cada  $z_j$  es una función extremadamente complicada de  $x$ ,  $y$  y  $\gamma$  y que para cada combinación particular de estas tres variables el orden correcto de las soluciones es diferente (en otras palabras, cualquier par de soluciones  $z_a, z_b$  puede satisfacer  $z_a > z_b$  para una combinación de  $x$ ,  $y$  y  $\gamma$  y  $z_a < z_b$  para otra combinación).

Es apropiado modelar un eritrocito como un esferoide oblato<sup>10</sup> con semiejes mayores  $a = 3.825 \mu\text{m}$  y semieje menor  $c = 1.598 \mu\text{m}$ ; el error obtenido al usar esta aproximación para calcular la excentricidad de un eritrocito a partir de la intensidad de la luz que la sangre transmite (la cual está estrechamente relacionada con el índice de refracción de la sangre) es menor al 2%, por lo que podemos suponer que en el cálculo inverso (del índice de refracción de la sangre a partir de la forma de los eritrocitos) se tiene un error igual de pequeño. La ecuación de un esferoide es una ecuación polinomial de segundo orden independientemente del ángulo de rotación  $\gamma$  (una única rotación es suficiente porque el esferoide tiene la misma simetría que la verdadera forma del eritrocito), y las dos soluciones tienen una forma mucho más simple que las de la ecuación 4.4.4. Sin embargo, la integral de la ecuación 4.4.3



debe ser resuelta numéricamente. La figura 4.3 compara un eritrocito real con la forma definida por la ecuación 4.4.1 y un esferoide con los semiejes citados arriba.

Al resolver la integral y promediar sobre  $\gamma$ , hemos calculado el índice de refracción efectivo de una mezcla de eritrocitos y plasma sanguíneo. Por las simetrías de un esferoide, una rotación de  $\gamma$  resulta en el mismo valor de  $S(0)$  que una rotación de  $\gamma + \pi/2$ , una rotación de  $\gamma + \pi$  y una rotación de  $\gamma + 3\pi/2$ . Por lo tanto, podemos restringir  $\gamma$  a valores entre 0 y  $\pi/2$ , reduciendo el número de pasos en la integración numérica en un factor de 4. Las variables  $x$ ,  $y$  y  $\gamma$  fueron particionadas en intervalos de tamaños tales que la integración se realizó en 101 pasos por variable, resultando en un número total de 1,030,301 pasos para cada longitud de onda;  $\lambda$  se tomó en intervalos de 5 nm entre 400 nm y 800 nm, de modo que la  $S(0)$  promedio de un eritrocito esferoidal (y por lo tanto el índice de refracción de la mezcla) fue calculada para 81 longitudes de onda. Nuestro método de integración numérica fue probado utilizándolo para calcular el volumen de un esferoide, lo cual hizo con un error de solamente 0.031%. Para el cálculo de  $S(0)$ , una fracción de llenado de  $f_{ery} = 0.45$  se asumió para los eritrocitos; ésta es la fracción de llenado en hombres adultos sanos, mientras que la fracción de llenado en mujeres adultas sanas es  $f_{ery} = 0.40$ . Los resultados se muestran en la figura 4.4.

Quizá el fenómeno más obvio es que el índice de refracción está lejos de ser un simple promedio pesado de los índices de refracción del medio y las partículas. Las curvas grises muestran dicho promedio pesado y no se parecen a las curvas verdaderas de  $n_{eff}$ . Esto se debe en parte a que el índice de refracción efectivo toma en cuenta efectos de dispersión por las partículas y el promedio pesado no lo hace. Ésta es también la razón de que la parte imaginaria del índice de refracción efectivo es mayor que la parte imaginaria del índice de refracción de los eritrocitos.

También es evidente que, mientras que el plasma y los eritrocitos muestran dispersión normal (el índice de refracción decrece conforme la longitud de onda crece) en casi todas partes (y ciertamente en todas partes entre 450 y 800 nm), la mezcla muestra dispersión anómala (el índice de refracción aumenta con la longitud de onda) desde alrededor de 500 nm.

La figura 4.5 es un acercamiento de la parte real de  $n_{eff}$ . Muestra con mayor detalle algunos de los fenómenos más interesantes de  $n_{eff}$ .

Entre aproximadamente 425 nm y aproximadamente 450 nm, el efecto de los eritrocitos es *reducir* el índice de refracción en vez de aumentarlo; esto se aprecia mejor en la figura 4.6. Curiosamente, esta región coincide con el máximo de  $\text{Re}(n_{ery})$  pero no con el de  $\text{Im}(n_{ery})$ .

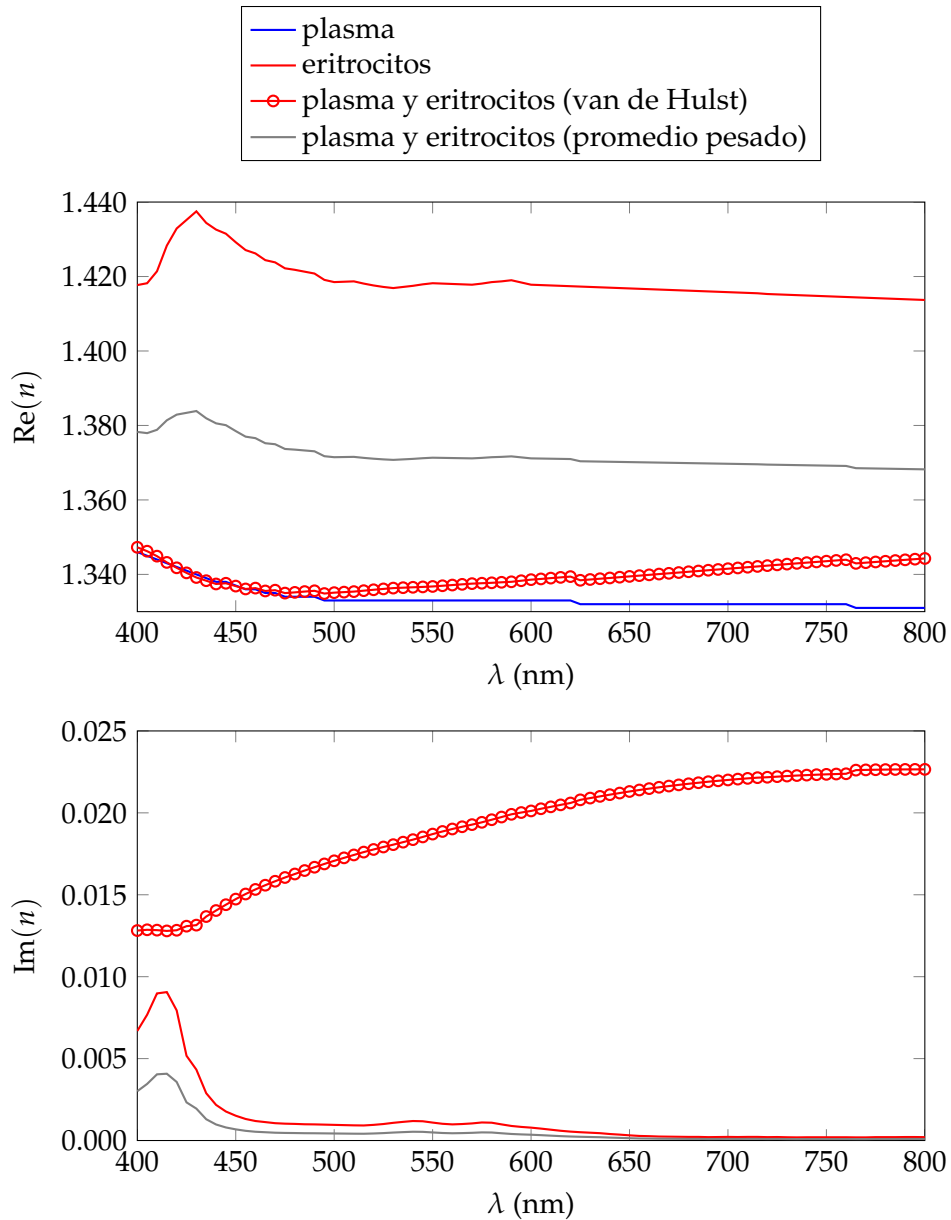


Figura 4.4. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma sanguíneo y eritrocitos con  $f_{ery} = 0.45$  (curvas rojas con marcadores circulares). La curva azul en la gráfica superior muestra el índice de refracción del plasma, mientras que las curvas rojas sin marcadores muestran el de los eritrocitos. Las curvas grises muestran el índice de refracción efectivo calculado como un simple promedio pesado de  $n_m$  y  $n_{ery}$ ; éstas ilustran el hecho de que el índice de refracción efectivo de una mezcla no es simplemente un promedio pesado de los índices de refracción de sus componentes.

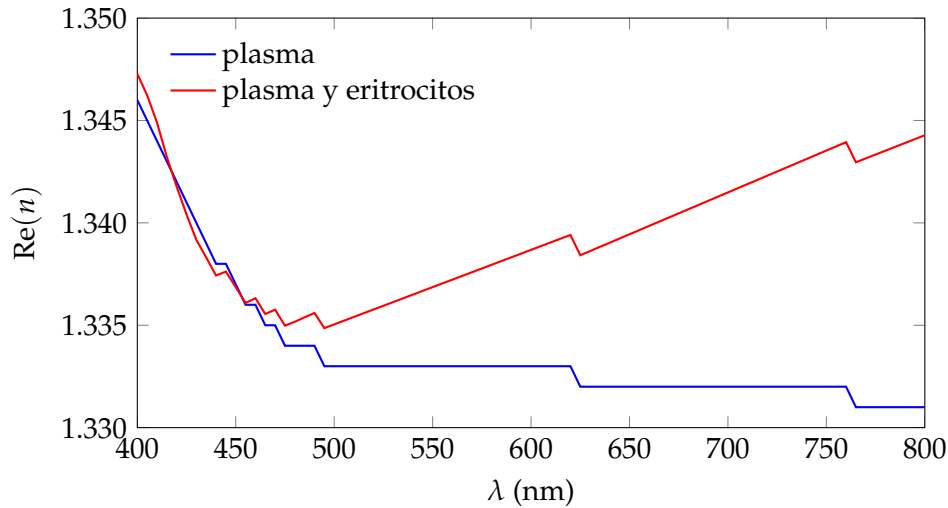


Figura 4.5. El índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y eritrocitos muestra que la mezcla tiene dispersión anómala desde aproximadamente 500 nm hasta al menos 800 nm. Como el plasma y los eritrocitos son los mayores contribuyentes a  $n_{eff}$ , la sangre entera también debería mostrar dispersión anómala en el mismo intervalo de longitudes de onda.

Los “escalones” pequeños pero notorios que ocurren en varias partes de las curvas de  $n_m$  y  $\text{Re}(n_{eff})$  son un resultado de la baja resolución (3 decimales) de los datos de  $n_m$  y no refleja ningún fenómeno físico; una examinación cuidadosa de las posiciones de estos “escalones” muestra que ocurren en precisamente las mismas longitudes de onda en la curva de  $n_m$  y en la de  $\text{Re}(n_{eff})$ , y no existen en la curva de  $\text{Im}(n_{eff})$ , la cual no depende tan fuertemente de  $n_m$ , ni en la curva de  $\Delta n_{eff}$ , donde están restados de sí mismos por la definición de  $\Delta n_{eff}$ . Un cálculo que utilice una precisión mayor en los datos del índice de refracción del plasma no debería tener “escalones”.

La dependencia lineal de  $n_{eff}$  en  $f$  en la ecuación 3.0.13 significa que cambiar  $f$  simplemente resultará en que la curva de  $\text{Re}(n_{eff})$  se acerque o aleje de la curva de  $n_m$  y en que las curvas de  $\text{Im}(n_{eff})$  y  $\Delta n_{eff}$  se acerquen o alejen del cero. Para mujeres adultas sanas, todas las gráficas son idénticas a las mostradas aquí excepto por el hecho de que la curva de  $\text{Re}(n_{eff})$  está ligeramente más cerca de la de  $n_m$  y las otras curvas están ligeramente más cerca del cero; una gráfica de  $\Delta n_{eff} / f$  sería idéntica para ambos géneros.

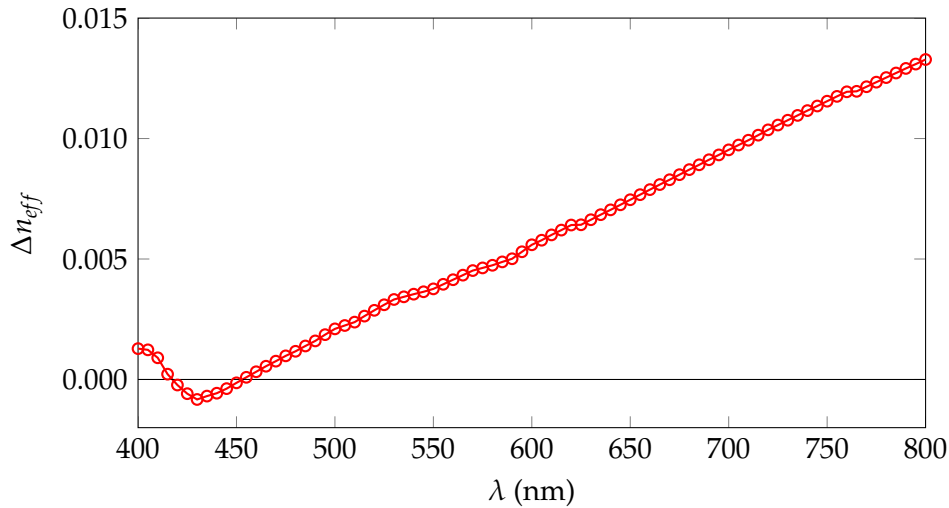


Figura 4.6. La contribución de los eritrocitos a la parte real del índice de refracción es  $\Delta n_{eff} = \text{Re}(n_{eff}) - n_m$ . Existe una ventana entre 400 nm y 500 nm donde  $\Delta n_{eff} < 0$ ; esto no es intuitivo, pues  $n_{ery} > n_m$  para todas las longitudes de onda, pero veremos que es bastante común para partículas tan grandes como las células sanguíneas.

## 4.5 El efecto de los leucocitos

Trabajar con partículas esféricas nos permitiría omitir el promedio sobre orientaciones en la integración y también simplificaría considerablemente la forma de  $h$ . Desafortunadamente, no todos los núcleos de los leucocitos son esféricos y los leucocitos también tienen citoplasma, de modo que los leucocitos son partículas inhomogéneas aún si asumimos que el núcleo y el citoplasma son homogéneos. Sin embargo, las siguientes tres consideraciones nos permiten modelar los leucocitos como esferas homogéneas: el núcleo tiene un índice de refracción mucho mayor que el del citoplasma, que es bastante cercano al del plasma sanguíneo; los leucocitos se caracterizan por tener núcleos muy grandes (y por lo tanto menos citoplasma) que otras células; y los leucocitos ocurren en la sangre en concentraciones suficientemente bajas para que sea despreciable cualquier error causado por no tomar en cuenta el citoplasma ni la forma exacta del núcleo. Por lo tanto, modelamos cada tipo de leucocito como una esfera homogénea de un tamaño particular. Los neutrófilos<sup>11</sup> tienen una razón volumétrica núcleo : citoplasma igual a 1 : 3 (dicho de otro modo, el 75% del volumen de un neutrófilo está ocupado por su núcleo) y un radio promedio de  $6.5 \mu\text{m}$ , por lo que fueron modelados como esferas homogéneas de radio  $a_{neu} \approx 6.133 \mu\text{m}$  y una fracción de llenado  $f_{neu} = 6.2 \times 10^{-3}$ ,

de acuerdo con la concentración relativa de los neutrófilos citada en la sección 4.1.2; el mismo análisis fue usado para obtener los radios y las fracciones de llenado de los eosinófilos<sup>12</sup>, los basófilos<sup>13</sup>, los monocitos<sup>14</sup> y los linfocitos<sup>14</sup>. La siguiente tabla muestra los radios y las fracciones de llenado:

Leucocito	$a$ ( $\mu\text{m}$ )	$f$
Neutrófilo	6.133	$6.2 \times 10^{-3}$
Eosinófilo	3.780	$2.3 \times 10^{-4}$
Basófilo	4.961	$4.0 \times 10^{-5}$
Monocito	8.550	$5.3 \times 10^{-4}$
Linfocito	3.500	$3.0 \times 10^{-3}$

Al igual que con los eritrocitos, debemos asegurarnos de que los leucocitos estén dentro de los límites de la difracción anómala. Utilizando los radios de la tabla anterior,  $k_m a > 36.58 \gg 1$  y  $|n_{leu}/n_m - 1| < 0.071 \ll 1$  para todas las longitudes de onda y para todos los tipos de leucocito, lo cual significa que, efectivamente, se encuentran dentro de los límites de validez de la aproximación.

El índice de refracción del núcleo celular no ha sido encontrado en forma adecuada a muchas longitudes de onda, especialmente *in vivo*; la mayoría de los estudios utiliza una o dos longitudes de onda, y muchos estudios son sobre el índice de refracción de células deshidratadas, el cual es bastante mayor que el de células vivas en condiciones normales. Por lo tanto, el índice de refracción del núcleo<sup>15</sup> a 600 nm se utilizó para calcular el índice de refracción a todas las demás longitudes de onda como sigue: Podemos considerar que el núcleo está compuesto de material nuclear (ADN, ARN, proteínas y demás) suspendido en agua (o en citoplasma, que es en sí una mezcla de otros tipos de partículas y agua). Recordando la ecuación 2.3.2, notando que todas las  $C_\ell$  son independientes de la longitud de onda y asumiendo que todos los  $\delta_\ell$  también lo son (lo cual no es cierto, pues dependen de  $n_m$ , pero el error es pequeño), es evidente que

$$\sum \delta_\ell C_\ell = n_{nuc} - n_{\text{H}_2\text{O}}. \quad (4.5.1)$$

Conocemos  $n_{nuc}(\lambda = 600 \text{ nm})$  y  $n_{\text{H}_2\text{O}}(\lambda = 600 \text{ nm})$ , por lo que conocemos  $\sum \delta_\ell C_\ell$ . El índice de refracción del núcleo a cualquier otra longitud de onda es entonces

$$\begin{aligned} n_{nuc}(\lambda) &= n_{\text{H}_2\text{O}}(\lambda) + \sum \delta_\ell C_\ell \\ &= n_{\text{H}_2\text{O}}(\lambda) + n_{nuc}(600 \text{ nm}) - n_{\text{H}_2\text{O}}(600 \text{ nm}). \end{aligned} \quad (4.5.2)$$

Tomamos  $n_{leu} = n_{nuc}$ . La figura 4.7 muestra la parte real del índice de refracción del núcleo calculada de esta manera. Como se mencionó anteriormente, se asumió que

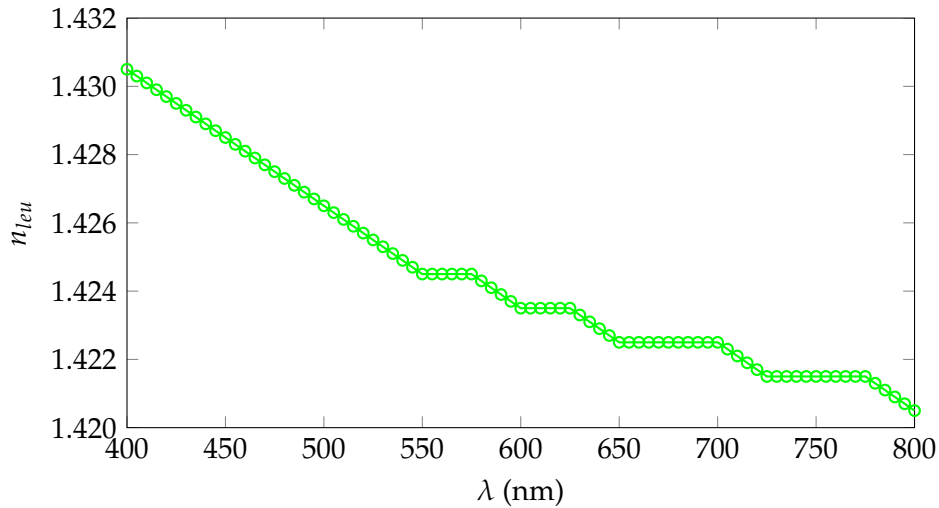


Figura 4.7. El índice de refracción de los leucocitos. Nuevamente, los “escalones” son un resultado de la baja resolución de los datos de  $n_{H_2O}$ , no parte de la forma de la curva de  $n_{leu}$ .

la parte imaginaria es igual a cero; de cualquier forma, cualquiera que sea su valor, su contribución al índice de refracción efectivo es despreciable porque  $\text{Im}(n_{leu})$  debe ser del orden de  $10^{-2}$  cuando mucho (como  $\text{Im}(n_{ery})$ ) y los leucocitos tienen una fracción de llenado muy pequeña.

La figura 4.8 muestra el índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y leucocitos donde la fracción de llenado de los leucocitos es  $f_{leu} = 0.01$ . Es claro que los leucocitos apenas tienen un efecto en la parte real del índice de refracción; la curva de  $n_m$  y la de  $\text{Re}(n_{eff})$  son indistinguibles. Este efecto es del orden de  $10^{-5}$ , como se muestra en la figura 4.9. Es interesante notar que los leucocitos también tienen una región en la que reducen el índice de refracción en lugar de aumentarlo, aunque ésta se encuentra entre 500 y 700 nm en vez de entre 425 y 450 nm.

El efecto de los leucocitos en la parte imaginaria del índice de refracción es cualitativamente distinto del efecto de los eritrocitos en la misma, especialmente entre 400 y 525 nm. También es cuantitativamente distinta: los leucocitos afectan la parte imaginaria 10 veces más que la parte real, mientras que el efecto de los eritrocitos sobre ambas partes es del mismo orden de magnitud.

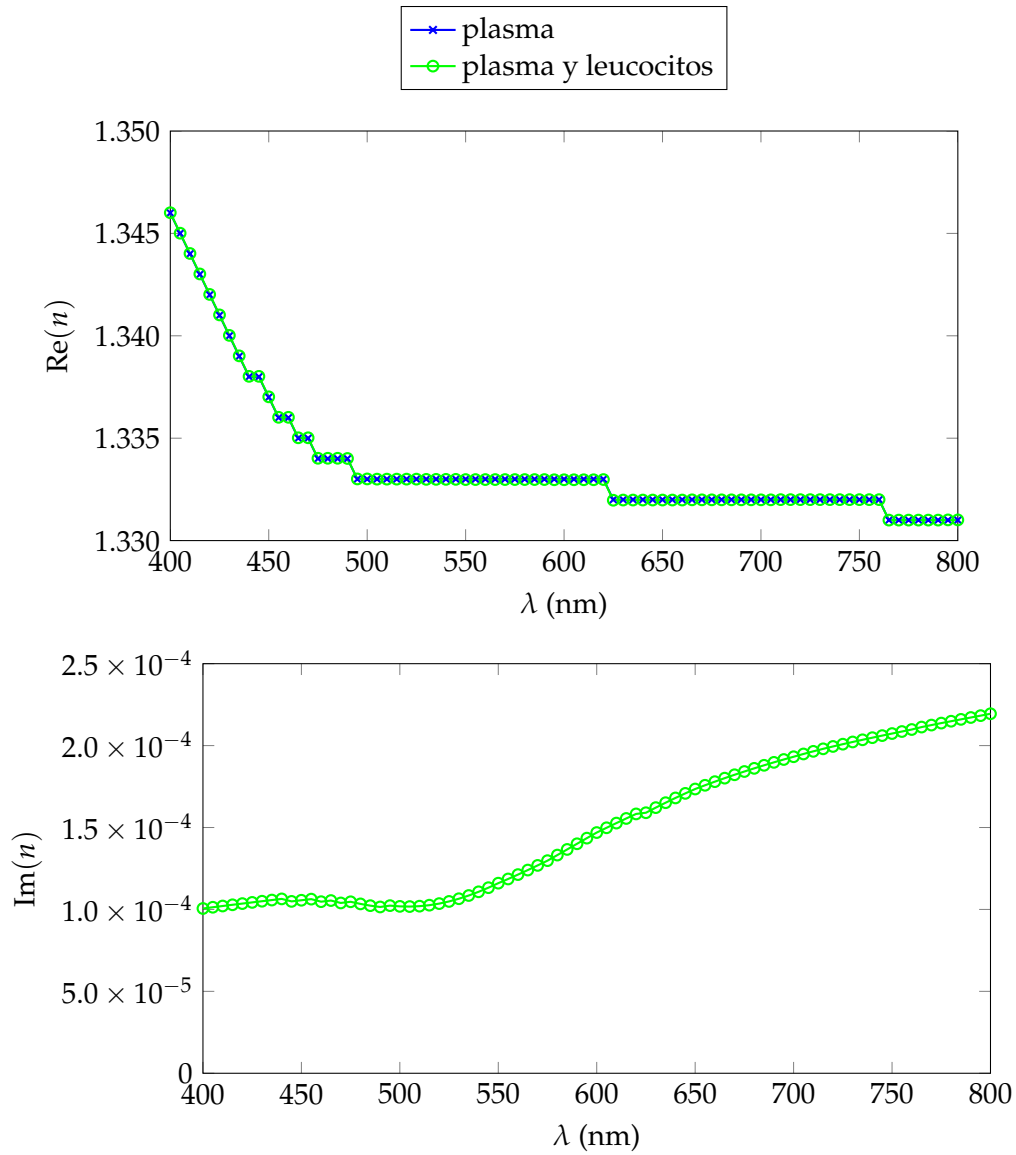


Figura 4.8. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y leucocitos. Nótese que  $\text{Re}(n_{eff})$  es indistinguible de  $n_m$  a todas las longitudes de onda; esto se debe a que la fracción de llenado de los leucocitos es muy pequeña. Nótese también que  $\text{Im}(n_{eff})$  es cualitativamente diferente de la parte imaginaria del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y eritrocitos; esto *no* es una consecuencia de que  $f_{leu}$  sea pequeña, sino de la forma y el índice de refracción de los leucocitos.

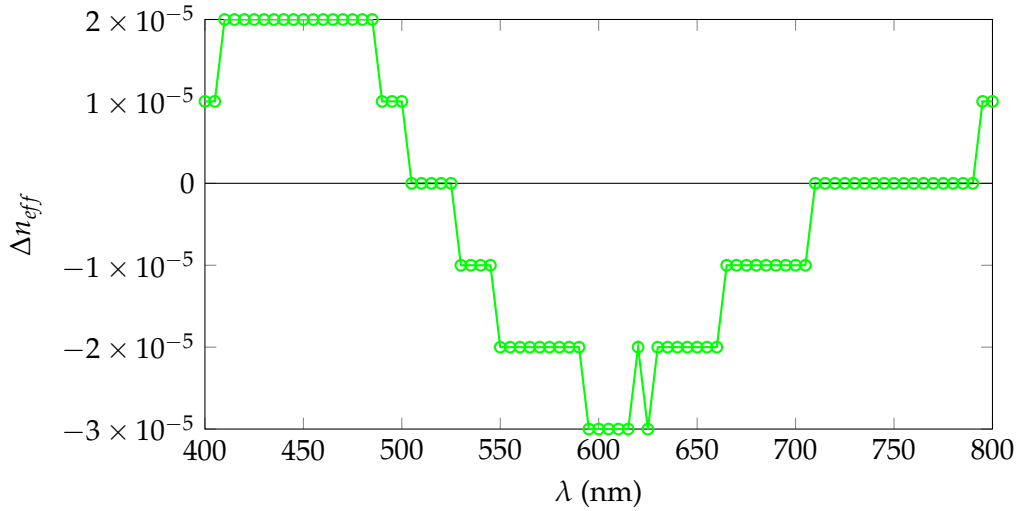


Figura 4.9. El efecto de los leucocitos en  $n_{eff}$ . Nótese que la curva de  $\Delta n_{eff}$  es cualitativamente distinta de la curva correspondiente para una mezcla de plasma y eritrocitos; no solamente la forma cambia, sino que la ventana en la que  $\Delta n_{eff} < 0$  es más ancha y está recorrida hacia longitudes de onda mayores.

El efecto de los leucocitos sobre la parte real del índice de refracción es alrededor de mil veces menor que el de los eritrocitos. Considerando que los eritrocitos tienen una fracción de llenado solamente 40–45 veces mayor que la de los leucocitos (no mil veces mayor), esto resulta muy interesante: los leucocitos tienen un menor efecto “por unidad de concentración”, o, en otras palabras,

$$\log_{10} \left( \frac{\Delta n_{eff}^{(leu)}}{f_{leu}} \right) < \log_{10} \left( \frac{\Delta n_{eff}^{(ery)}}{f_{ery}} \right).$$

Esto también es cierto para la parte imaginaria del índice de refracción, aunque la diferencia entre el efecto de los eritrocitos y el de los leucocitos sobre esta parte es menor: el efecto de los leucocitos es unas cien veces menor que el de los eritrocitos, lo cual significa que el efecto por unidad de concentración de los leucocitos es alrededor de la mitad del de los eritrocitos.

La figura 4.10 muestra el índice de refracción efectivo de una mezcla de eritrocitos y leucocitos en plasma sanguíneo. Como es de esperarse por la discusión anterior, las curvas de  $\text{Re}(n_{eff})$  son mutuamente indistinguibles. La diferencia solamente se ve en las curvas de  $\text{Im}(n_{eff})$ , especialmente a partir de 600 nm. La mayor diferencia ocurre a 800 nm, donde es aproximadamente  $2 \times 10^{-4}$ .



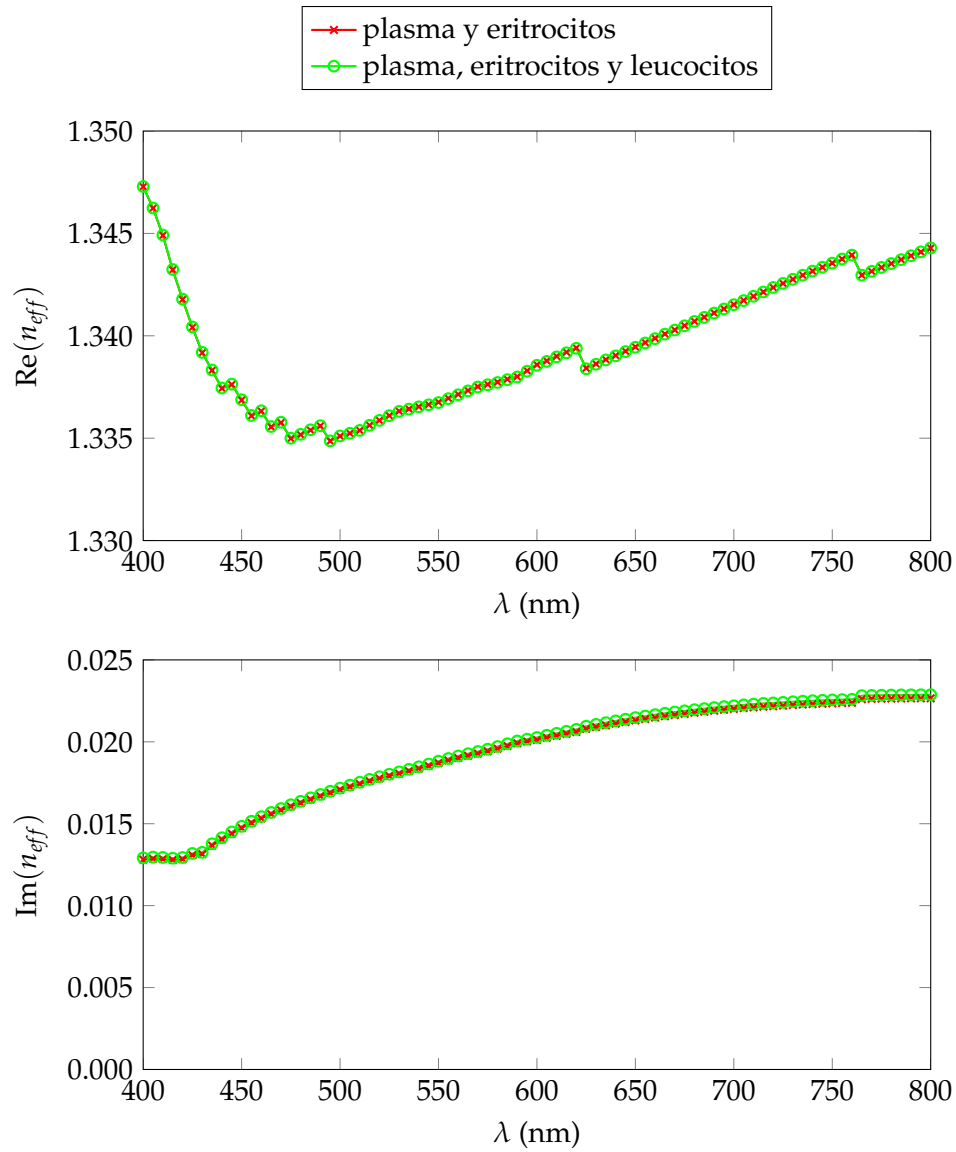


Figura 4.10. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma, eritrocitos y leucocitos. Las curvas se comparan con las correspondientes a una mezcla de plasma y eritrocitos solamente. El efecto de los leucocitos en  $\text{Re}(n_{\text{eff}})$  es prácticamente nulo, mientras que su efecto en  $\text{Im}(n_{\text{eff}})$  es pequeño pero fácilmente visible en la gráfica inferior.

## 4.6 El efecto de los trombocitos: sangre entera

Los trombocitos son mucho más pequeños y escasos que las otras células sanguíneas. Su fracción de llenado fue calculada utilizando el volumen promedio de un trombocito y el número de trombocitos por microlitro citado en la sección 4.1.2; se obtuvo un valor de  $f_{thr} \approx 2.85 \times 10^{-3}$ . Esto es un orden de magnitud menor que la fracción de llenado de los leucocitos, por lo que podemos esperar que los trombocitos tengan un efecto aún menor. Además, los trombocitos son más tenues que los leucocitos y los eritrocitos. Por estas razones, no vale la pena calcular su índice de refracción a diferentes longitudes de onda como se hizo para los leucocitos; supondremos que el índice de refracción de los trombocitos es constante; de cualquier forma, las gráficas para leucocitos y las gráficas para eritrocitos muestran que la forma de la curva de  $n_{eff}$  no depende tanto de la forma de la curva de  $n_p$  como de la forma y el tamaño de las partículas.

Tomando el tamaño característico de un trombocito como  $1.8 \mu\text{m}$ , tenemos  $k_m a > 18.81 \gg 1$  y  $|n_{thr}/n_m - 1| < 0.022 \ll 1$  para todas las longitudes de onda; esto significa que, como los eritrocitos y los leucocitos, los trombocitos son de un tamaño apropiado para ser tratados con la aproximación de la difracción anómala.

Modelamos los trombocitos como esferoides oblatos<sup>16</sup> con semiejes  $a = 1.8 \mu\text{m}$  y  $c = 0.7 \mu\text{m}$  e índice de refracción<sup>17</sup>  $n_{thr} = 1.36$ . La expresión a ser integrada era, por lo tanto, igual a la de los eritrocitos pero con parámetros diferentes. La figura 4.11 muestra el índice de refracción efectivo de una mezcla de trombocitos en plasma.

La parte real del índice de refracción prácticamente no es afectada por la presencia de trombocitos; estas células tienen una contribución a  $\text{Re}(n_{eff})$  del orden de  $10^{-5}$ , como se muestra en la figura 4.12. Esto es mil veces más pequeño que el efecto de los eritrocitos; la fracción de llenado de los trombocitos es alrededor de 150 veces menor que la de los eritrocitos, por lo que, como los leucocitos, los trombocitos tienen una menor contribución por unidad de concentración que los eritrocitos. Es obvio por la gráfica de  $\Delta n_{eff}$  que los trombocitos no disminuyen el índice de refracción, al menos para luz visible. Recordemos que los eritrocitos lo disminuyen entre alrededor de 425 nm y aproximadamente 450 nm y que los leucocitos lo hacen entre 500 nm y 700 nm. Al igual que los eritrocitos y los leucocitos, sin embargo, los trombocitos tienen un mayor efecto a mayores longitudes de onda.

El efecto de los trombocitos sobre la parte imaginaria de  $n_{eff}$  es 10 veces menor que su efecto sobre la parte real; esto es diez mil veces más pequeño que el efecto de los eritrocitos.

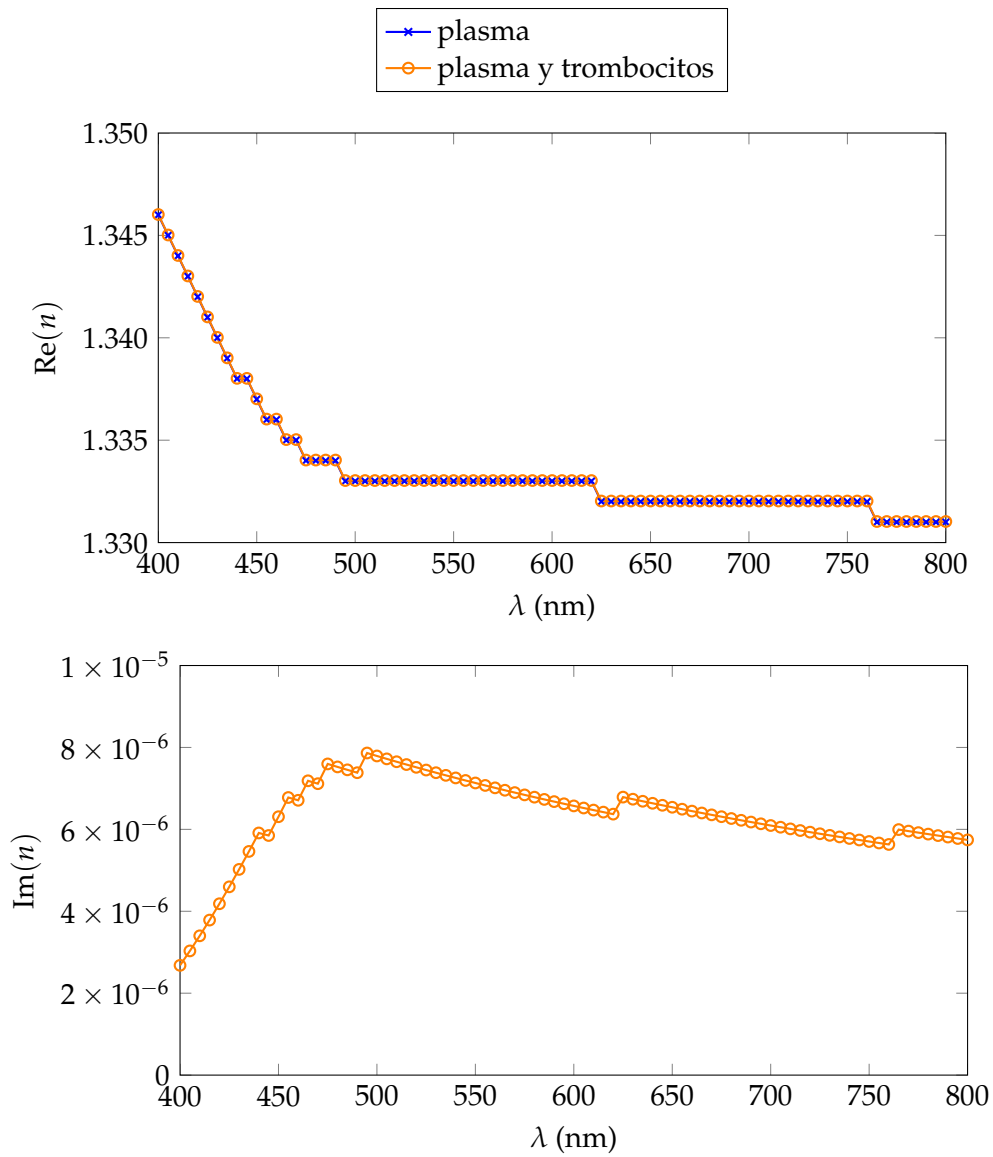


Figura 4.11. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y trombocitos. Por su fracción de llenado minúscula y su calidad de tenues, los trombocitos tienen efectos despreciables en ambas partes del índice de refracción.

Los trombocitos tienen un efecto sobre  $\text{Im}(n_{\text{eff}})$  que es, cualitativamente, bastante diferente del de los otros tipos de célula sanguínea. Los “escalones”, al igual que antes, son un efecto de la baja resolución de los datos de  $n_m$ ; como el índice

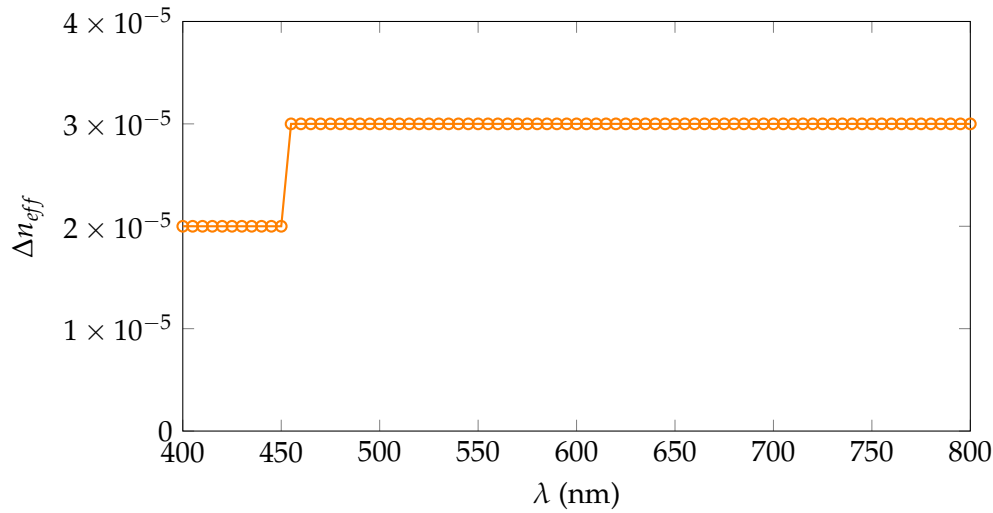


Figura 4.12. La contribución de los trombocitos a la parte real del índice de refracción es del orden de  $10^{-5}$ . Su contribución a la parte imaginaria es aún menor.

de refracción de los trombocitos se tomó como constante, los “escalones” no son atenuados por la forma de la curva de  $n_{thr}$  y, por consiguiente, son fácilmente visibles. Lo más interesante, sin embargo, es la forma de la curva en sí. El efecto de los trombocitos sobre la parte imaginaria del índice de refracción no es más significativo para longitudes de onda mayores, sino que alcanza un máximo cerca de 500 nm. La curva, de hecho, es muy similar a la de la parte real del índice de refracción efectivo de una mezcla de eritrocitos y plasma, pero reflejada con respecto al eje horizontal; consideramos que esto no es más que una coincidencia.

La figura 4.13 muestra la parte imaginaria del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y partículas esferoidales con índice de refracción  $n_{ery}$  para tres excentricidades de los esferoides: 0, 0.825 y 0.875 (la excentricidad de los eritrocitos es 0.825, la de los leucocitos es 0, y la de los trombocitos es 0.849, así que el intervalo  $[0, 0.875]$  cubre las excentricidades de todos los tipos de célula sanguínea); ninguna de las curvas muestra un comportamiento como el de la figura 4.11. Esto ciertamente se debe a la diferencia de tamaño entre los trombocitos y los eritrocitos; no puede deberse al hecho de que  $n_{thr}$  se tomó como constante, pues una curva de  $\text{Im}(n_{eff})$  para partículas más grandes con índice de refracción constante tampoco muestra este tipo de comportamiento (recordemos la gráfica comparando la difracción anómala con la teoría de Mie).

La figura 4.14 ilustra nuevamente el hecho de que los trombocitos son esencialmente invisibles en mediciones del índice de refracción de la sangre entera.

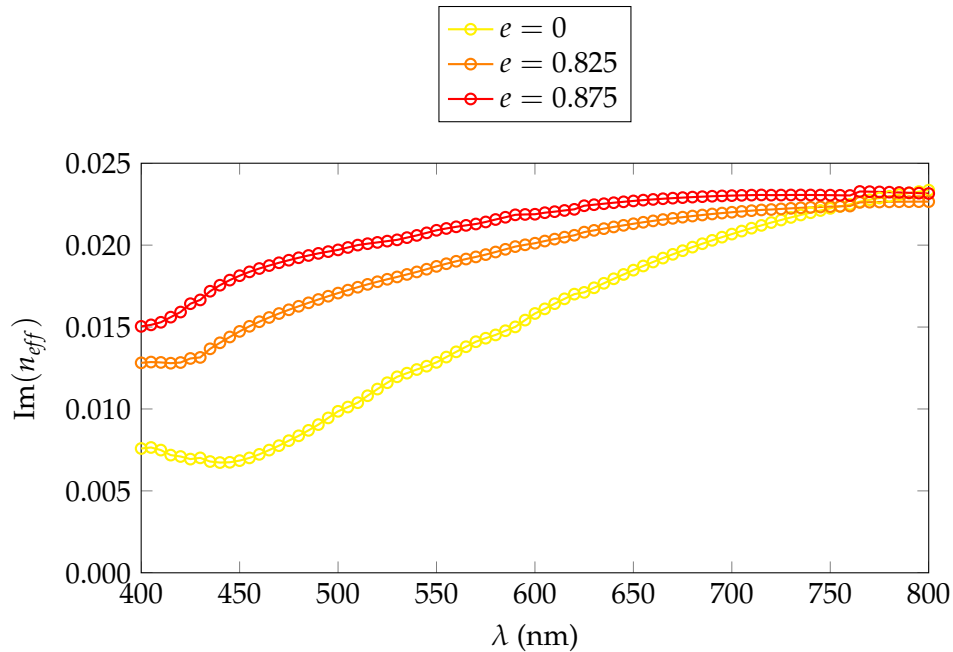


Figura 4.13. La parte imaginaria del índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y partículas esferoidales para tres excentricidades de los esferoides. Ninguna de estas curvas muestra el comportamiento cualitativo visto en la contribución de los trombocitos a  $\text{Im}(n_{\text{eff}})$ .

## 4.7 Observaciones

Obviamente, cuando se intente diagnosticar sangre en pacientes reales ninguna de las curvas experimentales se verá exactamente igual que las curvas mostradas aquí. Incluso entre individuos sanos de la misma raza, del mismo género y de la misma edad, existirán fluctuaciones en el número de células de cada tipo por unidad de volumen, el tamaño y la forma promedio de cada tipo de célula, y el índice de refracción exacto de cada componente de la sangre a cada longitud de onda. Diferencias en historias clínicas, hábitos alimenticios y condiciones de vida, y hasta mutaciones genéticas aleatorias, contribuyen a todas estas variables en formas impredecibles. El resultado es que siempre existirán pequeñas fluctuaciones en las formas de las curvas mostradas en este capítulo y en los valores exactos del índice de refracción efectivo de la sangre a cada longitud de onda. Sin embargo, el orden de magnitud de la contribución de cada componente y el comportamiento cualitativo de las curvas será el mismo para todos los humanos sanos.

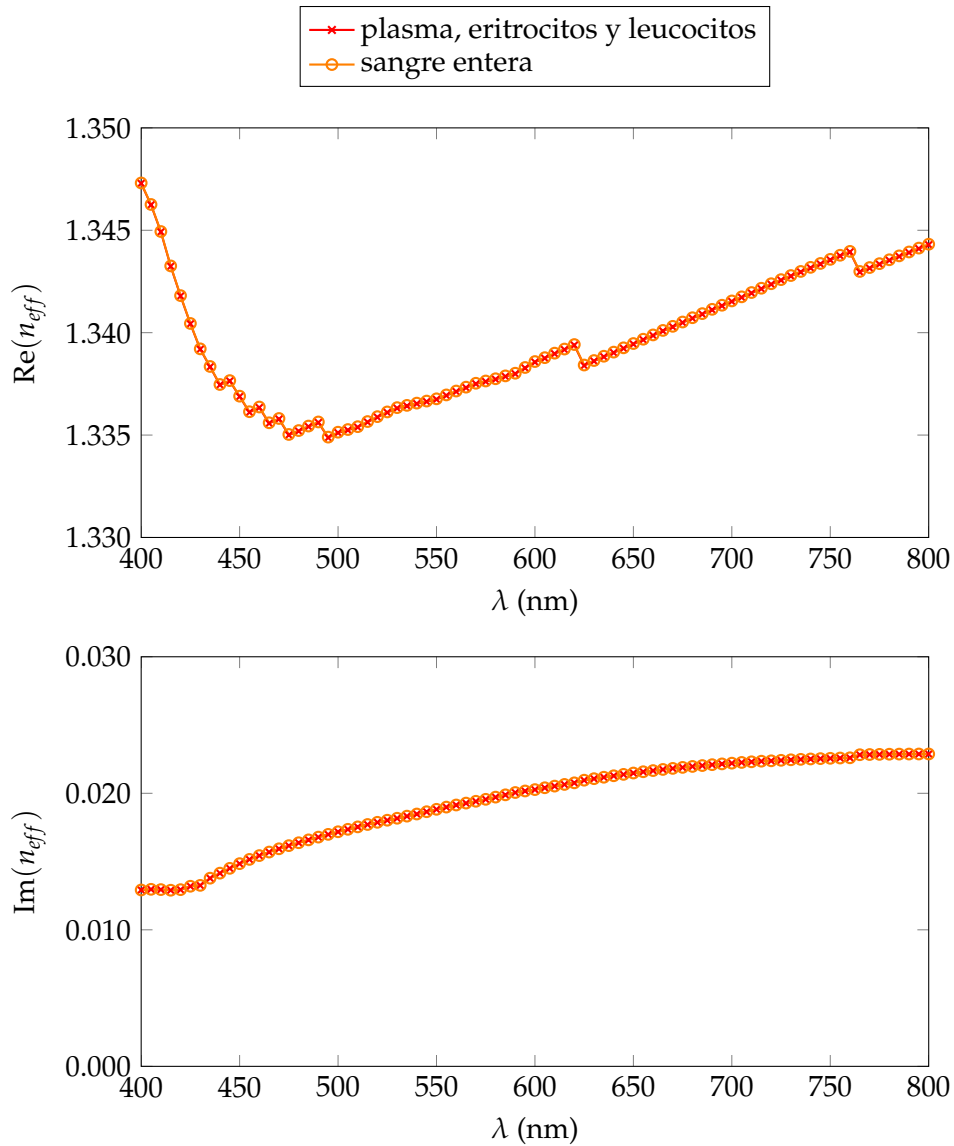


Figura 4.14. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de la sangre entera. Los trombocitos son esencialmente invisibles.

La siguiente tabla resume el orden de magnitud de la contribución de cada tipo de célula a cada parte (real e imaginaria) del índice de refracción efectivo, tanto en términos absolutos como dividido entre  $f$  (o, dicho de otra manera, por unidad de concentración):

Tipo de célula	Contribución absoluta		Por unidad de concentración	
	$\text{Re}(n_{eff})$	$\text{Im}(n_{eff})$	$\text{Re}(n_{eff})$	$\text{Im}(n_{eff})$
Trombocitos	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
Eritrocitos	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$
Leucocitos	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$

El lado izquierdo de esta tabla, que muestra el orden de magnitud de la contribución absoluta de cada tipo de célula a  $n_{eff}$ , hace evidente el hecho de que solamente los eritrocitos y los leucocitos tienen contribuciones medibles; de hecho, la contribución de los leucocitos está en el límite de medibilidad para la mayoría de los refractómetros estándar, y la interferometría de luz coherente no es muy factible porque la sangre extingue la luz coherente muy rápidamente. Los trombocitos son absolutamente invisibles; es probable que las fluctuaciones naturales mencionadas arriba causen desviaciones de las gráficas mostradas que sean al menos uno o dos órdenes de magnitud mayores que el efecto de los trombocitos. Por lo tanto, usar el modelo presentado aquí para diagnosticar cualquier enfermedad que afecte exclusivamente a los trombocitos es imposible.

El lado derecho de la tabla, por otro lado, muestra que todos los tipos de célula tienen contribuciones por unidad de concentración que son de orden de magnitud similar. Sin embargo, lo más interesante está precisamente en las diferencias. Es bien sabido que el tamaño de las partículas en un coloide juega un papel crucial en la contribución de las partículas al índice de refracción efectivo del coloide. Sin embargo, determinar el efecto exacto del tamaño de las partículas sobre la magnitud de la contribución de las mismas a  $n_{eff}$  no es trivial. Al menos para las células sanguíneas, la regla general parece ser que las células más pequeñas tienen efectos más significativos sobre la parte real del índice de refracción efectivo que sobre la parte imaginaria del mismo, mientras que las células más grandes tienen un mayor efecto sobre la parte imaginaria. Obviamente hay una transición suave entre pequeño y grande, y los eritrocitos parecen encontrarse en el punto exacto de esta transición en el que la contribución a ambas partes de  $n_{eff}$  es igual de grande. La razón de la transición es que las partículas más grandes generalmente dispersan la luz más fuertemente (mientras no sean *demasiado* grandes). También es sabido que las partículas grandes son, en general, menos visibles que las pequeñas en lo que se refiere a contribuir a  $\text{Re}(n_{eff})$ .

Los leucocitos y los trombocitos contribuyen a  $\text{Im}(n_{eff})$  a pesar de haber sido modelados como partículas con índices de refracción reales; esto, junto con el hecho de que la contribución de los eritrocitos a  $\text{Im}(n_{eff})$  es mayor que la parte imaginaria de su propio índice de refracción, refleja el esparcimiento por parte de las células.

La gráfica que muestra las curvas para eritrocitos de distintas excentricidades

nos dice que la forma de las partículas, aunque menos significativa que su tamaño, juega un papel importante en determinar la forma de la curva de  $n_{eff}$ . Los eritrocitos son por mucho las células que más contribuyen a  $n_{eff}$ , por lo que esto es más visible en sus curvas correspondientes; mientras que el hecho de que la mayoría de los leucocitos no tienen realmente núcleos esféricos obviamente cambiará las formas de las curvas de  $\Delta n_{eff}$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  correspondientes a estas células, el efecto de estos cambios será despreciable comparado con otros efectos, como un cambio en el número de células de cualquier tipo (excepto trombocitos) por unidad de volumen o cualquier efecto que afecte la forma de los eritrocitos; similarmente, es probable que las enfermedades que afecten el índice de refracción del citoplasma de los leucocitos tampoco sean muy fáciles de detectar, ya que la contribución del citoplasma está fuertemente atenuada por la de los núcleos de los leucocitos y la de los eritrocitos. Aunque las curvas de  $n_{eff}$  mostradas en este capítulo muestran poca relación con las curvas de  $n_{ery}$ ,  $n_{leu}$  y  $n_{thr}$ , se verá que una alteración drástica a  $n_{ery}$  tiene un efecto inmediatamente detectable en el índice de refracción de la sangre. Podemos, por lo tanto, concluir que los factores que más contribuyen a  $n_{eff}$  son los índices de refracción del plasma y los eritrocitos, las formas geométricas de los eritrocitos (principalmente) y los leucocitos (probablemente no a un grado suficientemente grande para ser fácilmente visible) y las fracciones de llenado de los eritrocitos y los leucocitos.

Todo esto será discutido con mayor detalle en el capítulo 5.

## 4.8 Referencias

1. Aguilar Salinas C A: *Manual de terapéutica médica y procedimientos de urgencias*; McGraw-Hill (cuarta edición, 2000); 948–950
2. Kaushansky K, Lichtman M A, Beutler E, Kipps T J, Seligsohn U & Prchal J T: *Williams hematology*; McGraw-Hill (octava edición, 2010); 2126–2127
3. Guyton A C & Hall J E: *Textbook of medical physiology*; Elsevier Saunders (decimoprimer edición, 2006); 419–420, 430–431
4. Palmer K F & Williams D: *Optical properties of water in the near infrared*; Journal of the Optical Society of America 64 (1974), 1107–1110
5. Adair G S & Robinson M E: *The specic refraction increments of serum-albumin and serum-globulin*; Biochemical Journal 24(4) (1930), 993–1011
6. Vörös J: *The density and refractive index of adsorbing protein layers*; Biophysical Journal 87 (2004), 553–561



7. Kuchel P W & Fackerell E D: *Parametric-equation representation of biconcave erythrocytes*; *Bulletin of Mathematical Biology* 61 (1999); 209–220
8. Friebel M & Meinke M: *Model function to calculate the refractive index of native hemoglobin in the wavelength range of 250–1100 nm dependent on concentration*; *Journal of Biomedical Optics* 11(3) (2006), 034021
9. Sydoruk O, Zhernovaya O, Tuchin V V & Douplik A: *Refractive index of solutions of human hemoglobin from the near-infrared to the ultraviolet range: Kramers-Kronig analysis*; *Journal of Biomedical Optics* 17(11) (2012), 115002
10. Tsinopoulos S V & Polyzos D: *Scattering of He-Ne laser light by an average-sized red blood cell*; *Applied Optics* 38(25) (1999); 5499–5510
11. Heiserman D L: *Methods of hematology* (sección 4-6: Granulocyte series); Sweet-Haven Publishing Services (2004);  
[free-ed.net/sweethaven/MedTech/Hematology/lessonMain.asp?iNum=0406](http://free-ed.net/sweethaven/MedTech/Hematology/lessonMain.asp?iNum=0406)
12. *Normal peripheral blood cells* (sección 2.2: Eosinophils); MediaLab, Inc (2001);  
[medialabinc.net/spg538121/eosinophils.aspx](http://medialabinc.net/spg538121/eosinophils.aspx)
13. *Through the microscope: blood cells* (sección 1.2: Basophil); Wadsworth Center (consultada en 2014);  
[wadsworth.org/chemheme/heme/microscope/basophil.htm](http://wadsworth.org/chemheme/heme/microscope/basophil.htm)
14. Loiko V A, Roban G I, Gritsai O A, Berdnik V V & Goncharova N V: *Mononuclear cells morphology for cells discrimination by the angular structure of scattered light*; 10th Conference on Electromagnetic and Light Scattering by Non-spherical Particles (2007); 105–108
15. Myakov A, Nieman L, Wicky L, Utzinger U, Richards-Kortum R & Sokolov K: *Fiber optic probe for polarized reflectance spectroscopy in vivo: design and performance*, *Journal of Biomedical Optics* 7(3) (2002); 388–397
16. Vahidkhah K, Diamond S L & Bagchi P: *Hydrodynamic interaction between a platelet and an erythrocyte: effect of erythrocyte deformability, dynamics, and wall proximity*; *Journal of Biochemical Engineering* 135 (2013); 051002
17. Wilson B, Tuchin V V & Tanev S: *Advances in biophotonics*; IOS Press (2005); 71

## Capítulo 5

# La luz como herramienta para el diagnóstico de sangre

Este capítulo discutirá la posibilidad de utilizar la información contenida en las gráficas anteriores y varias nuevas gráficas para diagnosticar la sangre entera utilizando únicamente luz de distintas longitudes de onda en el espectro visible.

Nuestro enfoque principal está en las enfermedades que afectan las células sanguíneas; aunque otros tipos de enfermedad serán brevemente mencionados, un análisis completo no ha sido realizado y se encuentra más allá del alcance de este trabajo.

Como en el capítulo 4, el análisis presentado aquí es para sangre no-diluida. Se le recuerda al lector que la naturaleza cualitativa de las curvas obtenidas será el mismo para sangre diluida que para sangre pura y, por lo tanto, el análisis realizado en este capítulo es válido aún para sangre diluida.

### 5.1 Enfermedades no-patogénicas

Existen muchas enfermedades que afectan una o más de las componentes de la sangre. Discutiremos el efecto de las más importantes sobre  $n_{eff}$ .

#### 5.1.1 Enfermedades que afectan el plasma sanguíneo

Cualquier condición que afecte la composición del plasma causará un cambio en  $n_m$  y, por lo tanto, un cambio en  $n_{eff}$ . La composición del plasma cambia de forma natural en el transcurso de un día por la alimentación (por ejemplo, el nivel de glucosa en la sangre aumenta inmediatamente después de cada comida), pero asumiremos que las condiciones patológicas tienen efectos mayores sobre  $n_m$  que estas fluctuaciones naturales.

Dependiendo de si conocemos los incrementos específicos de refracción o las polarizabilidades eléctricas de las componentes moleculares y atómicas del plasma, podemos usar la ecuación 2.3.2 o la relación de Clausius-Mossotti (respectivamente) junto con la ecuación 2.1.11 para calcular el índice de refracción del plasma dada una combinación particular de concentraciones de sus componentes; las curvas de  $n_m$  resultantes revelarán si los distintos desórdenes del plasma son distinguibles entre sí.

### 5.1.2 Enfermedades que afectan a los eritrocitos

La mayoría de las enfermedades que afectan a los eritrocitos son tipos de anemia. Las anemias se clasifican dependiendo de varios factores, incluyendo su causa y las condiciones exactas de los eritrocitos en el torrente sanguíneo, pero todas resultan en una deficiencia en el transporte de oxígeno. La policitemia es un exceso de eritrocitos y resulta en una mayor viscosidad de la sangre, lo cual puede tener consecuencias similares a las de la anemia.

#### Anemia falsiforme

La anemia falsiforme es un desorden genético en el que el gen que codifica para la hemoglobina sufre una mutación puntual. El organismo produce una variante de la hemoglobina llamada "hemoglobina s", y el resultado de esto es que 4%–44% de los eritrocitos en el torrente sanguíneo contienen esta molécula alternativa y se deforman permanentemente.<sup>1</sup> Las células deformadas adquieren forma de media luna o de elipsoide alargado; se atorán fácilmente en vasos sanguíneos estrechos, y sus membranas son menos flexibles que las de los eritrocitos sanos, por lo que se rompen fácilmente. El resultado final es una deficiencia en el número de eritrocitos y en la habilidad de los eritrocitos deformados restantes para transportar oxígeno.

Las células con forma de media luna no son fáciles de modelar y carecen de las simetrías requeridas para que el cálculo de  $S(0)$  sea sencillo. Aunque algunas descripciones matemáticas aproximadas han sido propuestas,<sup>2</sup> éstas no son exactas; por ejemplo, una de las geometrías propuestas considera dos parábolas

$$x = b - \frac{b}{a^2} y^2 \quad (5.1.1)$$

y

$$x = d - \frac{d}{a^2} y^2 \quad (5.1.2)$$

con  $d > b > 0$  y modela un eritrocito como un prisma cuya base es el área entre las parábolas y cuya altura es constante.

Debido principalmente a la dificultad de calcular  $S(0)$  para un eritrocito con forma de media luna y a la falta de modelos geométricos exactos para estas células, asumiremos que todos los eritrocitos deformados adquieren forma de elipsoide alargado. Esta forma es correcta para muchos de los eritrocitos deformados, y se verá que el efecto de los eritrocitos deformados sobre  $n_{eff}$  es tan pequeño comparado con el efecto de la falta de eritrocitos sanos que cualquier error introducido por la desviación de su forma exacta es despreciable.

No todas las células se deforman en la misma medida. Un paciente con anemia falsiforme tiene eritrocitos deformados severamente y permanentemente pero también eritrocitos deformados menos gravemente y reversiblemente. Éstos últimos adquieren una forma sana y la flexibilidad original cuando se oxigenan.<sup>3</sup> Por esta reversibilidad y porque su deformación es menor que la de los eritrocitos permanentemente deformados, los eritrocitos reversiblemente deformados se tomarán como eritrocitos sanos y consideraremos solamente dos tipos de eritrocitos: permanentemente deformados y sanos.

Para obtener las dimensiones de los eritrocitos deformados, varias fotografías de muestras de sangre de distintos pacientes con anemia falsiforme fueron examinadas y los semiejes de los eritrocitos deformados fueron medidos y comparados con los radios de los eritrocitos sanos. Conocemos el radio promedio de un eritrocito sano ( $3.825 \mu\text{m}$ ), por lo que podemos obtener las longitudes promedio de los semiejes de las células deformadas. Se obtuvo  $\langle a \rangle = 6.19 \mu\text{m}$  y  $\langle b \rangle = 2.02 \mu\text{m}$ , y el tercer semieje se tomó como  $c = 1.598 \mu\text{m}$ .

En nuestro modelo, el volumen de un eritrocito deformado es 0.86 veces el de un eritrocito sano. Por lo tanto, tenemos fracciones de llenado  $f_{def} \in [0.0154, 0.1696]$  y  $f_{sanos} \in [0.252, 0.432]$  (asumiendo que  $f_{ery} = 0.45$  en un paciente sano). Es ya evidente que, aún cuando 44% de los eritrocitos estén deformados, los eritrocitos sanos probablemente tendrán un efecto mayor en  $n_{eff}$ .

Aún utilizando este modelo simplificado (elipsoides) para los eritrocitos deformados, el costo computacional de calcular  $S(0)$  es grande. La razón principal de esto es que la simetría reducida de un elipsoide con respecto a un esferoide significa que ahora debemos tomar en cuenta dos rotaciones, aumentando el número de variables de tres ( $x, y$  y  $\gamma$ ) a cuatro ( $x, y, \gamma$  y  $\psi$ ) y, por consiguiente, aumentando el número de pasos por longitud de onda de 1,030,301 a 104,060,401. Además del incremento en el número de pasos, la expresión para  $h$  es más complicada y requiere de más tiempo de computación. El resultado final es que el cálculo de  $S(0)$  para eritrocitos deformados habría tomado más de cien veces más que para eritrocitos esferoidales. Nuestra solución fue reducir el número de pasos por variable por longitud de onda a 11; así, el número total de pasos por longitud de onda fue 14,641. Para estimar el error introducido por tal reducción de resolución, se volvió a calcular  $n_{eff}$  para eritrocitos sanos utilizando solamente 11 pasos por variable por

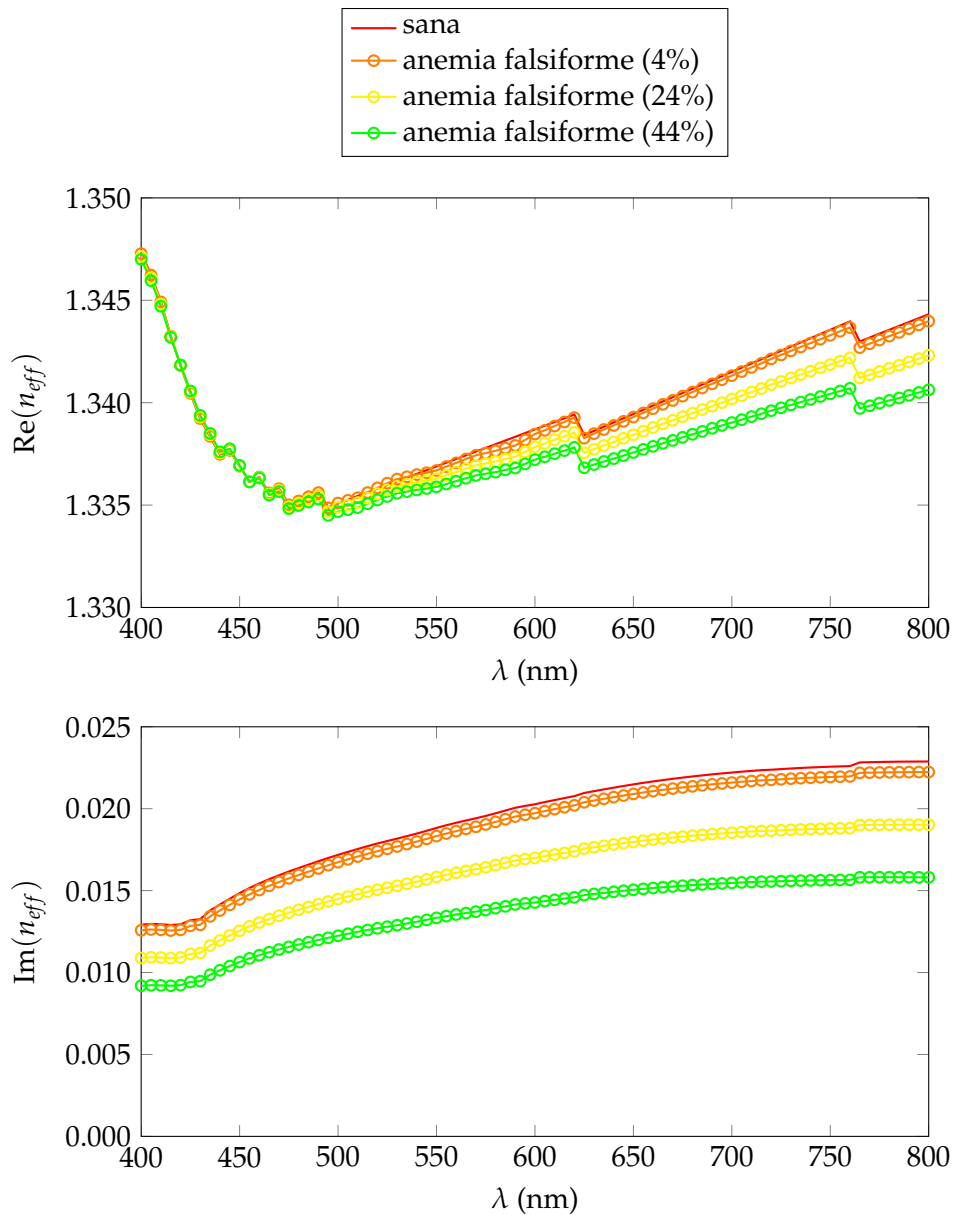


Figura 5.1. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con anemia falsiforme. Los números entre paréntesis indican el porcentaje de eritrocitos deformados.

longitud de onda y se determinó el tamaño del error en ese cálculo. El error fue de entre 0.01% y 0.04% para la parte real y entre 0.032% y 2.39% para la parte imaginaria, y eso fue asumiendo una fracción de llenado  $f = 0.45$  (2.65 veces la mayor

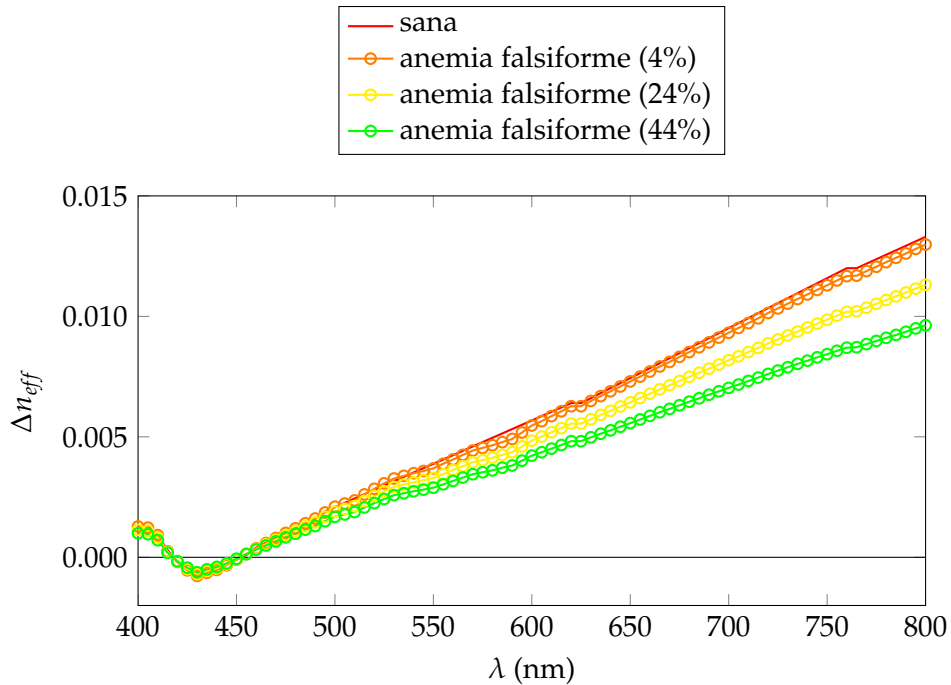


Figura 5.2.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con anemia falsiforme. Los números entre paréntesis indican el porcentaje de eritrocitos deformados.

fracción de llenado posible de los eritrocitos deformados), así que consideramos que es suficientemente pequeño para poder ser ignorado. El valor absoluto del error es del orden de máximo  $10^{-4}$  para la parte imaginaria y máximo  $10^{-6}$  para la parte real, por lo que es menor o igual al efecto de los leucocitos en la parte imaginaria y menor que el efecto de cualquier tipo de célula en la parte real.

Las figuras 5.1 y 5.2 muestran el índice de refracción efectivo de sangre entera sana y de sangre entera con anemia falsiforme. Las figuras 5.3 y 5.4 comparan un caso moderado de anemia falsiforme (24% de los eritrocitos están deformados) con un escenario en el que 24% de los eritrocitos simplemente están ausentes. Las gráficas en las últimas dos de estas figuras revelan que los eritrocitos deformados tienen una contribución a  $n_{eff}$  cualitativamente igual que la de los eritrocitos sanos pero cuantitativamente más pequeña (aunque no despreciable). Por lo tanto, la anemia falsiforme de una severidad dada (donde "severidad" se refiere al porcentaje de eritrocitos que están deformados) debe ser imposible de distinguir de una anemia aplásica un poco menos severa (este tipo de anemia será estudiado más adelante) utilizando solamente mediciones de  $n_{eff}$ ; mediciones del hematocrito (la fracción de llenado de los eritrocitos) podrían ayudar a distinguir entre los dos tipos de enfermedad, pero eso vence el propósito de este trabajo, que es establecer un método de diagnóstico no-invasivo y no-destructivo.

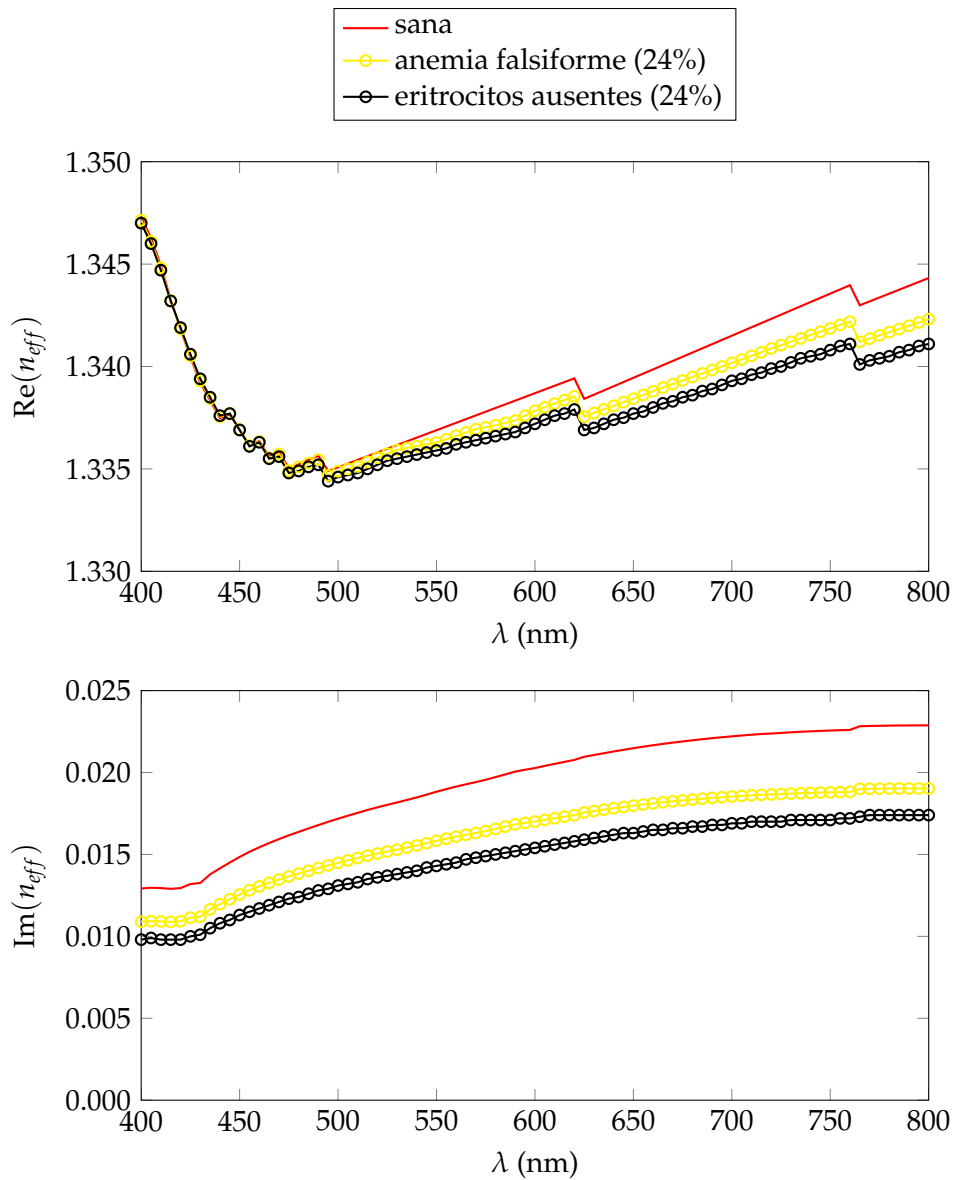


Figura 5.3. Comparación de las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana, sangre con anemia falsiforme moderada (24% de los eritrocitos están deformados) y sangre en la que simplemente faltan 24% de los eritrocitos.

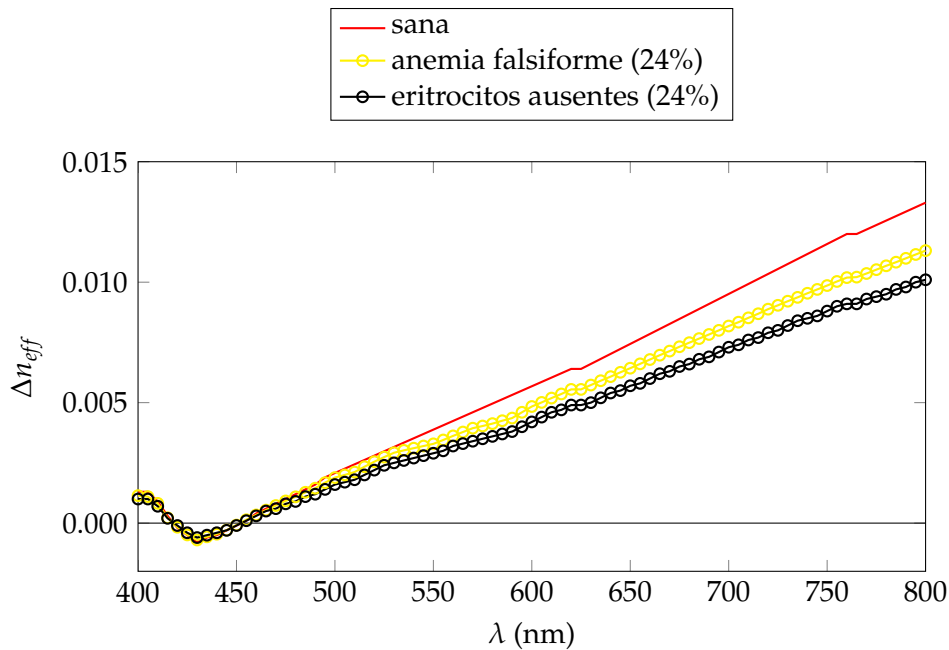


Figura 5.4. Comparación de  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana, sangre con anemia falsiforme moderada (24% de los eritrocitos están deformados) y sangre en la que simplemente faltan 24% de los eritrocitos.

### Anemia por deficiencia de hierro

Como se mencionó en el capítulo 4, un eritrocito sano contiene alrededor de 340 g/L de hemoglobina. Esta molécula tiene como núcleo un átomo de hierro, y es este átomo el que se une a una molécula de oxígeno y permite que los eritrocitos oxigenen el cuerpo. Cuando la concentración de hemoglobina en los eritrocitos de una persona decrece a menos de 110 g/L, la persona sufre de anemia por deficiencia de hierro.<sup>4</sup> Esta condición causa que el cuerpo produzca menos eritrocitos y que éstos sean más pequeños y considerablemente más oscuros; el volumen promedio de un eritrocito con deficiencia de hierro es menor a  $80 \mu\text{m}^3$ , que es aproximadamente el 81.7% del volumen de un eritrocito sano, y puede ser tan bajo como  $65 \mu\text{m}^3$  (66.4% del volumen de un eritrocito sano) en casos severos.<sup>5</sup>

Los eritrocitos con deficiencia de hierro fueron modelados como esferoides con la misma excentricidad que los eritrocitos sanos pero solamente 81.7% o 66.4% de su volumen y un índice de refracción  $n_{IDA} \neq n_{ery}$ . Debe tenerse precaución al elegir un valor para  $n_{IDA}$ ; el mejor procedimiento posible sería medir el índice de refracción de los eritrocitos con deficiencia de hierro a distintas longitudes de onda.



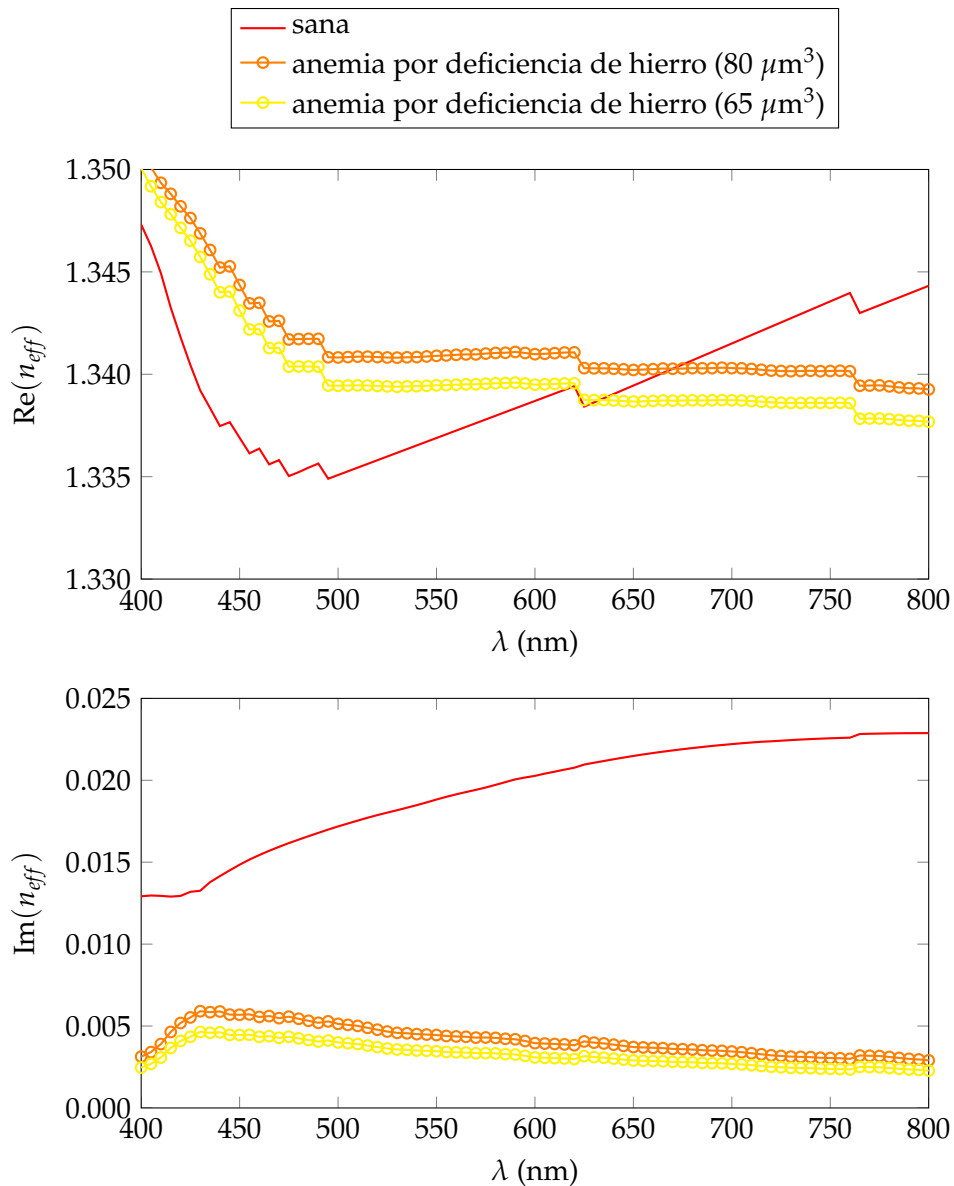


Figura 5.5. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con diferentes grados de anemia por deficiencia de hierro. Los números entre paréntesis indican el volumen de los eritrocitos.

Como tal medición era imposible para el autor de este trabajo y no existen datos en la literatura, se tomó un promedio pesado del índice de refracción de los eritrocitos sanos y el del agua (asumiendo que el interior de un eritrocito es simplemente

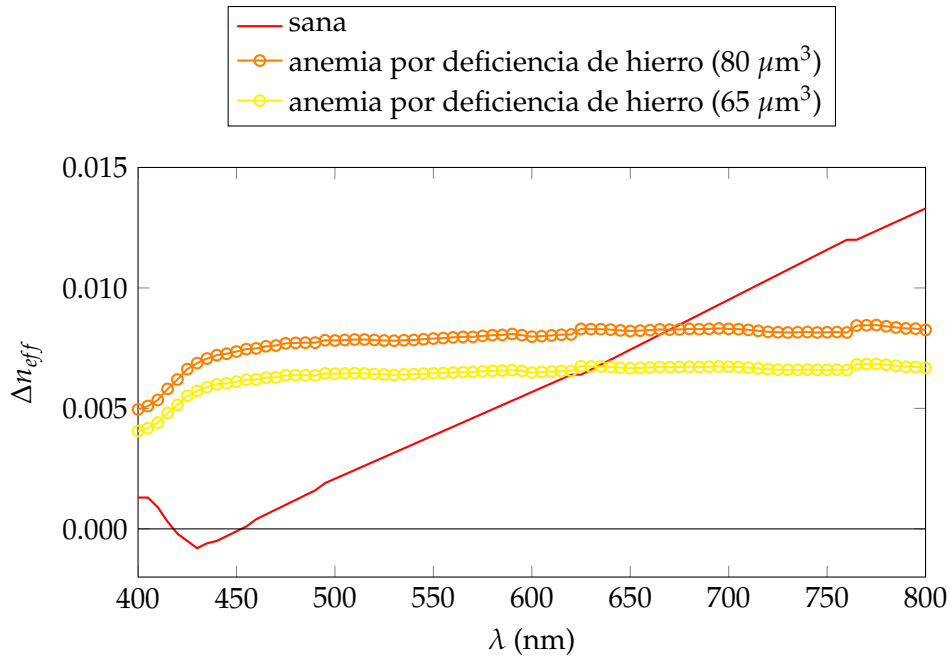


Figura 5.6.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con diferentes grados de anemia por deficiencia de hierro. Los números entre paréntesis indican el volumen de los eritrocitos.

hemoglobina y agua y que la ecuación del incremento específico de refracción es válida para una solución de hemoglobina, es razonable hacer esto), pero se desconoce si éste es verdaderamente el índice de refracción de un eritrocito con deficiencia de hierro. Más aún,  $n_{IDA}$  depende de la concentración exacta de hemoglobina en los eritrocitos, por lo que variará con la severidad de la enfermedad. Las gráficas correspondientes a la anemia por deficiencia de hierro presentadas aquí son simplemente una estimación hecha por el autor.

Como puede apreciarse en las figuras 5.5 y 5.6, la anemia por deficiencia de hierro cambia completamente la forma de las tres curvas; el comportamiento cualitativo de las curvas correspondientes a esta enfermedad es notablemente diferente del de las curvas correspondientes a sangre sana. Esto debería hacer que esta enfermedad particular sea extremadamente fácil de diagnosticar con el método presentado aquí. La severidad de la enfermedad también puede ser determinada por el valor numérico de las partes real e imaginaria del índice de refracción a casi cualquier longitud de onda.

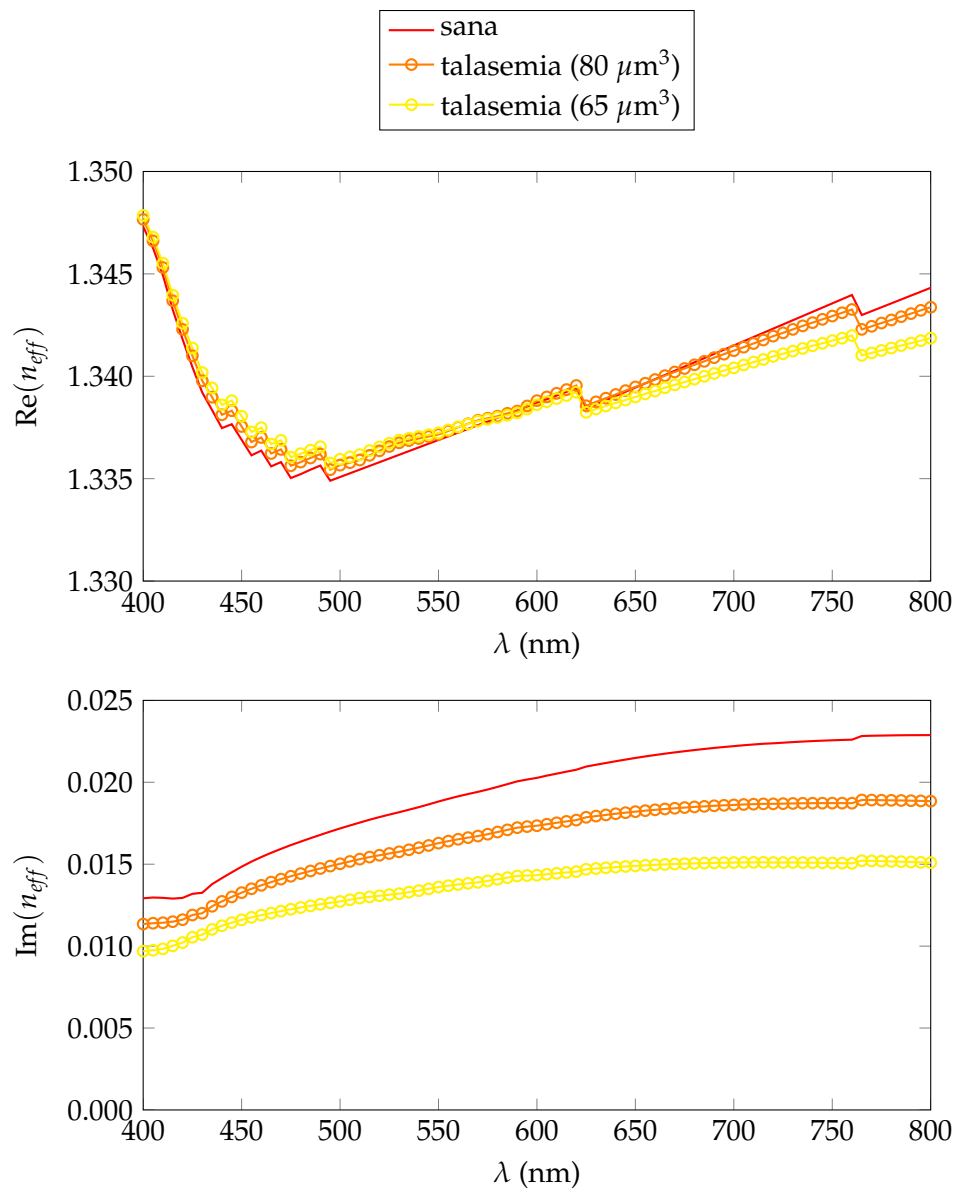


Figura 5.7. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice refracción efectivo de sangre sana y sangre con talasemia. Los números entre paréntesis indican el volumen de los eritrocitos.

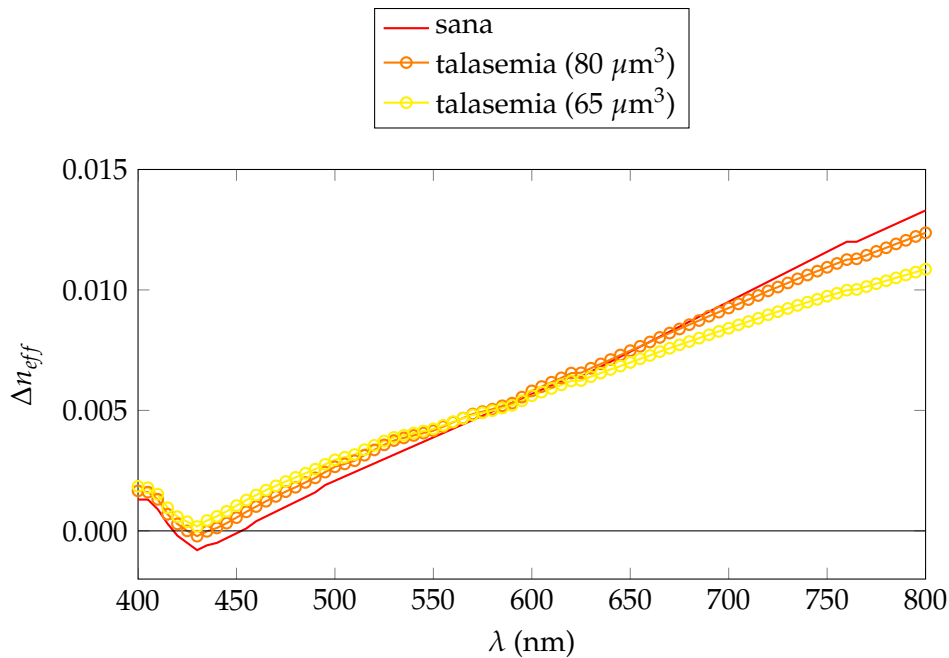


Figura 5.8.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con talasemia. Los números entre paréntesis indican el volumen de los eritrocitos.

Las formas (pero no los valores numéricos ni su orden de magnitud) de las curvas recuerdan a las curvas correspondientes a la contribución de los trombocitos. Es evidente que el tamaño de las partículas tiene un efecto enorme en la naturaleza cualitativa de las curvas de  $n_{eff}$ ; los eritrocitos con deficiencia de hierro no son tan pequeños como los trombocitos, pero son más pequeños que los eritrocitos sanos. El cambio en el índice de refracción de los eritrocitos (que, insistimos, es simplemente una estimación por parte del autor) también juega un papel importante, como será evidente en las gráficas de  $n_{eff}$  correspondientes a la talasemia.

## Talasemia

La talasemia es un tipo de anemia que causa que los eritrocitos sean más frágiles y, por lo tanto, sean destruidos más fácilmente. Los eritrocitos talasémicos también son más pequeños que los sanos. Por lo tanto, la única diferencia (hablando en términos de  $n_{eff}$ ) entre la anemia por deficiencia de hierro y la talasemia debe estar en el índice de refracción de los eritrocitos. Al igual que la anemia por deficiencia de hierro, la talasemia hace que los eritrocitos tengan un volumen menor a 75  $\mu\text{m}^3$  y, en casos severos, menor a 65  $\mu\text{m}^3$ .<sup>6</sup>

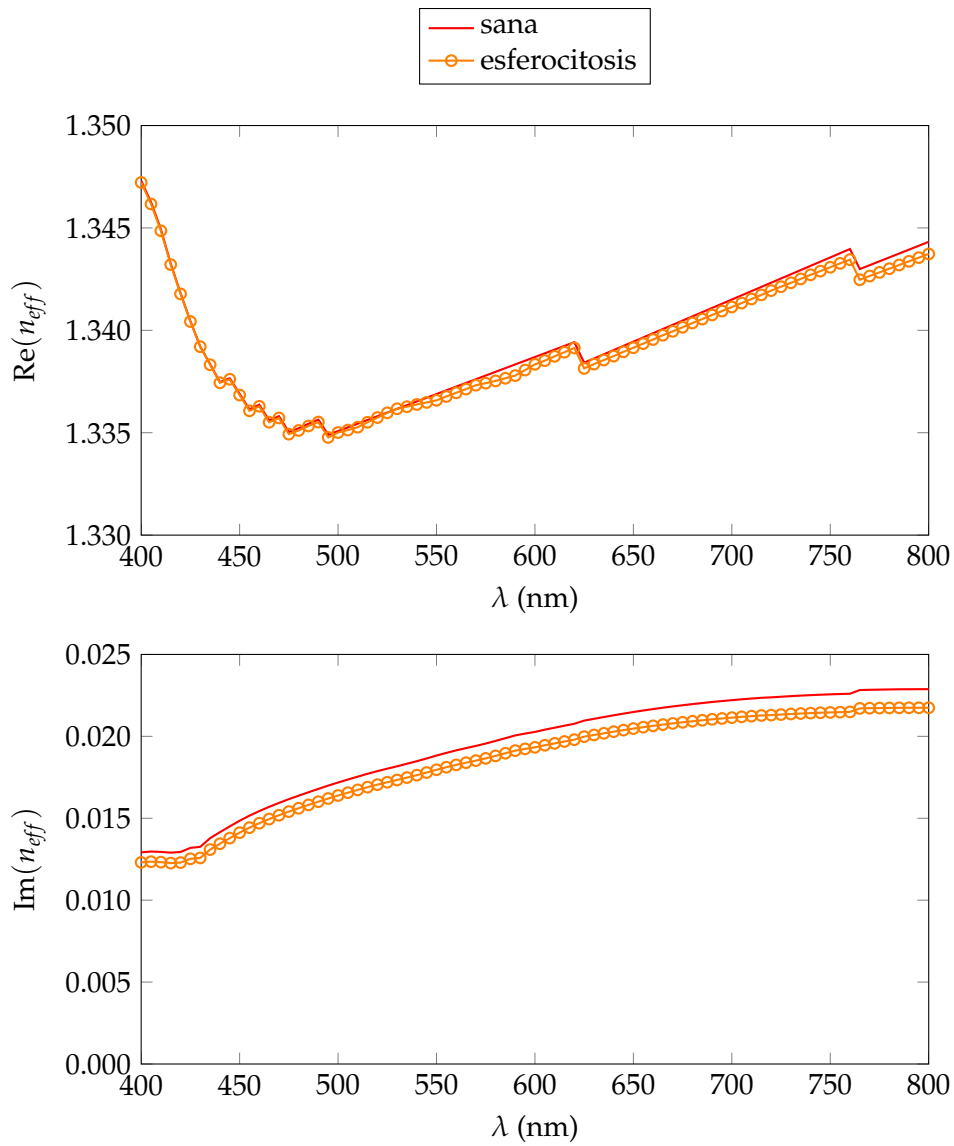


Figura 5.9. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con esferocitosis.

Las figuras 5.7 y 5.8 muestran  $n_{eff}$  en el caso de la talasemia para los mismos volúmenes de los eritrocitos que fueron utilizados en las gráficas correspondientes a la anemia por deficiencia de hierro.

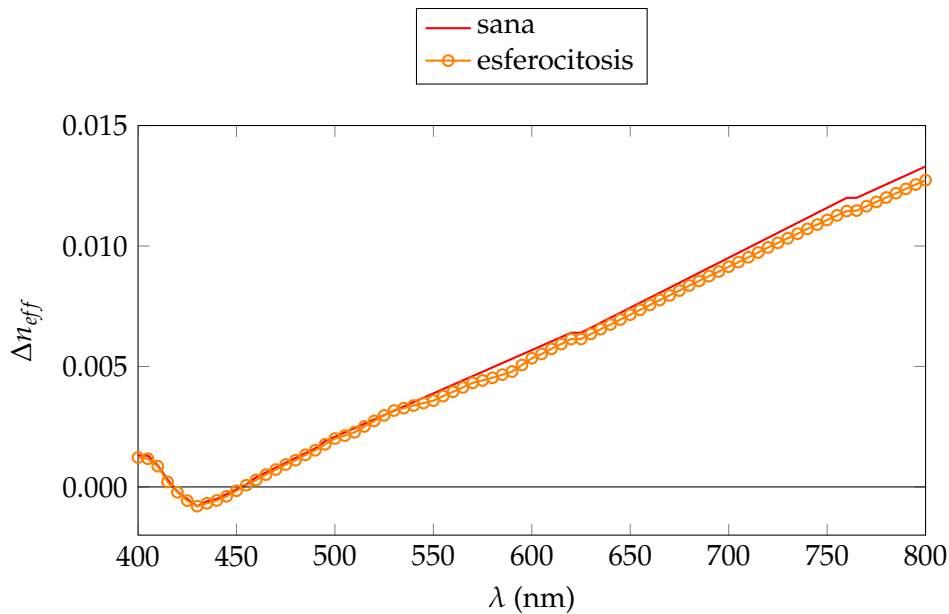


Figura 5.10.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con esferocitosis.

Como se verá después, la talasemia solamente es distinguible de la anemia aplásica por el hecho de que  $\Delta n_{eff}$  es mayor cerca de 500 nm y la ventana en la que los eritrocitos reducen el índice de refracción es bastante más delgada en la talasemia que en la sangre entera, mientras que el resultado de simplemente reducir el número de eritrocitos es “comprimir” la curva de  $\text{Re}(n_{eff})$  hacia la de  $n_m$  y las de  $\Delta n_{eff}$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  hacia el cero, como se mencionó en el capítulo 4.

### Esferocitosis

En la esferocitosis, alrededor de 8% de los eritrocitos son esféricos en lugar de tener forma de disco bicóncavo.<sup>7</sup> Los eritrocitos esféricos generalmente transportan el oxígeno eficientemente, pero se rompen más fácilmente que los eritrocitos normales, lo cual causa una ligera deficiencia en el número de eritrocitos y por lo tanto anemia leve. También son más pequeños que los eritrocitos normales;<sup>8</sup> su radio es menor a  $2 \mu\text{m}$ .

Al igual que la anemia falsiforme, la esferocitosis parece ser indistinguible de la anemia aplásica leve. La esferocitosis podría ser indistinguible de la salud también, pues algunas personas sanas tienen hematocritos bajos (0.39, por ejemplo, que es bastante menor que el 90% del hematocrito promedio en hombres sanos, 0.45) y el efecto de la esferocitosis es disminuir  $\Delta n_{eff}$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  en un factor menor al 10%.

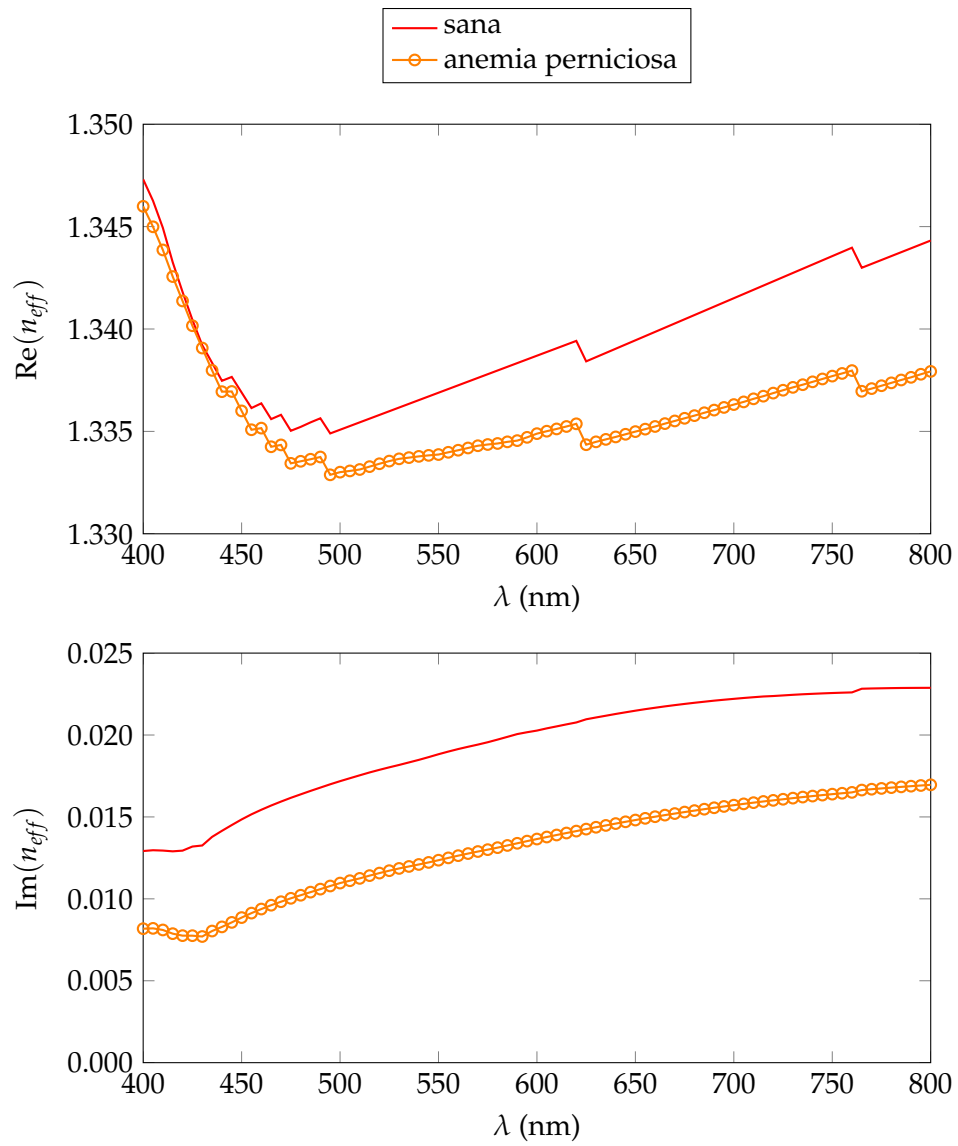


Figura 5.11. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con anemia perniciosa.

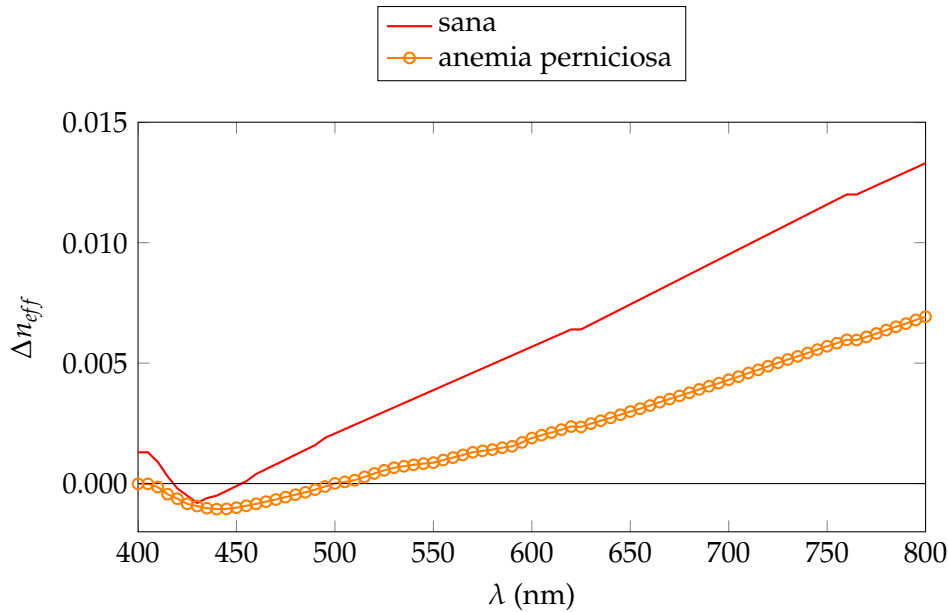


Figura 5.12.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con anemia perniciosa.

### Anemia perniciosa

La anemia perniciosa es un desorden en el que algunos eritrocitos son anormalmente grandes y hay menos eritrocitos.<sup>9</sup> El volumen promedio de los eritrocitos aumenta a por lo menos  $110 \mu\text{m}^3$  y máximo  $140 \mu\text{m}^3$ , lo cual corresponde a un radio mayor a  $4.5 \mu\text{m}$ . Al mismo tiempo, la fracción de llenado de los eritrocitos disminuye a menos de 0.39 en hombres y a menos de 0.35 en mujeres.<sup>10</sup> Se utilizó una fracción de llenado de 0.35 y semiejes  $4.525 \mu\text{m}$  y  $1.891 \mu\text{m}$  para los eritrocitos.

Para realizar los cálculos y obtener las gráficas mostradas en las figuras 5.11 y 5.12, se asumió que todos los eritrocitos estaban agrandados. En realidad, esto no es cierto, por lo que el efecto de la anemia perniciosa debe ser más pequeño que el mostrado en las gráficas. Sin embargo, las características cualitativas de las curvas de  $n_{eff}$  deben ser suficiente para diagnosticar la anemia perniciosa correctamente.

El comportamiento de  $\Delta n_{eff}$  es interesante. La ventana en la que  $\Delta n_{eff} < 0$  es mucho más ancha en la anemia perniciosa, extendiéndose desde 400 nm hasta cerca de 500 nm. Además, el mínimo de  $\Delta n_{eff}$  ocurre a una longitud de onda mayor en la anemia perniciosa que en la sangre sana. La parte imaginaria de  $n_{eff}$  también se comporta de forma algo diferente: entre 405 nm y 430 nm, decrece ligeramente en vez de ser casi constante. Como se mencionó ya, esto debe hacer que la anemia perniciosa sea relativamente fácil de distinguir de los otros tipos de anemia.



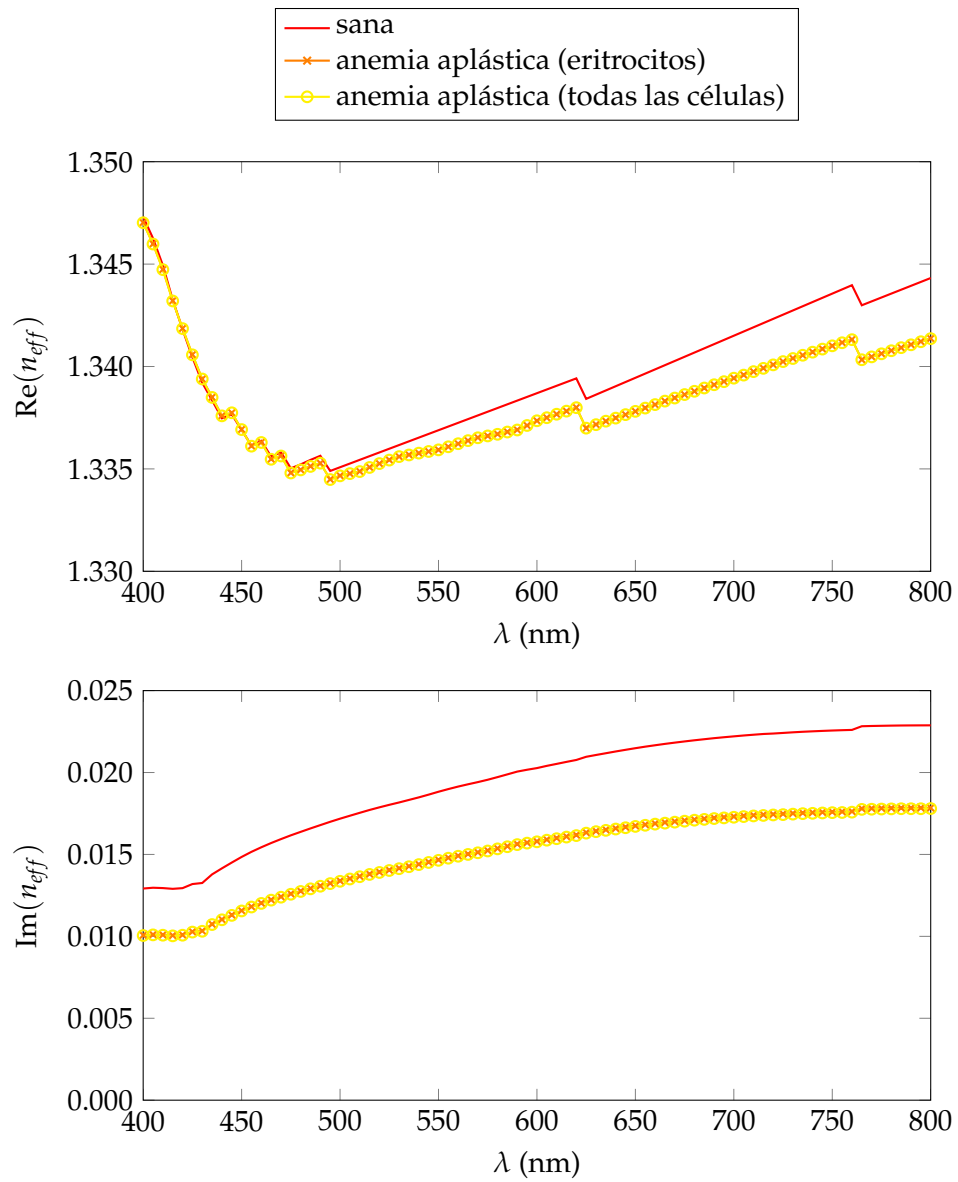


Figura 5.13. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con anemia aplástica.

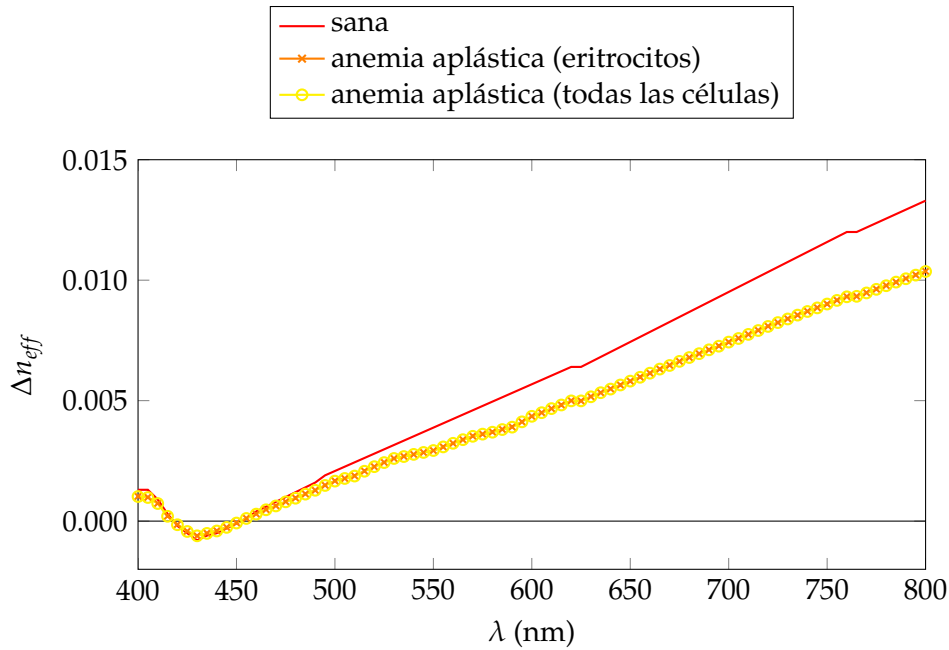


Figura 5.14.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con anemia aplásica.

### Anemia aplásica

La anemia aplásica ocurre cuando hay números reducidos de células sanguíneas por unidad de volumen. La enfermedad puede afectar solamente a los eritrocitos o a los tres tipos de célula sanguínea.

Una fracción de llenado  $f_{ery} = 0.35$  fue utilizada para los eritrocitos. Para el caso de anemia aplásica del tipo que afecta a todos los tipos de célula sanguínea, las fracciones de llenado de los leucocitos y los trombocitos fueron disminuidas en la misma proporción que  $f_{ery}$ . Las figuras 5.13 y 5.14 muestran el índice de refracción efectivo de la sangre de pacientes con ambos tipos de anemia aplásica.

Como era de esperarse por las contribuciones tan pequeñas de los leucocitos y los trombocitos a  $n_{eff}$  en sangre sana, las curvas correspondientes a los dos tipos de anemia aplásica son indistinguibles entre sí. La separación entre estas curvas y las correspondientes a sangre sana dependerá, obviamente, de la severidad de la anemia: mientras menos células existan en el torrente sanguíneo, más parecidas a la curva de  $n_m$  (o al cero en el caso de  $\text{Im}(n_{eff})$  y  $\Delta n_{eff}$ ) serán las curvas de  $n_{eff}$  para anemia aplásica.

### Anemia hemolítica

Algunas anemias, llamadas anemias hemolíticas, hacen que una fracción de los eritrocitos se rompan en pedazos. Los fragmentos, llamados esquistocitos, tienen forma irregular y permanecen en el torrente sanguíneo.

Varias consideraciones nos llevaron a considerar que la anemia hemolítica es absolutamente indistinguible de la esferocitosis; por esta razón, no se presentan gráficas para este tipo de anemia. Las consideraciones son las siguientes: la fracción de eritrocitos fragmentados es pequeña, por lo que el efecto total de la anemia hemolítica sobre  $n_{eff}$  será pequeño, como en el caso de la esferocitosis; los esquistocitos tienen aproximadamente el mismo tamaño que los eritrocitos esféricos en la esferocitosis; y, aunque los esquistocitos son irregulares, pueden ser modelados como esferas, pues hemos visto que el tamaño y el índice de refracción de las partículas juegan un papel más importante que la forma de éstas.

### Policitemia

La policitemia es la enfermedad opuesta de la anemia aplásica. Se caracteriza por un aumento más o menos drástico en el número de células sanguíneas, lo cual hace que la sangre sea más viscosa y le sea más difícil viajar por el cuerpo.

$f_{ery}$  puede aumentar hasta 0.55 en la policitemia.<sup>11</sup> Ésta fue la fracción de llenado utilizada para obtener las gráficas correspondientes a esta enfermedad.  $f_{leu}$  y  $f_{thr}$  se aumentaron en la misma proporción.

La naturaleza de la policitemia la vuelve inmediatamente distinguible de todos los tipos de anemia, pues su efecto en la sangre (y, por lo tanto, en  $n_{eff}$ ) es el opuesto del de la anemia.

### Comparación de las enfermedades de los eritrocitos

Las figuras 5.17 y 5.18 muestran las curvas de  $\text{Re}(n_{eff})$ ,  $\Delta n_{eff}$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  para todos los desórdenes de eritrocitos que hemos estudiado. Aunque el gran número de curvas puede hacer que las gráficas sean un poco difíciles de leer, las características principales son claramente visibles.

Primeramente,  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  contienen información diferente y son útiles para distinguir entre sí enfermedades de diferentes conjuntos, por lo cual ambas partes de  $n_{eff}$  son igualmente importantes en el diagnóstico de la sangre. Por ejemplo, la anemia aplásica es indistinguible de la anemia falsiforme severa y de la talasemia severa en la parte real del índice de refracción efectivo pero es claramente distinta de estas dos enfermedades en la parte imaginaria. Por otro lado, la anemia falsiforme y la talasemia son indistinguibles entre sí independientemente de cuál parte del índice de refracción efectivo utilizemos.

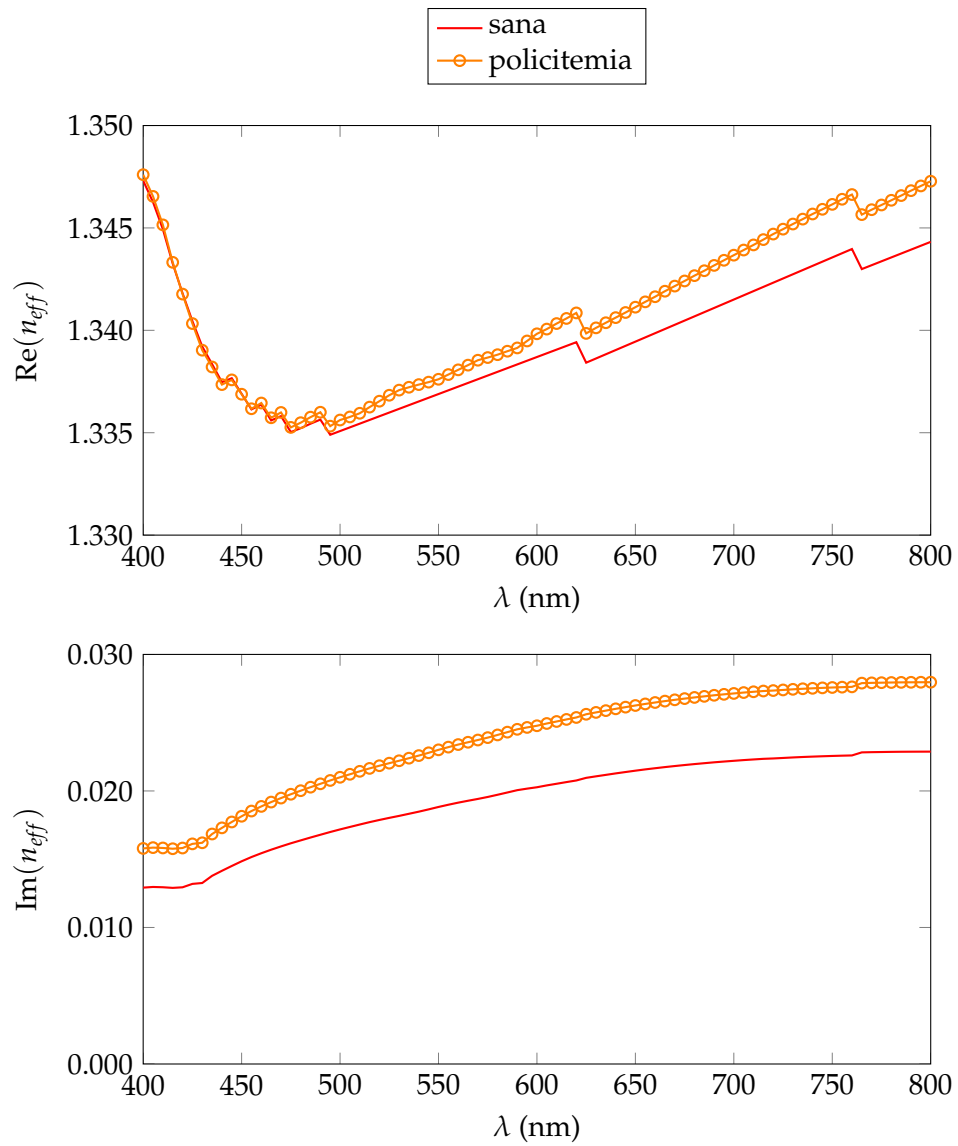


Figura 5.15. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con policitemia.

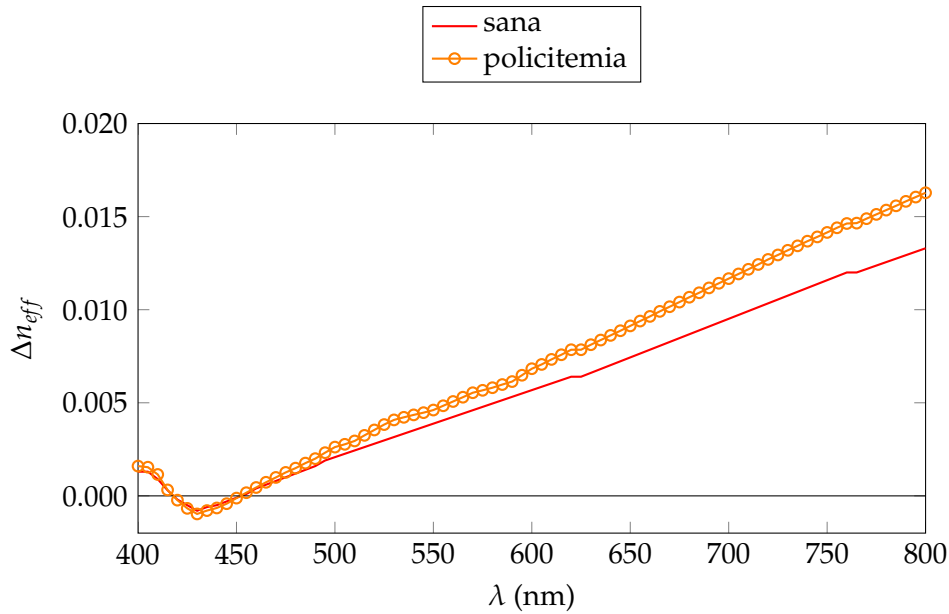


Figura 5.16.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con policitemia.

Ahora bien, tomando en cuenta posibles errores experimentales y las variaciones naturales en el índice de refracción de la sangre causadas por cambios en la composición del plasma y por diferencias entre individuos, es altamente probable que todas estas enfermedades, con la excepción de la anemia por deficiencia de hierro, la anemia perniciosa y la policitemia, sean esencialmente indistinguibles entre sí e indistinguibles de la salud. Es posible que la tendencia creciente de las diferencias entre el índice de refracción de sangre enferma y el de sangre sana haga posible el diagnóstico a longitudes de onda en el infrarrojo cercano, pero, por las limitaciones de la difracción anómala, en este trabajo nos es imposible determinar cómo se comporta el índice de refracción para estas longitudes de onda.

Mientras que un intento de diagnosticar esferocitosis con este método está seguramente destinado al fracaso, algunas enfermedades son extremadamente fáciles de diagnosticar: la policitemia es la única enfermedad de los eritrocitos que aumenta  $n_{eff}$  para todas las longitudes de onda, la anemia perniciosa tiene curvas de  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\Delta n_{eff}$  suficientemente lejanas a las curvas de las otras enfermedades para poder ser fácilmente detectable (sin mencionar el hecho de que el mínimo de  $\Delta n_{eff}$  está recorrido hacia longitudes de onda mayores), y la anemia por deficiencia de hierro hace que todas las curvas de  $n_{eff}$  sean completamente diferentes de las curvas correspondientes para sangre sana y para todas las otras enfermedades.

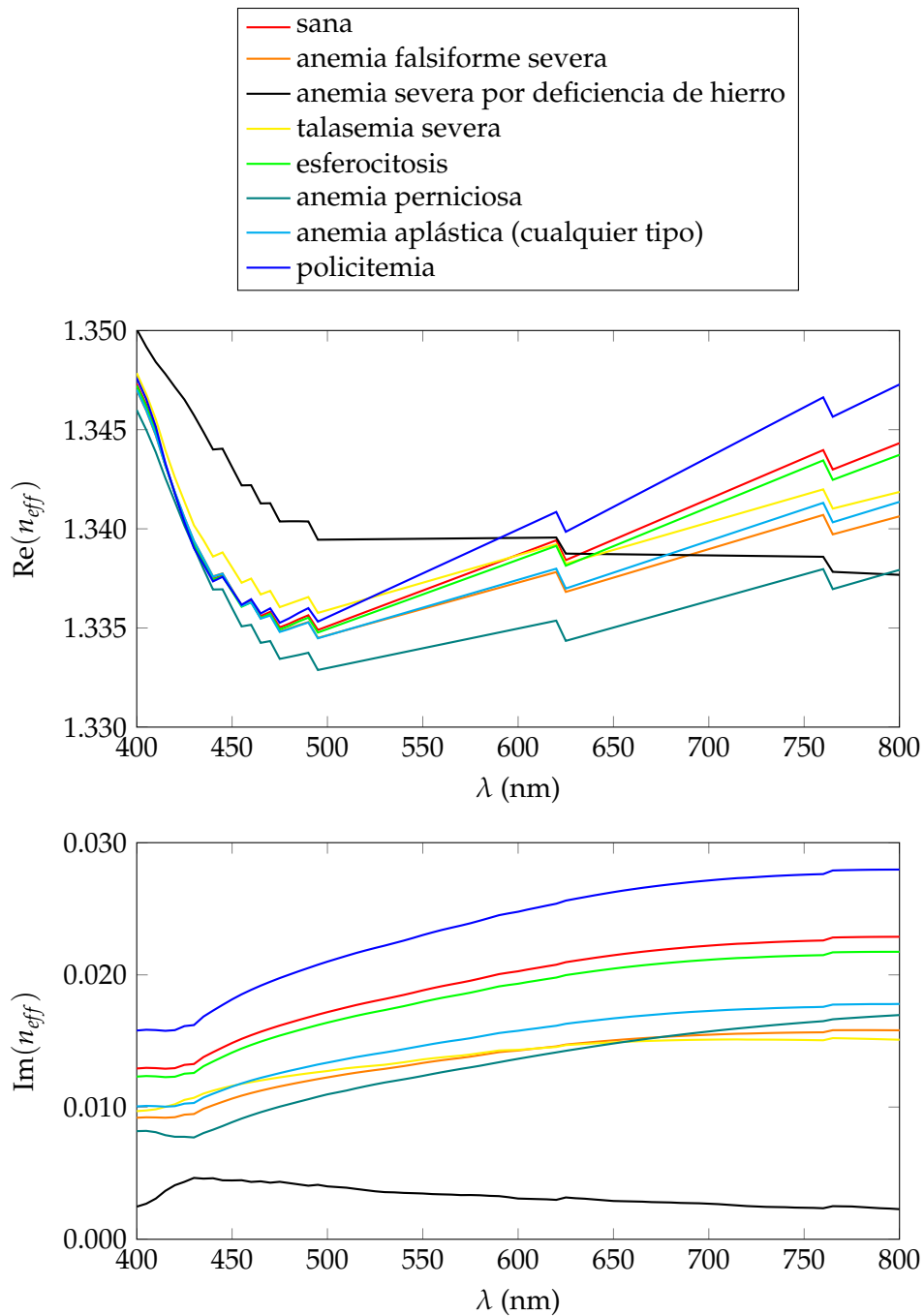


Figura 5.17. Gráficas comparativas de las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con los desórdenes de eritrocitos que hemos estudiado. En los casos de la anemia falsiforme, la anemia por deficiencia de hierro y la talasemia, solamente las curvas correspondientes a la versión más severa fueron graficadas para evitar saturar el espacio con demasiadas curvas. Las curvas correspondientes a los dos tipos de anemia aplásctica son indistinguibles entre sí, por lo que solamente una curva de anemia aplásctica fue graficada.

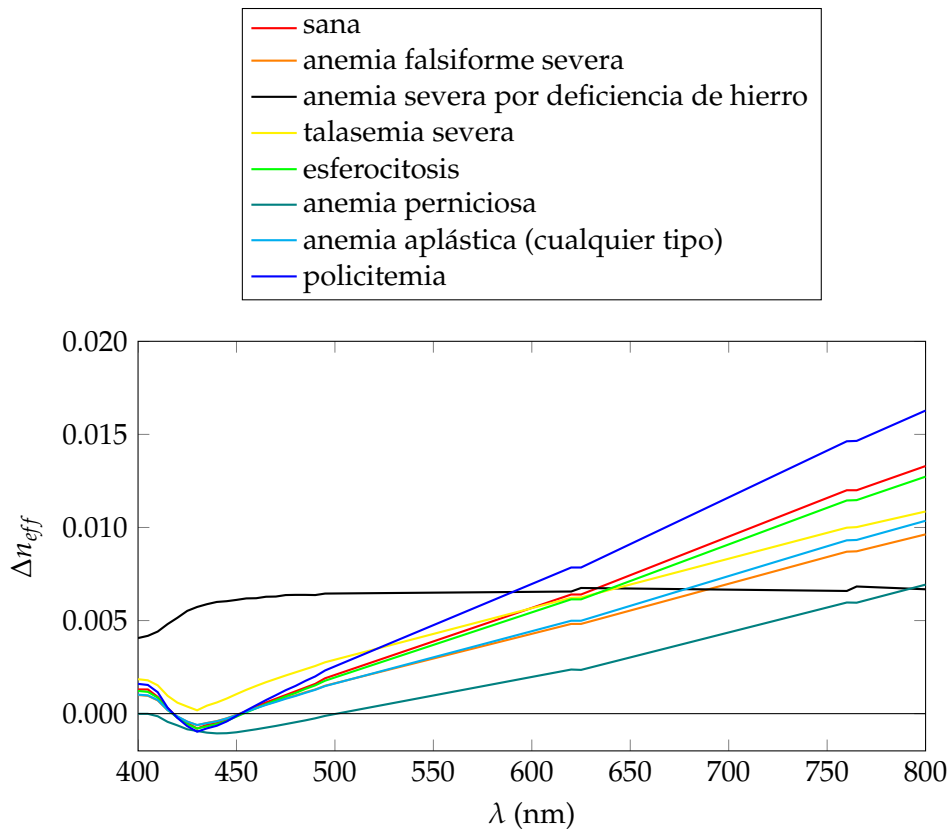


Figura 5.18. Gráfica comparativa de  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con los desórdenes de eritrocitos que hemos estudiado. Todas las consideraciones tomadas para las gráficas de la figura 5.17 fueron tomadas aquí también.

Es claro que medir a solamente dos o tres longitudes de onda no es suficiente para un diagnóstico efectivo de la sangre entera. Así como es necesario medir tanto la parte real de  $n_{eff}$  como su parte imaginaria, para ambas partes es necesario realizar mediciones a un número relativamente grande (digamos, cinco) de longitudes de onda en el espectro visible. Por ejemplo, una medición de  $\text{Re}(n_{eff})$  a 800 nm es insuficiente para distinguir entre anemia perniciosa y anemia por deficiencia de hierro, mientras que medir  $\text{Re}(n_{eff})$  a 500 nm o 600 nm inmediatamente discrimina entre las dos enfermedades (y entre cualquiera de ellas y el conjunto de todas las otras enfermedades); del mismo modo, una medición de  $\text{Re}(n_{eff})$  o  $\text{Im}(n_{eff})$  entre 400 nm y 500 nm hará casi imposible determinar si el paciente tiene un desorden o no (a menos que dicho desorden sea anemia por deficiencia de hierro o, en el caso de la parte imaginaria del índice de refracción, policitemia), mientras que mediciones hechas a longitudes de onda mayores resultarán en una reducción del número

de candidatos para la enfermedad que algún paciente pueda tener.

### 5.1.3 Enfermedades que afectan a los leucocitos

Las principales enfermedades que afectan a los leucocitos son los distintos tipos de leucemia. Éstas también son las únicas enfermedades de los leucocitos que serán fácilmente visibles con nuestro modelo, pues son los únicos desórdenes que causan que el número de leucocitos aumente al punto de fácil visibilidad (el hecho de que resultan en anemia, como será discutido más adelante, también ayuda).

#### Leucemia aguda

La leucemia aguda se caracteriza por un aumento rápido pero relativamente pequeño (comparado con las otras formas de leucemia) del número de leucocitos. Rara vez hay más de 100,000 leucocitos por microlitro, lo cual corresponde a una fracción de llenado máxima  $f_{leu} = 0.14286$ . Los leucocitos extra son predominantemente células parecidas a los linfocitos.

Para esferas, el empacamiento con la mayor densidad posible<sup>12</sup> corresponde a una fracción de llenado cercana a 0.74. El empacamiento de elipsoides<sup>13</sup> puede alcanzar una fracción de llenado ligeramente mayor a 0.75. Por lo tanto, un aumento drástico en  $f_{leu}$  necesariamente significa una reducción en  $f_{ery}$ ; en otras palabras, para que demasiados leucocitos quepan, es necesario que el número de eritrocitos disminuya.  $f_{leu} \leq 0.14286$  no es suficiente para causar una reducción en  $f_{ery}$  por impenetrabilidad de la materia, pero, ya que la leucemia aguda usualmente está acompañada de anemia,<sup>11</sup> asumimos que hay una reducción de  $f_{ery}$  a un valor de 0.35. Para los otros tipos de leucemia, tomamos  $\max(f_{ery} + f_{leu}) = 0.55$  ( $f_{thr}$  es tan pequeña que ignoramos a los trombocitos en cuanto al empacamiento de células) para que el plasma aún pueda existir en cantidades significativas.

Las figuras 5.19 y 5.20 muestran el efecto de la leucemia aguda sobre  $n_{eff}$ . Se asumió  $f_{leu} = 0.14286$ , pero todos los leucocitos extra fueron modelados como linfocitos, por lo que tomamos una fracción de llenado de linfocitos  $f_{lym} = 0.13586$  y asumimos que las fracciones de llenado de los otros tipos de leucocito mantuvieron sus valores normales.

Es interesante notar que en ambas partes de  $n_{eff}$  el efecto de la leucemia es aumentar el índice de refracción (con respecto al de la sangre sana) en una región y disminuirlo en otra; para la parte real la transición entre las dos regiones ocurre cerca de 490 nm, mientras que para la parte imaginaria ocurre cerca de 750 nm. La forma característica de la curva de  $\Delta n_{eff}$  para la leucemia aguda comparada con la curva de  $\Delta n_{eff}$  para la sangre sana hace que la leucemia aguda sea fácilmente identificable.



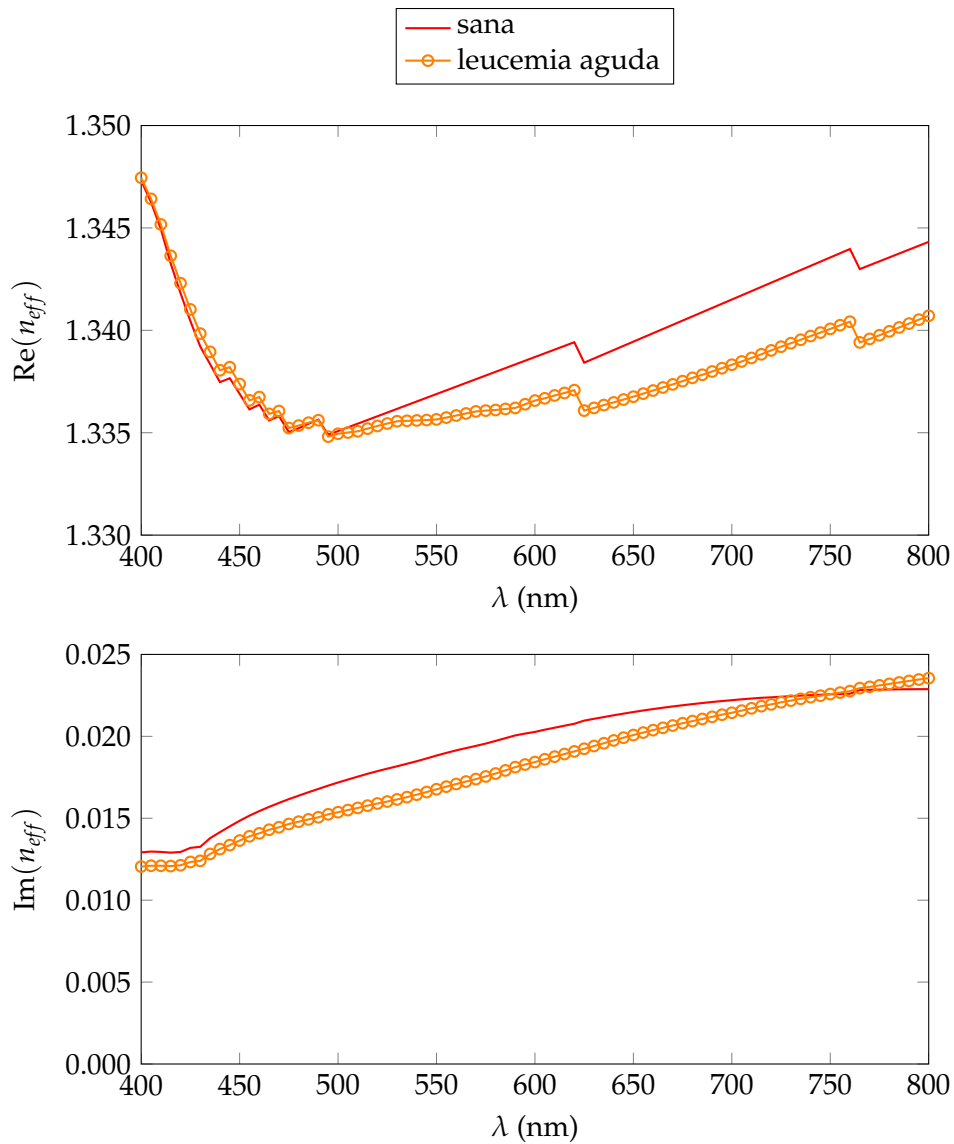


Figura 5.19. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con leucemia aguda.

### Leucemia crónica linfocítica

Las leucemias crónicas tardan más que las leucemias agudas en alcanzar su máximo efecto, pero cuando lo hacen pueden llegar a ser mucho más severas. Aquí separamos cada tipo de leucemia crónica en leve y severa, donde los términos se

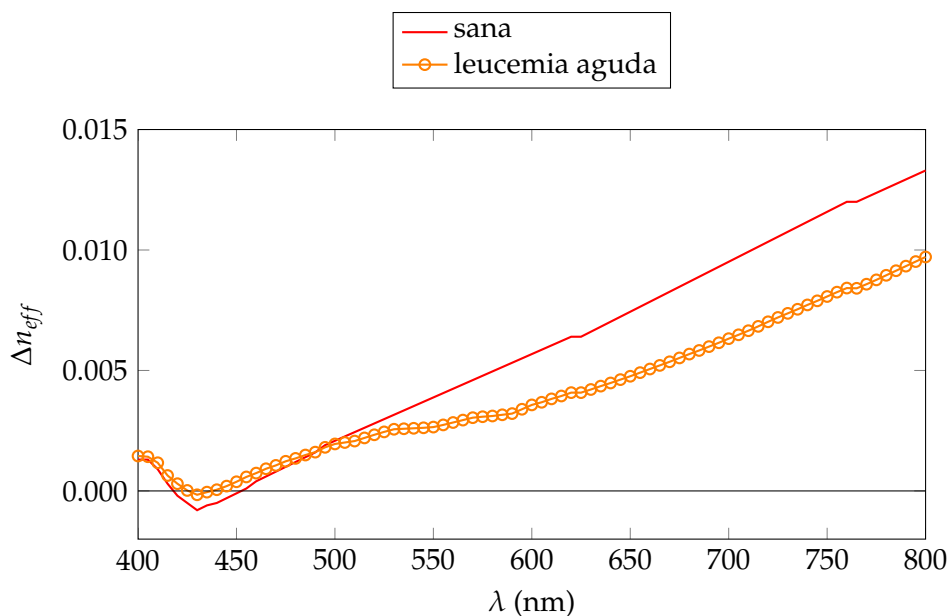


Figura 5.20.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con leucemia aguda.

refieren al número de leucocitos en el torrente sanguíneo.

La leucemia crónica linfocítica involucra un aumento de 7,000 leucocitos por microlitro (la cantidad normal) a cualquier cantidad entre 50,000 y 250,000 leucocitos por microlitro; aproximadamente 90% de éstos son linfocitos.<sup>11</sup> Adicionalmente, el número de eritrocitos debe disminuir para que la fracción de llenado total de las células sea menor o igual a 0.55, como se explicó anteriormente. Se asumió que los trombocitos no eran afectados. La siguiente tabla indica la fracción de llenado que se utilizó para cada tipo de célula para leucemia crónica linfocítica leve (100,000 leucocitos por microlitro) y severa (250,000 leucocitos por microlitro):

Célula	$f$ (leve)	$f$ (severa)
Eritrocito	0.407	0.193
Neutrófilo	0.0127	0.0318
Eosinófilo	$4.694 \times 10^{-4}$	$1.174 \times 10^{-3}$
Basófilo	$8.163 \times 10^{-5}$	$2.041 \times 10^{-4}$
Monocito	$1.082 \times 10^{-3}$	$2.705 \times 10^{-3}$
Linfocito	0.129	0.323

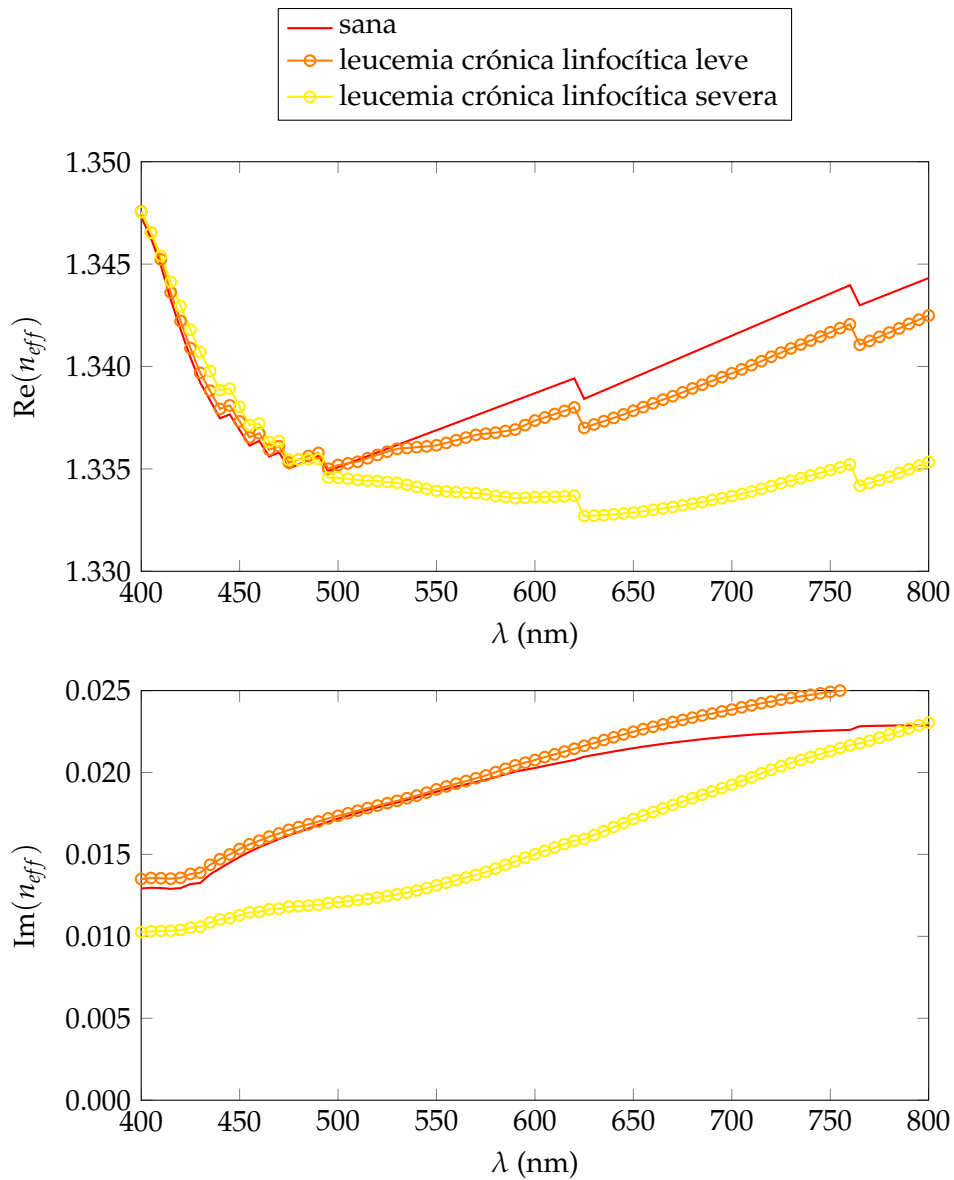


Figura 5.21. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con leucemia crónica linfocítica. Este tipo de leucemia tiene efectos sobre  $n_{eff}$  cualitativamente diferentes dependiendo de su severidad. La razón de esto es que estamos observando no sólo el efecto de tener leucocitos adicionales, sino el efecto de tener una cantidad de eritrocitos drásticamente reducida; dependiendo de qué tan severa es la leucemia linfocítica, sus curvas de  $n_{eff}$  pueden estar más influenciadas o menos influenciadas por los eritrocitos y, por lo tanto, parecerse menos o más, respectivamente, a las curvas de una mezcla formada únicamente por plasma y leucocitos.

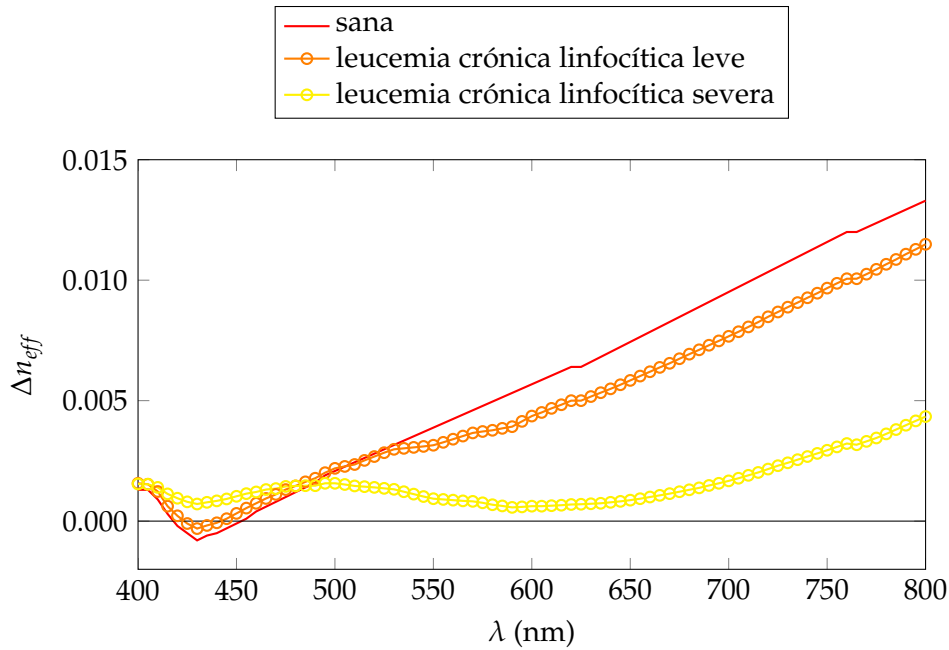


Figura 5.22.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con leucemia crónica linfocítica.

En este caso, no todos los leucocitos extra son linfocitos (aunque la mayoría lo son), mientras que en la leucemia aguda prácticamente todos lo son.

Las curvas correspondientes a la leucemia linfocítica leve se parecen a las de la leucemia aguda porque las fracciones de llenado son similares en los dos casos, pero las curvas de la leucemia linfocítica severa muestran un cambio de comportamiento más drástico. Esto se debe a la enorme reducción en el número de eritrocitos y al gran aumento en el número de leucocitos, con la contribución de los leucocitos especialmente marcada a longitudes de onda largas en  $\text{Im}(n_{eff})$  y a longitudes de onda medianas en  $\Delta n_{eff}$  y  $\text{Re}(n_{eff})$ ; recordando las formas de las curvas correspondientes a las contribuciones de los eritrocitos y los leucocitos al principio del capítulo 4, la pendiente marcadamente negativa entre 500 nm y 600 nm en la curva de  $\Delta n_{eff}$  correspondiente a la leucemia linfocítica severa solamente puede deberse al hecho de que entre 500 nm y 700 nm  $\Delta n_{eff}$  es negativo para leucocitos. 250,000 leucocitos por microlitro equivale a una fracción de llenado de 0.357, que es casi dos veces la fracción de llenado de los eritrocitos en la leucemia crónica linfocítica severa, por lo cual, aún si los eritrocitos son ligeramente menos tenues, los leucocitos tienen un efecto más fuerte. Ésta es la primera enfermedad que hemos estudiado en la que hay más leucocitos que eritrocitos y en la que el efecto de los leucocitos sobre  $n_{eff}$  es mayor que el de los eritrocitos.

También es interesante la similitud entre la curva de  $\text{Im}(n_{eff})$  correspondiente a la leucemia linfocítica severa y la curva de  $\text{Im}(n_{eff})$  correspondiente a los eritrocitos esféricos mostrada en el capítulo 4; vemos una contribución a  $n_{eff}$  más parecida a la de esferas que a la de esferoides, lo cual no solamente es consistente con el hecho de que los leucocitos contribuyen más que los eritrocitos en la leucemia linfocítica severa, sino que indica que la diferencia (bastante grande) en excentricidad entre eritrocitos y leucocitos tiene un efecto más significativo sobre la naturaleza cualitativa de la contribución de estas células a  $n_{eff}$  que el de la diferencia (relativamente pequeña) entre sus tamaños y sus formas.

### Leucemia crónica mielógena

Al igual que la leucemia linfocítica, la leucemia crónica mielógena puede causar un amplio rango de valores de  $f_{leu}$  y en casos severos hace que el número de leucocitos exceda el de eritrocitos considerablemente.  $f_{leu}$  puede tomar valores de hasta 0.429 (300,000 leucocitos por microlitro), y casi todos los eritrocitos extra en el torrente sanguíneo son neutrófilos (en la médula ósea, los tipos más predominantes de leucocito son los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos). Finalmente, el número de trombocitos aumenta en un 30%–50%.<sup>11</sup>

La siguiente tabla indica las fracciones de llenado asumidas; nuevamente dividimos la enfermedad en leve (100,000 leucocitos por microlitro) y severa (300,000 leucocitos por microlitro).

Célula	$f$ (leve)	$f$ (severa)
Eritrocito	0.407	0.121
Neutrófilo	0.139	0.425
Eosinófilo	$2.3 \times 10^{-4}$	$2.3 \times 10^{-4}$
Basófilo	$4.0 \times 10^{-5}$	$4.0 \times 10^{-5}$
Monocito	$5.3 \times 10^{-4}$	$5.3 \times 10^{-4}$
Linfocito	$3.0 \times 10^{-3}$	$3.0 \times 10^{-3}$
Trombocito	$3.99 \times 10^{-3}$	$3.99 \times 10^{-3}$

El comportamiento cualitativo de las gráficas en las figuras 5.23 y 5.24 antes de 600 nm es el mismo que para la leucemia crónica linfocítica, pero entre 600 nm y 800 nm este comportamiento es muy diferente;  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  parecen comenzar a decrecer cerca de 800 nm en el caso de la leucemia mielógena, mientras que siguen aumentando en la leucemia linfocítica.

El comportamiento único de estas curvas debería hacer las leucemias crónicas distinguibles de los otros tipos de leucemia, y sus diferencias comenzando en 600 nm deberían hacerlas distinguibles entre sí.

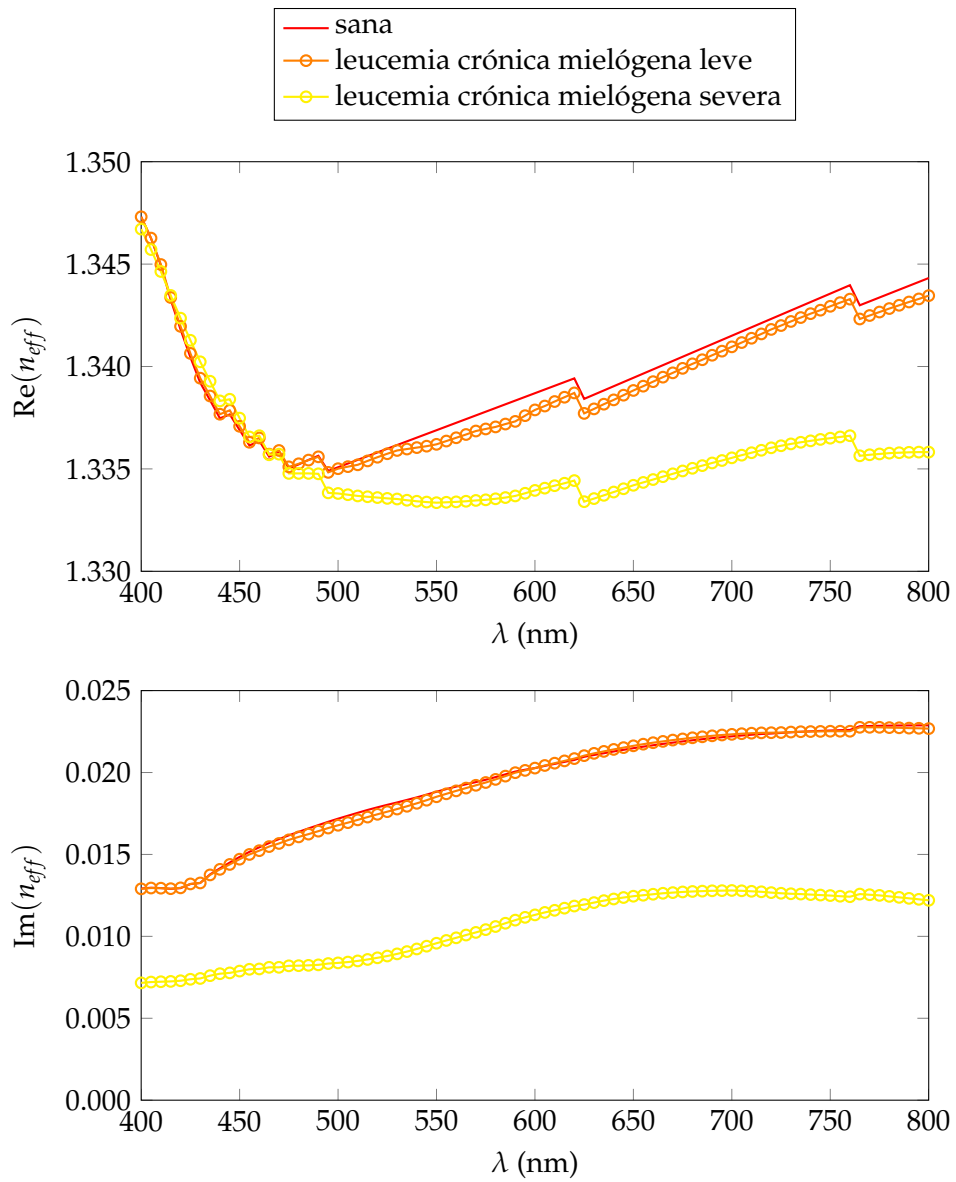


Figura 5.23. Las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con leucemia crónica mielógena. Nótese que cerca de 800 nm los valores de  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  correspondientes al caso más severo parecen comenzar a disminuir.

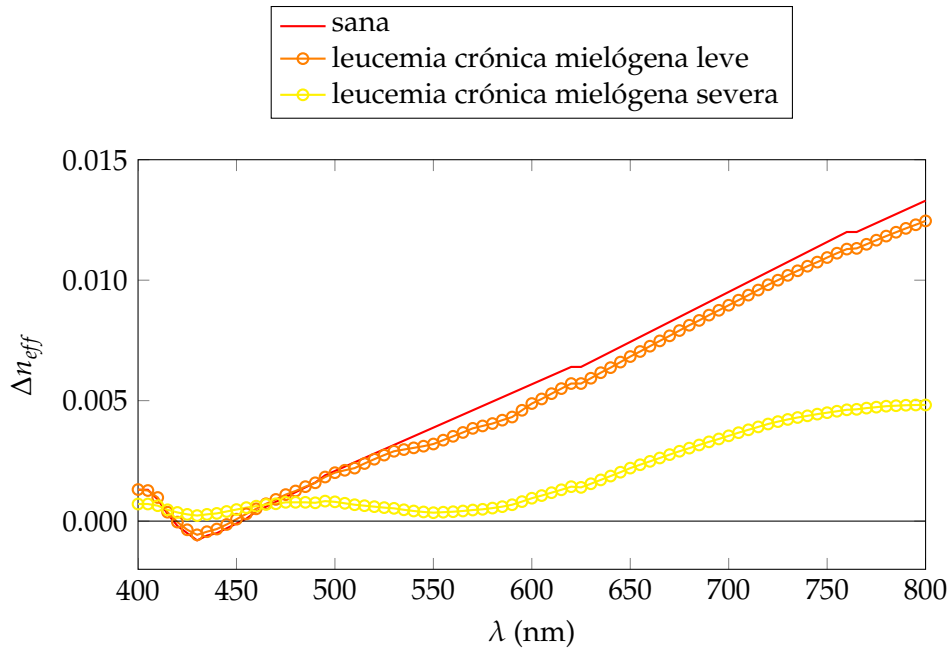


Figura 5.24.  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con leucemia crónica mielógena.

### Comparación de las enfermedades de los leucocitos

Como lo hicimos para los desórdenes de los eritrocitos, ahora presentamos una comparación de los tres desórdenes de leucocitos que hemos estudiado. Las curvas se muestran juntas en las figuras 5.25 y 5.26.

Al igual que en el caso de los desórdenes de los eritrocitos, existen algunas enfermedades de leucocitos que son fácilmente distinguibles del resto (y de la salud) y otras que son menos visibles. Nuevamente, mediciones tanto de  $\text{Re}(n_{eff})$  como de  $\text{Im}(n_{eff})$  a varias longitudes de onda son necesarias para realizar un diagnóstico apropiado.

Las leucemias crónicas severas son las más fáciles de diagnosticar porque sus curvas son muy diferentes de las otras curvas, especialmente en el caso de  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\Delta n_{eff}$ . Las dos pueden ser distinguidas entre sí mediante varias mediciones de cualquier parte del índice de refracción efectivo a longitudes de onda entre 620 nm y 800 nm. Por otro lado, si son más leves pueden ser más difíciles de diagnosticar adecuadamente, pues todas sus curvas se parecen más a las de la sangre sana. Mediciones de  $\text{Im}(n_{eff})$  a longitudes de onda cercanas a 800 nm podrían volver la leucemia crónica linfocítica distinguible de todas las otras enfermedades de leucocitos estudiadas y de la salud aún si es leve, pero la leucemia mielógena no tiene esta ventaja.

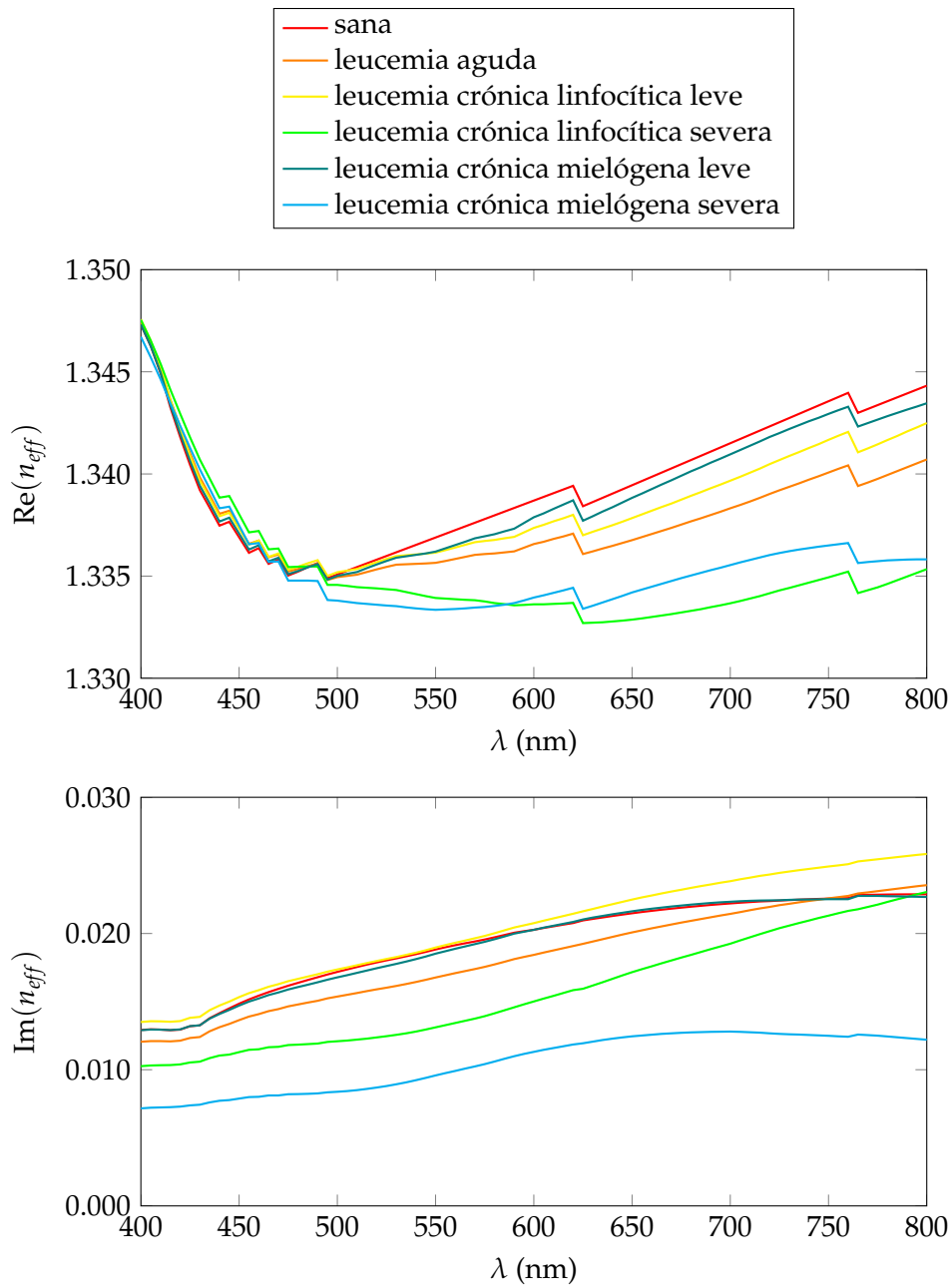


Figura 5.25. Gráficas comparativas de las partes real (arriba) e imaginaria (abajo) del índice de refracción efectivo de sangre sana y sangre con las enfermedades de leucocitos que hemos estudiado.



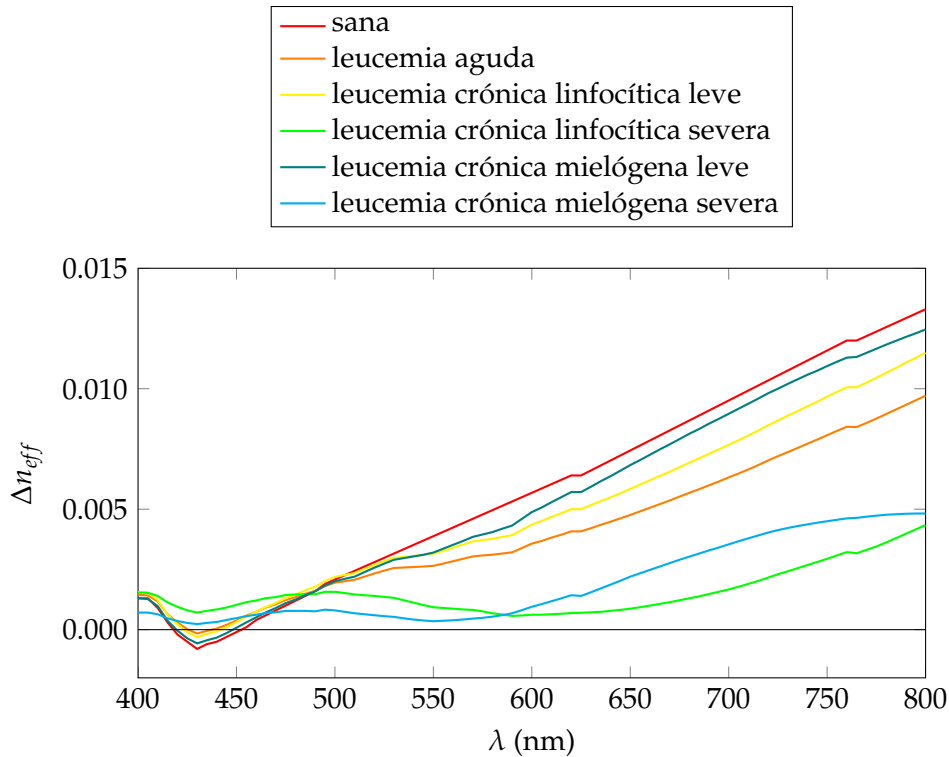


Figura 5.26. Gráfica comparativa de  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y sangre con las enfermedades de leucocitos que hemos estudiado.

La leucemia aguda puede ser distinguida de las leucemias crónicas mediante mediciones de  $\text{Im}(n_{eff})$  a varias longitudes de onda comenzando en 500 nm, especialmente alrededor de 800 nm, o mediante mediciones de  $\text{Re}(n_{eff})$  cerca de 800 nm.

Mediciones de  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  alrededor de 400 nm son esencialmente inútiles para diagnosticar cualquier tipo de leucemia excepto casos severos de cualquiera de las leucemias crónicas.

## 5.2 Enfermedades patogénicas

Los patógenos vienen en todos los tamaños y formas, desde absolutamente minúsculos (por ejemplo, moléculas tóxicas en el plasma sanguíneo) hasta tan grandes que son macroscópicos (como el parásito schistosoma mansoni, que puede alcanzar longitudes de 1 cm y grosores de 1 mm).<sup>14</sup> Sus propiedades también varían muchísimo. Afortunadamente, pueden ser agrupados de acuerdo con su tamaño y,

si un paciente está infectado con varios patógenos distintos, hay un orden muy específico en el cual sus contribuciones deben ser incorporadas al índice de refracción efectivo de la sangre. El procedimiento es el siguiente: primero se toma en cuenta el efecto de los patógenos más pequeños (moléculas) sobre  $n_m$  usando la ecuación de los incrementos específicos de refracción o la relación de Clausius-Mossotti, después se obtiene la contribución de los patógenos pequeños que tienen forma y tamaño definidos (como la mayoría de los virus, que tienen tamaños de algunas decenas de nanómetros) utilizando la ecuación 2.1.10, y finalmente se incorporan todas las otras partículas que existen en la sangre (mimivirus y megavirus, cuyo tamaño es del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la luz visible; pandoravirus, que alcanza un diámetro de alrededor de  $1 \mu\text{m}$ ; las bacterias, que tienen tamaños desde algunos cientos de nanómetros hasta varios cientos de micras; los parásitos, que tienen tamaños desde cerca de  $800 \mu\text{m}$  hasta  $1 \text{ cm}$ ; y, por supuesto, los tres tipos de célula sanguínea) simultáneamente usando el modelo de van de Hulst (con el método que uno prefiera para calcular la amplitud de esparcimiento en la dirección de incidencia) tomando  $n_m$  como el índice de refracción efectivo de una mezcla de plasma y los patógenos que fueron tratados con los modelos para partículas pequeñas.

La cantidad y la diversidad de los patógenos, aún si nos restringimos a un solo dominio (por ejemplo, virus suficientemente pequeños para ser tratables con la ecuación 2.1.10), son tan grandes que podríamos llenar una enciclopedia entera con gráficas de  $n_m$  y  $n_{eff}$  y una discusión de dichas gráficas. Como ejemplo de cómo un patógeno debe ser tratado, presentamos un análisis de la malaria.

## Malaria

Los protozoarios del género plasmodium causan malaria, una enfermedad caracterizada por periodos severos y alternantes de fiebre y frío y varios síntomas más peligrosos, algunos de los cuales pueden ser fatales si la enfermedad se complica. El parásito invade los eritrocitos, se desarrolla en varias fases y finalmente rompe los eritrocitos para salir al torrente sanguíneo. Existen varias especies de plasmodium, pero plasmodium falciparum es la especie responsable de la mayoría de los casos de malaria en humanos y también es la más estudiada, por lo que el siguiente análisis se realizó para esta especie.

Plasmodium falciparum es un parásito aproximadamente esférico cuyo tamaño es del mismo orden de magnitud que el de las células sanguíneas, por lo que el modelo de van de Hulst fue nuevamente utilizado para determinar su efecto sobre  $n_{eff}$ . Debido a la falta de datos sobre este parásito, sus dimensiones fueron calculadas del mismo modo que las de los eritrocitos deformados por anemia falsiforme. Se determinó que un plasmodium maduro es un esferoide prolato con semieje mayor  $c = 5.454 \mu\text{m}$  y semiejes menores  $a = 1.718 \mu\text{m}$ , mientras que los parásitos

que se encuentran en la fase de desarrollo, los cuales necesariamente se enroscan para poder caber en un eritrocito, fueron modelados como esferoides oblatos con semiejes mayores  $a = 2.475 \mu\text{m}$  y semieje menor  $1.718 \mu\text{m}$ . Los parásitos en desarrollo, que se alimentan de la hemoglobina en el interior de los eritrocitos, desechan una sustancia llamada hemozoína. La solución de hemozoína que queda en los eritrocitos infectados tiene un índice de refracción cercano al del plasma sanguíneo,<sup>15</sup> por lo que los eritrocitos infectados fueron modelados simplemente como los parásitos de plasmodium en su interior (asumiendo un solo parásito por eritrocito). El índice de refracción de un parásito de plasmodium falciparum<sup>15</sup> a  $633 \text{ nm}$  es  $n_{pf} = 1.433$ ; se asumió que es constante.

En ratones, un promedio de hasta 13.07% de los eritrocitos en el torrente sanguíneo pueden estar infectados por plasmodium; una infección del 15% invariablemente resulta en la muerte del ratón.<sup>16</sup> Asumimos que estas fracciones son similares en humanos. El número promedio de parásitos maduros en la sangre es<sup>17</sup> 2,797.031 por microlitro. De acuerdo con nuestros datos, el volumen del esferoide que representa a un parásito en desarrollo es  $44.0821 \mu\text{m}^3$  y el volumen del esferoide que representa a un parásito maduro es  $67.4295 \mu\text{m}^3$ . Asumiendo que 13.07% de los eritrocitos están infectados y que hay 2,797.031 parásitos maduros por microlitro, las fracciones de llenado de los parásitos en desarrollo y maduros son, respectivamente,  $f_{pf,d} = 0.0265$  y  $f_{pf,m} = 1.886 \times 10^{-4}$ . La fracción de llenado de los eritrocitos sanos es  $f_{ery} = 0.3912$ .

Las gráficas mostradas en las figuras 5.27 y 5.28 fueron obtenidas con las consideraciones anteriores.

El efecto de la malaria es evidentemente muy similar al de un caso relativamente leve de anemia. La contribución de los parásitos de plasmodium es menor que  $10^{-12}$  en la parte real del índice de refracción y del orden de  $10^{-6}$  en la parte imaginaria. Considerando que su fracción de llenado es alrededor de  $4.2 \times 10^{-4}$  veces la de los eritrocitos en la sangre sana, son aproximadamente igual de visibles que los eritrocitos sanos en la parte imaginaria de  $n_{eff}$ , aunque su contribución a la parte real de  $n_{eff}$  es esencialmente cero; son ligeramente menos tenues que un eritrocito sano y por lo tanto deberían tener un efecto más fuerte, por lo que creemos que su invisibilidad es una consecuencia del hecho de que una de sus dimensiones (su semieje mayor) es mucho más grande que las dimensiones de los eritrocitos sanos — casi dos veces mayores. Los parásitos en desarrollo tienen una contribución a  $\text{Re}(n_{eff})$  del orden de  $10^{-4}$  y una contribución a  $\text{Im}(n_{eff})$  del orden de  $10^{-3}$ , lo cual es razonable considerando que esto corresponde a un centésimo y un décimo (respectivamente) de la contribución de los eritrocitos al índice de refracción de la sangre sana y la fracción de llenado de los parásitos en desarrollo es unas 17 veces más pequeña que la de los eritrocitos en la sangre sana.

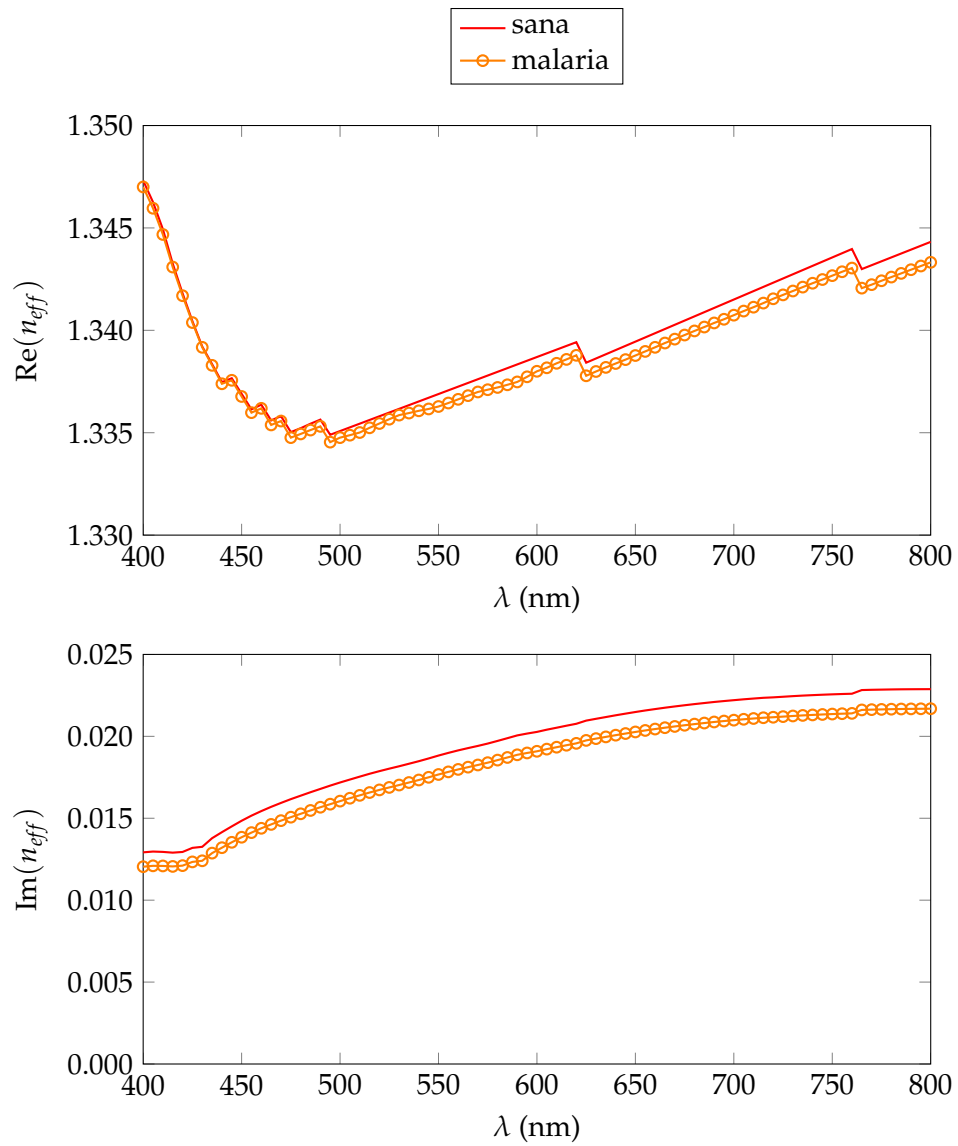


Figura 5.27. El índice de refracción de sangre infectada con *plasmodium falciparum*, el parásito que causa malaria. Nótese la similitud entre estas curvas y las de la anemia aplástica.

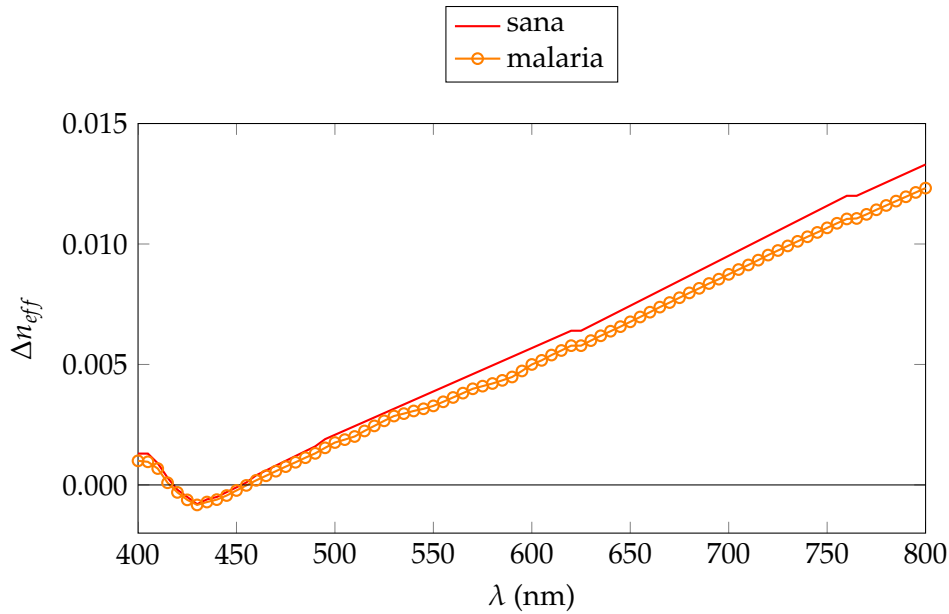


Figura 5.28.  $\Delta n_{eff}$  para sangre infectada con *plasmodium falciparum*, el parásito que causa malaria.

### Aumento del número de leucocitos por la presencia de patógenos

Algo que fue ignorado en el análisis de la malaria realizado aquí y que debe ser tomado en consideración en cualquier estudio futuro del efecto de una infección sobre  $n_{eff}$  es el hecho de que la presencia de patógenos en el torrente sanguíneo usualmente provoca un aumento en el número de leucocitos. Mientras que tal aumento en  $f_{leu}$  siempre será mucho más pequeño que en la leucemia y no necesariamente causará una reducción de  $f_{ery}$ , en el caso de infecciones severas podría ser suficientemente grande para ser detectable en las curvas de  $n_{eff}$ .

## 5.3 Comparación de las enfermedades estudiadas

Las figuras 5.29 y 5.30 comparan la mayoría de las enfermedades estudiadas; la esferocitosis se ha omitido porque hemos establecido que sería casi imposible diagnosticarla utilizando el método presentado en este trabajo, y las formas más leves de todas las enfermedades se han omitido para evitar llenar las gráficas con demasiadas curvas.

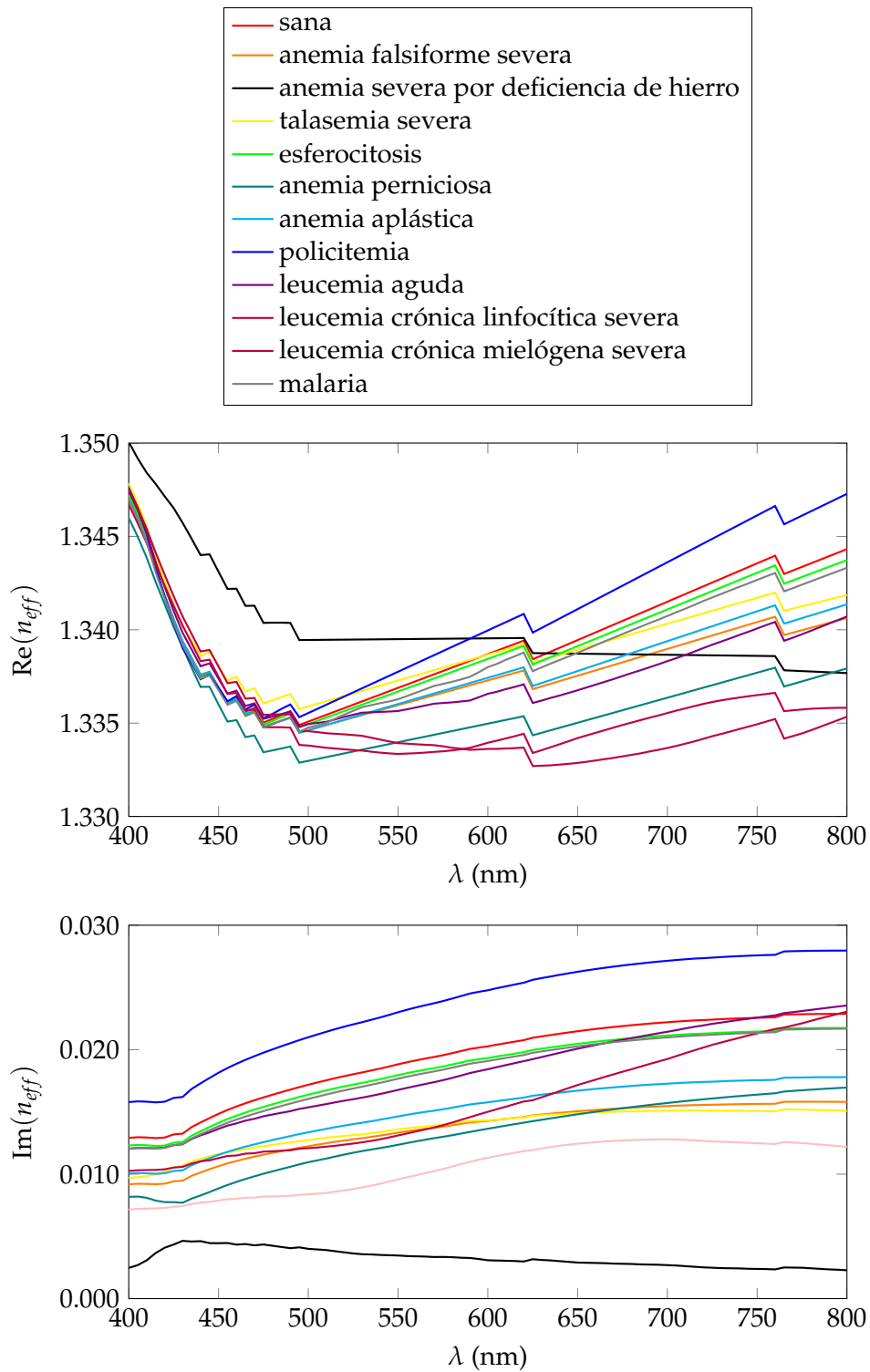


Figura 5.29. Gráficas comparativas del índice de refracción de sangre entera para los casos de sangre sana y de todas las enfermedades estudiadas en este trabajo excepto esferocitosis. Para las enfermedades en las que hemos hecho distinciones entre diferentes grados de severidad, solamente se presentan las curvas correspondientes a los casos más severos.

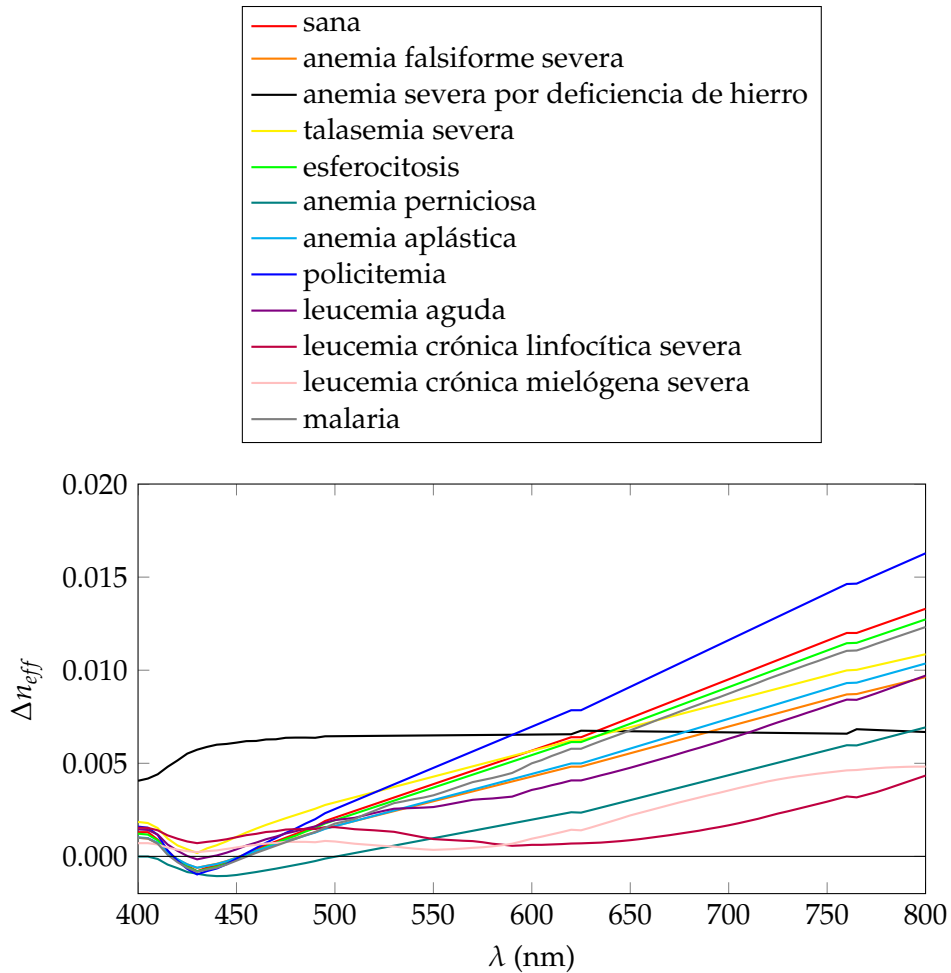


Figura 5.30. Gráfica comparativa de  $\Delta n_{eff}$  para sangre sana y para todas las enfermedades estudiadas en este trabajo excepto esferocitos. Para las enfermedades en las que hemos hecho distinciones entre diferentes grados de severidad, solamente se presentan las curvas correspondientes a los casos más severos.

Hemos ya hecho comentarios sobre la distinguibilidad de las enfermedades de eritrocitos entre sí y sobre la de las enfermedades de leucocitos entre sí, por lo que restringiremos el análisis que se hace a continuación a la cuestión de la distinguibilidad de las enfermedades de diferentes “categorías” (enfermedades de eritrocitos, enfermedades de leucocitos y enfermedades patogénicas).

Como se ha mencionado anteriormente, la malaria se parece a un caso leve de anemia aplásica excepto por el hecho de que la diferencia entre la curva de  $\text{Im}(n_{eff})$  de sangre sana y la de malaria cerca de 800 nm es un tanto mayor que la

diferencia entre la de sangre sana y la de anemia aplásica leve. No es probable que este método sea demasiado útil para diagnosticar malaria de forma inequívoca.

Todas las curvas correspondientes a tipos de leucemia, especialmente las de los casos severos de leucemia crónica, son, cualitativamente, suficientemente distintas de las curvas correspondientes a las enfermedades de eritrocitos para que este modelo pueda diagnosticar efectivamente cualquier forma de leucemia.

#### 5.4 Comentarios finales: $n_{eff}$ como herramienta médica

Hemos visto que el método derivado en este trabajo —el de obtener las partes real e imaginaria del índice de refracción de la sangre entera para varias longitudes de onda y comparar las curvas resultantes a las de la sangre sana— es capaz de diagnosticar la sangre de un paciente en cierta medida. Obviamente, este método está restringido a enfermedades que afecten las componentes de la sangre y/o introduzcan un nuevo tipo de partícula. En la mayoría de los casos, la mejor elección parece ser medir cerca de 800 nm, aunque existen excepciones a esta regla y en todos los casos es necesario realizar mediciones a varias longitudes de onda; las mediciones cerca de 500 nm no tienen, en general, gran utilidad, lo cual es afortunado considerando lo difícil que es realizarlas (como se menciona en el capítulo 6).

Aunque algunas enfermedades (como la esferocitosis) son prácticamente invisibles y otras (como la anemia falsiforme y la talasemia) están agrupadas en conjuntos que son distinguibles de otras enfermedades pero no entre sí, la utilidad práctica del modelo no puede ser ignorada; el trabajo realizado podría permitir un diagnóstico parcial de la sangre entera en una forma no-destructiva, rápida y económica, y extensiones futuras que incluyan todo el material que yace entre la sangre y el exterior del cuerpo humano —las paredes de los vasos sanguíneos, la grasa, los músculos y la piel— permitirían que el diagnóstico fuera no-invasivo también. Por consiguiente, este método de diagnóstico de sangre tiene el potencial de convertirse en un método superior a todos los que son usados en la actualidad.

Existen ya ejemplos de métodos ópticos de diagnóstico que tienen utilidad práctica. Por ejemplo, los oxímetros son aparatos capaces de determinar la oxigenación de la sangre midiendo la absorbancia (que está directamente relacionada con la parte imaginaria del índice de refracción) de la sangre arterial a dos longitudes de onda diferentes;<sup>18</sup> tal procedimiento es no-invasivo, no-destructivo e inmediato. Este trabajo se ha enfocado en crear un mecanismo mediante el cual más de una condición puede ser diagnosticada y presentar ejemplos de cómo se verían los datos obtenidos y cómo interpretarlos.

Hasta que los refractómetros con mayor precisión se vuelvan económicos y fácilmente disponibles y hasta que este método se extienda para tomar en cuenta el material entre la sangre y el exterior del cuerpo, el método será más efectivo cuando



se utilice en conjunto con otras pruebas de sangre. Por ejemplo, una medición del hematocrito (por centrifugación de sangre o algún otro mecanismo) podría permitirnos distinguir entre anemia aplásica leve y esferocitosis; por otro lado, esa prueba no nos permitiría distinguir propiamente entre distintos tipos de anemia cuando el hematocrito es similar en ellos (por ejemplo, anemia perniciosa y talasemia), mientras que nuestro método puede distinguir entre ellos. Es verdad que la unión hace la fuerza, y, aunque nuestro objetivo final es investigar si el índice de refracción efectivo de la sangre humana es sensible a diferentes enfermedades (lo cual nos permitiría crear un modelo capaz de sostenerse solo), por ahora es mejor utilizar este modelo como una medición complementaria o como la primera en una serie de pruebas que reduzcan el número de candidatos a la enfermedad que un paciente padece hasta que dicha enfermedad sea identificada inequívocamente.

## 5.5 Referencias

1. Liu S-C, Derick L H & Palek J: *Dependence of the deformation of red blood cell membranes on spectrin dimer-tetramer equilibrium: implication for permanent membrane deformation of irreversibly sickled cells*; *Blood* 81(2) (1993); 522–528
2. Vayo H W: *Model geometries for sickled erythrocytes*; *Bulletin of Mathematical Biology* 49(4) (1987); 403–411
3. Rabai M: *In vitro hemorheological studies focusing on erythrocyte deformability and aggregation: PhD dissertation*; Universidad de Pecs (2012); 33
4. Demaeyer E M, Dallman P, Gurney J M, Hallberg L, Sood S K & Srikantia S G: *Preventing and controlling iron-deficiency anaemia through primary health care: a guide for health administrations and programme managers*; Organización Mundial de la Salud (1989); 8–9
5. Kunnamo I: *Evidence-based medicine guidelines*; John Wiley & Sons Ltd (2005); 489
6. Kern W F: *PDQ hematology*; BC Decker, Inc (2002); 96
7. Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, Marcello A P, Porretti L, Cortelezzi A, Barcellona W & Zanella A: *Diagnostic power of laboratory tests for hereditary spherocytosis: a comparison study in 150 patients grouped according to molecular and clinical characteristics*; *Haematologica* 97(4) (2012); 516–523
8. Bradley K T & Perkins S L: *Hereditary spherocytosis* (2012); [cap.org/apps/docs/committees/hematology/educational\\_activities\\_2012\\_vpbs-b.pdf](http://cap.org/apps/docs/committees/hematology/educational_activities_2012_vpbs-b.pdf)

9. Esparza M, Loza K P, Peralta P & Salcedo D: *Anemias macrocíticas* (consultada en 2014); [slideshare.net/mobile/DasOnRoad/anemias-daniel-salcedo-completo-numero-2](http://slideshare.net/mobile/DasOnRoad/anemias-daniel-salcedo-completo-numero-2)
10. Focosi D: *Homo sapiens diseases — alterations in red blood cells (RBCs)* (2005); [nfrgs.br/imunovet/molecular\\_immunology/pathohomotissueblood\\_RBC.html](http://nfrgs.br/imunovet/molecular_immunology/pathohomotissueblood_RBC.html)
11. Wallach J: *Interpretation of diagnostic tests*; Lippincott Williams & Wilkins (séptima edición, 1999); capítulo 11
12. Gauss C F: *Besprechung des Buchs von L. A. Seeber: Untersuchungen über die Eigenschaften der positiven ternären quadratischen Formen usw.*; Göttingische Gelehrte Anzeigen 2 (1831); 188–196
13. Bezdek A & Kuperberg W: *Applied geometry and discrete mathematics, volume four*; capítulo sobre empacamiento del espacio euclidiano con cilindros congruentes y con elipsoides congruentes; The American Mathematical Society (1991); 71–80
14. Machado-Silva J R, Galvão C, de Oliveira R M, Presgrave O A & Gomes D C: *Schistosoma mansoni sambon, 1907: comparative morphological studies of some Brazilian strains*; Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 37(5) (1995); 441-447
15. Park YK, Diez-Silva M, Popescu G, Lykotrafitis G, Choi W, Feld M S & Suresh S: *Refractive index maps and membrane dynamics of human red blood cells parasitized by plasmodium falciparum*; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105(37) (2008); 13730–13735
16. Blandin S A & Levashina E A: *Reverse genetics analysis of antiparasitic responses in the malaria vector, anopheles gambiae*; Methods in Molecular Biology 415 (2008); 365–377
17. Aslan G, Seyrek A, Kocagoz T, Ulukanlıgil M, Erguven S & Gunalp A: *The diagnosis of malaria and identification of plasmodium species by polymerase chain reaction in Turkey*; Parasitology International 56 (2007); 217–220
18. Matthes K: *Untersuchungen über die Sauerstoffsättigung des menschlichen Arterienblutes*; Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 179(6) (1935); 698–711

## Capítulo 6

# Resultados experimentales

Los experimentos son tan importantes como la teoría en la ciencia; una teoría sin prueba experimental no tiene utilidad.

Para poner a prueba la validez de nuestros resultados teóricos, realizamos un experimento sencillo. Este experimento solamente se enfocó en una pequeña fracción de la teoría contenida en este trabajo; muchas más pruebas son necesarias antes de poder estimar la utilidad y la veracidad de nuestras predicciones.

### 6.1 Consideraciones iniciales

La forma más común de determinar la parte real del índice de refracción  $n_1$  de una sustancia es con un refractómetro de Abbe. Luz difusa ilumina la interfase entre la sustancia y un prisma con índice de refracción  $n_2$  tal que  $\text{Re}(n_2) > \text{Re}(n_1)$ . La luz transmitida por la sustancia ilumina una región cónica cuyo ángulo de apertura es el ángulo crítico de la interfase. Al medir este ángulo,  $\text{Re}(n_1)$  puede ser obtenida si  $\lambda$  y  $\text{Re}(n_2)$  son conocidas. La figura 6.1 ilustra este mecanismo.

El refractómetro de Abbe, aunque bastante útil en muchos casos, tiene limitaciones importantes cuando es utilizado con una sustancia que esparce luz muy fuertemente. Tal sustancia puede reducir la nitidez de la frontera entre las regiones oscura e iluminada; el ángulo más pequeño al que no hay luz transmitida ya no necesariamente es el ángulo crítico, lo cual conduce a mediciones incorrectas del índice de refracción.<sup>1</sup> En este caso, el índice de refracción medido será mayor que el verdadero.

Este problema puede ser eliminado reduciendo el grosor de la sustancia, lo cual disminuye la extinción de la luz en suficiente medida para que las mediciones vuelvan a ser correctas. Una forma alternativa de eliminarlo es utilizar un refractómetro tipo Abbe en el que la luz detectada es esparcida de regreso al prisma en lugar de ser transmitida por la sustancia (véase la figura 6.2);<sup>1</sup> con un arreglo

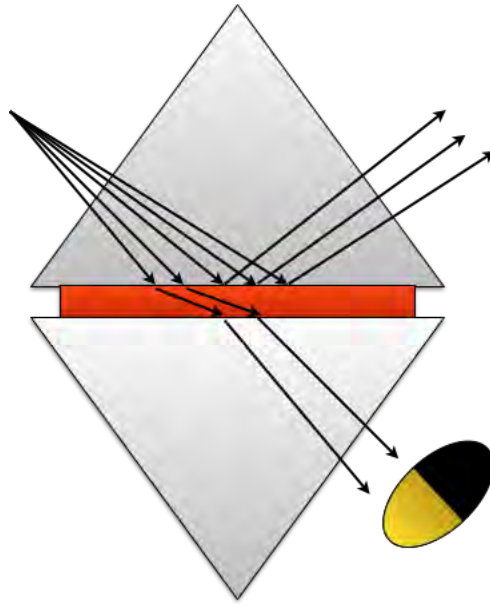


Figura 6.1. Representación esquemática de un refractómetro de Abbe. Para ángulos menores al crítico, la luz es refractada e ilumina la región ovalada en la parte inferior derecha del esquema; para ángulos mayores al crítico, la luz sufre reflexión total interna y el óvalo está oscuro.

óptico como éste, el grosor de la sustancia es irrelevante y la frontera entre las regiones oscura e iluminada puede ser determinada más fácilmente aún para sustancias que esparcen luz fuertemente. Éste es, por lo tanto, el tipo de refractómetro que utilizamos en nuestro experimento.

## 6.2 Descripción del experimento

Extrajimos sangre de tres pacientes; anteriormente se había demostrado mediante otras pruebas que los tres estaban en condiciones sanas. Las tres muestras de sangre fueron extraídas casi simultáneamente, colocadas en tubos con anticoagulante y refrigeradas durante un día antes de comenzar las pruebas. La sangre de cada paciente fue posteriormente dividida en cuatro muestras, cada una diluida en agua a una concentración distinta:  $C = 1$ ,  $C = 1/2$ ,  $C = 1/3$  y  $C = 1/4$ , donde  $C = V_{sangre} / (V_{agua} + V_{sangre})$  es la concentración de la sangre en cada dilución,  $V_{sangre}$  es el volumen de sangre y  $V_{agua}$  es el volumen de agua. Es importante notar

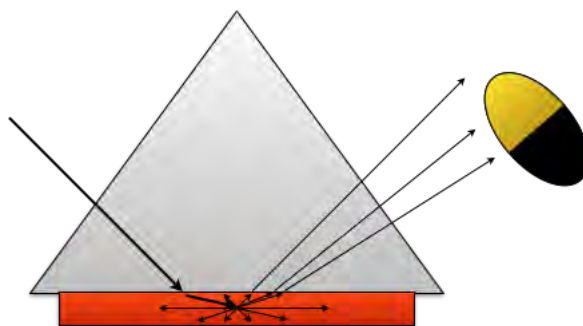


Figura 6.2. Representación esquemática de un refractómetro tipo Abbe que es útil aún para sustancias que esparcen luz fuertemente.

en este momento que la sangre es simplemente agua con muchos tipos de átomos y moléculas en solución y tres tipos de célula; el único efecto de diluir la sangre en agua es, por consiguiente, disminuir las fracciones de llenado de todas las componentes de la sangre. Podemos entonces estar seguros de que, aunque estamos abandonando cualquier posibilidad de exactitud numérica, la naturaleza cualitativa de nuestras mediciones reflejarán la de la sangre pura (no-diluida).

Las pruebas consistieron en medir la parte real del índice de refracción de cada muestra de sangre con un refractómetro tipo Abbe como el descrito anteriormente. Las mediciones se realizaron a 633 nm; se intentó realizar mediciones a 537 nm, pero los resultados fueron difíciles de obtener e inconsistentes entre sí (si  $n_{eff}$  era mayor a 537 nm o a 633 nm dependía de cuál de los pacientes había donado la muestra).

Como pruebas complementarias, intentamos medir la parte real de  $n_{eff}$  a 650 nm con un refractómetro de Abbe estándar y la parte imaginaria de  $n_{eff}$  utilizando un espectrofotómetro.

Nuestros objetivos principales al realizar este experimento eran mostrar que es posible realizar mediciones en sangre entera y poner a prueba la validez de algunos de los resultados teóricos presentados en el capítulo 4. Un objetivo secundario era determinar la mayor concentración de sangre a la cual es posible realizar mediciones razonables en caso de que esto fuera imposible en sangre sin diluir.

### 6.3 Resultados

Como era de esperarse por la discusión anterior, las mediciones con el refractómetro de Abbe estándar produjeron resultados falsos, con las mediciones de la parte

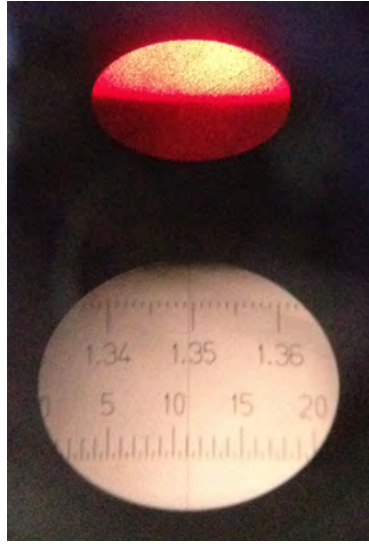


Figura 6.3. Fotografía de la medición con el refractómetro de Abbe estándar para la muestra con  $C = 1/4$  del paciente 2 a 650 nm.

real de  $n_{eff}$  mayores para todas las muestras que las mediciones obtenidas con el refractómetro tipo Abbe (el segundo menor valor medido con el refractómetro estándar para las muestras con  $C = 1/4$  fue  $1.3495 \pm 0.0005$ , mientras que el mayor valor medido con el refractómetro tipo Abbe para las muestras con  $C = 1/2$ , todas las cuales deberían tener un índice de refracción mayor que las muestras más diluidas, fue  $1.349 \pm 0.000245$ ); aunque, como se muestra en la figura 6.3, parece haber una frontera más o menos clara entre las regiones iluminada y oscura, la medición es errónea debido a la enorme parte imaginaria del índice de refracción de la sangre. Es verdad que nuestro modelo predice dispersión anómala en esta región del espectro visible y que utilizamos una longitud de onda mayor con el refractómetro de Abbe estándar que con el refractómetro tipo Abbe, pero, si las mediciones realizadas con el refractómetro estándar fueran correctas, la diferencia entre ellas y las realizadas con el refractómetro tipo Abbe serían muy pequeñas por la cercanía entre las dos longitudes de onda.

Los resultados obtenidos con el refractómetro tipo Abbe se muestran en la figura 6.4. Los datos de sangre pura no se muestran porque tuvimos muchos problemas obteniéndolos y no estamos seguros de que sean confiables.

Las mediciones de  $\text{Im}(n_{eff})$  produjeron resultados extremadamente pequeños;

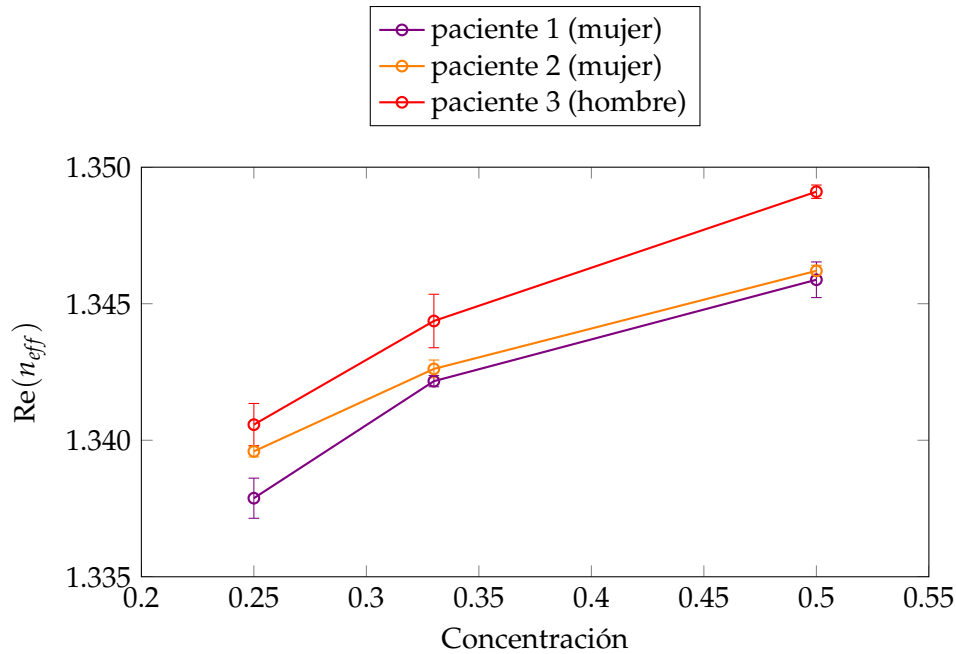


Figura 6.4. Resultados obtenidos con el refractómetro tipo Abbe. Los datos claramente muestran que la parte real del índice de refracción es mayor para la sangre de nuestro paciente hombre que para nuestras pacientes mujeres.

medimos índices de refracción varios órdenes de magnitud menores que lo que esperábamos medir. Sabemos que estos resultados son incorrectos porque una sustancia cuyo índice de refracción tuviera una parte imaginaria tan pequeña no extinguiría la luz tan eficientemente como lo hace la sangre; intentos de mediciones por interferometría hechos por nosotros anteriormente muestran que la sangre debe tener un índice de refracción con una parte imaginaria del orden de por lo menos  $10^{-2}$  (lo cual es consistente con nuestros resultados teóricos). Existen varias razones posibles para las mediciones tan pequeñas de  $\text{Im}(n_{\text{eff}})$ , la más probable de las cuales es que, puesto que (como posteriormente descubrimos) los eritrocitos de las muestras se sedimentaron más rápidamente de lo que habíamos anticipado, estábamos midiendo la parte imaginaria del índice de refracción de plasma sanguíneo con un número de eritrocitos drásticamente disminuido.

## 6.4 Discusión

La gráfica en la figura 6.4 muestra claramente que, para todas las concentraciones, la parte real del índice de refracción de la sangre de nuestro paciente hombre es mayor que las partes reales de los índices de refracción de la sangre de nuestras pacientes mujeres. Esto es consistente con el hecho de que, en promedio, los hombres tienen un hematocrito mayor que el de las mujeres y con las condiciones saludables de nuestros pacientes. Estamos conscientes de que 3 no es un número estadísticamente significativo de mediciones, pero los resultados son prometedores.

Como se discutió anteriormente, los refractómetros de Abbe estándar no están bien adecuados a mediciones del índice de refracción de sustancias que esparcen luz fuertemente, como lo es la sangre. Una forma de adecuarlos mejor a este tipo de mediciones es ajustar el grosor de la muestra, pero una solución más sencilla es utilizar un refractómetro tipo Abbe como el descrito al inicio de este capítulo.

Nuestro resultado más importante es que la parte real del índice de refracción de la sangre entera es medible. Hemos mostrado que es posible realizar mediciones de alta precisión en diluciones en las que la concentración de la sangre es tan alta como 50% utilizando un refractómetro tipo Abbe (las incertidumbres fueron del orden de  $10^{-4}$ , suficientemente pequeñas para poder distinguir entre nuestras curvas para las diferentes enfermedades de la sangre que estudiamos); es casi imposible realizar mediciones en sangre no-diluida, o por lo menos lo fue para nosotros, y las mediciones de la parte imaginaria del índice de refracción también son extremadamente difíciles, al menos por espectroscopía.

Obviamente, nos faltan datos para longitudes de onda distintas de 633 nm, las cuales son absolutamente esenciales para poder realizar diagnóstico diferencial. Por lo tanto, nos fue imposible poner a prueba la validez de muchos de nuestros resultados teóricos. Es excepcionalmente difícil hacer mediciones a 537 nm, pues es sabido que la sangre absorbe la luz fuertemente cerca de esa longitud de onda, pero, como se ha mencionado anteriormente, la región alrededor de 500 nm casi carece de utilidad en lo que se refiere al diagnóstico de sangre por nuestro método.

Nuestras mediciones de  $\text{Re}(n_{\text{plasma}})$  fueron  $1.348 \pm 0.0005$  para los pacientes 1 y 3 y  $1.352 \pm 0.001$  para el paciente 2. Esto es mayor que el valor de  $n_{\text{plasma}}$  alrededor de 635 nm que utilizamos en los capítulos 4 y 5, pero, como explicamos en el capítulo 4, el índice de refracción del plasma puede variar considerablemente y la naturaleza cualitativa de nuestras predicciones permanecerá igual a pesar de estas variaciones. Podemos utilizar los datos de las muestras con  $C = 1/2$  y suponer que  $f_{\text{ery}} = 0.20$  para los pacientes 1 y 2 y  $f_{\text{ery}} = 0.225$  para el paciente 3 (recuérdese que la sangre estaba diluida en agua); si hacemos esto, podemos obtener  $\Delta n_{\text{eff}} / f_{\text{ery}}$  para cada paciente. La siguiente tabla muestra los resultados de esto:



Paciente	$n_m$	$\Delta n_{eff} / f_{ery}$
1	1.3380	0.0394
2	1.3395	0.0335
3	1.3377	0.0508

El promedio de  $\Delta n_{eff} / f_{ery}$  es entonces 0.0412; los resultados del capítulo 4 predicen  $\Delta n_{eff} / f_{ery} = 0.0152$  a 635 nm (0.0149 a 633 nm si extrapolamos los datos correspondientes a 630 nm y 635 nm), pero esto es para eritrocitos orientados aleatoriamente. Si asumimos que todos los eritrocitos están orientados horizontalmente (lo cual es probable que haya ocurrido durante las mediciones estaban siendo realizadas por simple efecto de la gravedad), nuestro modelo predice  $\Delta n_{eff} / f_{ery} = 0.0407$  a 633 nm. Por completez, eritrocitos verticales producen  $\Delta n_{eff} / f_{ery} = -0.0049$ . Concluimos, entonces, que los eritrocitos se acomodaron en una posición horizontal mientras el experimento se llevaba a cabo.

## 6.5 Referencias

1. García-Valenzuela A & Contreras-Tello H: *Optical model enabling the use of Abbe-type refractometers on turbid suspensions*; Optics Letters 38(5) (2013); 775–777

## Capítulo 7

# Conclusiones

Comenzamos estudiando cómo el índice de refracción efectivo de la sangre entera es afectado por todas las variables de las componentes de la sangre, y terminamos con la descripción de un método para tomar en cuenta todas las variables y caracterizar completamente este índice de refracción. Más aún, estudiamos ejemplos de algunas de las enfermedades más importantes que afectan a los eritrocitos y los leucocitos y una enfermedad patogénica importante, la malaria, y aprendimos a realizar diagnóstico diferencial utilizando únicamente mediciones de las partes real e imaginaria del índice de refracción de la sangre a distintas longitudes de onda. Vimos que en algunos casos es imposible discriminar entre dos o más condiciones, mientras que algunas enfermedades tienen perfiles de índice de refracción de sangre tan únicos que pueden ser distinguidas fácilmente. Finalmente, explicamos que, por ahora, el método esbozado en este trabajo debe ser utilizado en conjunto con pruebas de sangre existentes.

El diagnóstico de la sangre entera no es trivial. Distintas componentes y distintos patógenos entran en distintos regímenes ópticos, pues sus tamaños en relación con la longitud de onda de la luz utilizada para medir es de importancia vital al determinar cuál teoría usar para calcular  $n_{eff}$ . Las partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda deben ser estudiadas con la relación de Clausius-Mossotti, la ecuación de los incrementos específicos de refracción o la ecuación 2.1.10, dependiendo de si tienen un volumen definido o no y, en caso de que no lo tengan, cuáles de sus propiedades son conocidas. Las partículas más grandes son modeladas apropiadamente por la teoría de van de Hulst, aunque existen varios métodos para calcular la amplitud de esparcimiento de la luz en la dirección de incidencia, de la cual la teoría depende; diferentes métodos son apropiados bajo distintas condiciones. El orden en el que todas estas partículas deben ser tomadas en cuenta es muy específico, y frecuentemente deben hacerse aproximaciones o suposiciones.

Nuestros resultados teóricos muestran que los distintos tipos de célula tienen

efectos cualitativamente y cuantitativamente distintos sobre el índice de refracción de la sangre. Podemos concluir que el tamaño de las partículas tiene un efecto muy grande sobre esta cantidad y que parámetros como la forma y el índice de refracción de las partículas juegan un papel menor pero también significativo. Más aún, las consecuencias fisiológicas de diversas enfermedades causan diferencias en el índice de refracción de la sangre que en algunos casos, como en el de la anemia por deficiencia de hierro, el de la anemia perniciosa y el de las leucemias crónicas graves, son suficientemente drásticas para permitir un diagnóstico. En otros casos, como la mayoría de los otros tipos de anemia, las diferencias son principalmente cuantitativas y son del orden de  $10^{-3}$  en ambas partes (real e imaginaria) el índice de refracción de la sangre, lo cual dificulta mucho el diagnóstico de estas enfermedades;  $10^{-3}$  está justamente en el límite de resolución de la mayoría de los refractómetros comerciales, y las variaciones naturales del índice de refracción de la sangre de un individuo como causa de la variación de la composición del plasma sanguíneo en periodos de tiempo muy cortos, así como las diferencias entre el índice de refracción de la sangre de individuos con las mismas condiciones médicas (de salud o enfermedad), seguramente opacarán estas diferencias causadas por enfermedades. La siguiente tabla muestra un resumen de cuáles enfermedades son diagnosticables por índice de refracción y cuáles no lo son; verde significa fácilmente diagnosticable, amarillo significa diagnosticable solamente en los casos más severos, y rojo significa no diagnosticable con nuestro método.

Enfermedad	Diagnosticable?
Anemia falsiforme	no
Anemia por deficiencia de hierro	sí
Talasemia	no
Esferocitosis	no
Anemia perniciosa	sí
Anemia aplásica	no
Policitemia	sí
Leucemia aguda	no
Leucemia crónica linfocítica	en casos severos
Leucemia crónica mielógena	en casos severos
Malaria	no

Las diferencias entre el índice de refracción de la sangre enferma y el de la sangre sana parecen aumentar con la longitud de onda. La aproximación que empleamos para calcular la amplitud de espaciamiento de las células sanguíneas no nos permite calcular el índice de refracción de la sangre mucho más allá de 800 nm, pero, si la tendencia creciente de estas diferencias se mantiene (cosa que es necesario explorar en trabajos futuros y en ampliaciones a este método), es posible que

las diferencias se vuelvan suficientemente grandes para permitir el diagnóstico de las enfermedades que aquí concluimos que no son fácilmente distinguibles.

A primera vista, podría parecer sencillo utilizar luz de una longitud de onda muy corta o muy larga y utilizar una sola teoría para todos los tipos de partícula que pueden existir en el torrente sanguíneo. Sin embargo, el uso de luz fuera del espectro visible conlleva muchos problemas, algunos de los cuales vencen el propósito de crear un modelo como éste para diagnosticar sangre: la luz ultravioleta es absorbida demasiado eficientemente por el tejido biológico para que éste permanezca intacto, y la condición de partícula grande no se satisface para longitudes de onda muy grandes, obligándonos a utilizar algún otro método para calcular  $S(0)$ . La luz visible tiene la ventaja de que ninguno de estos fenómenos ocurre, y los espectros de  $n_{eff}$  de la sangre sana y la sangre con muchas enfermedades son complicados y ricos en información en el intervalo entre 400 nm y 800 nm.

Nuestros resultados experimentales muestran que es posible realizar mediciones en sangre entera diluida a una concentración del 50%, lo cual implica que es factible llevar a cabo tanto experimentos para poner a prueba nuestro modelo como experimentos para detectar enfermedades; uno simplemente necesita utilizar el equipo adecuado, pues un refractómetro de Abbe estándar, cualquier aparato que realice mediciones basadas en reflectancia y todos los interferómetros de luz coherente son inútiles para este propósito.

Aún queda mucho trabajo por hacer. La parte más importante de este trabajo es extender el modelo para poder tomar en cuenta (y ultimadamente ignorar) el material que se encuentra entre el torrente sanguíneo y el exterior del cuerpo del paciente, donde un detector se colocaría. Solamente entonces puede este modelo verdaderamente ser no-invasivo y, por lo tanto, mejor en todos los sentidos que todas las otras pruebas de sangre. Alternativamente, si uno quisiera estudiar e intentar diagnosticar enfermedades afectando, por ejemplo, las paredes de los vasos sanguíneos, uno podría elegir extender el modelo de tal forma que los datos obtenidos no ignoraran la presencia de las paredes; ése, sin embargo, es otro tipo de trabajo, pues uno ya no estaría trabajando puramente con mezclas de partículas suspendidas en un medio de fondo. Otras líneas de trabajo que quedan y podrían continuar extendiendo y perfeccionando el modelo incluyen el estudio de enfermedades no tratadas aquí. Se ha determinado que los desórdenes de los trombocitos son indetectables utilizando solamente el índice de refracción efectivo de la sangre, pero la mayoría de las otras enfermedades deberían tener efectos visibles sobre el índice de refracción. En cuanto a experimentos, es necesario realizar cantidades estadísticamente significativas de mediciones de  $\text{Re}(n_{eff})$  y  $\text{Im}(n_{eff})$  en pacientes sanos y en pacientes enfermos para poner a prueba la validez de nuestros resultados numéricos para sangre sana y nuestros resultados numéricos y cualitativos para sangre enferma.