

## MÁS ALLÁ DEL FOCO ACÚSTICO: AMPLIANDO EL CAMPO DE VISIÓN DE LA IMAGEN EN MICROSCOPIA FOTOACÚSTICA

Javier A. Navarro-Calvo<sup>1\*</sup>, Juan J. García-Garrigós<sup>1</sup>, Alejandro Cebrecos<sup>1</sup>, Adrián Arándiga<sup>1</sup>,  
José L. Alonso-Ramos<sup>1</sup>, Francisco Camarena<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Instrumentación para Imagen Molecular (i3M),  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) - Universitat Politècnica de València (UPV), España.  
\*janacal@i3m.upv.es

### Resumen

La microscopía fotoacústica de resolución óptica (OR-PAM) es una innovadora técnica de imagen biomédica que proporciona información de agentes de contraste endógenos tales como la hemoglobina o la melanina. El presente trabajo se enmarca en el desarrollo de un prototipo OR-PAM de bajo coste que utiliza un sistema de espejos para escanear el foco láser rápidamente manteniendo el transductor focalizado estático, disminuyendo así el tiempo de adquisición total. Esta configuración provoca que el campo de visión se vea restringido al tamaño del foco acústico. Así, se propone un nuevo método que permite ampliar dicho campo de visión empleando un algoritmo de inversión de un modelo que tiene en cuenta la respuesta al impulso espacial (SIR) del transductor en cada punto del espacio, la cual ha de ser calibrada previamente. Se ha realizado un estudio experimental y se ha comparado con resultados de simulación utilizando el nuevo dispositivo OR-PAM en distintos *phantoms* de imagen. Se ha demostrado que este novedoso enfoque puede ampliar el campo de visión de la imagen más allá del foco acústico del transductor, mejorando y homogeneizando la señal a ruido en un área de más de 1 mm<sup>2</sup>, facilitando así la aplicación de este tipo de sistemas en la práctica clínica.

**Palabras clave:** imagen fotoacústica, OR-PAM, ultrasonidos, inversión directa.

### Abstract

Optical resolution photoacoustic microscopy (OR-PAM) is an innovative biomedical imaging technique that provides high-resolution information of endogenous contrast agents such as haemoglobin or melanin. The present work is framed within the development of a low-cost OR-PAM prototype that uses a mirror system to fast scan the laser focus while keeping the focused transducer static, thus decreasing the overall acquisition time. This configuration restricts the field-of-view (FOV) to the size of the acoustic focus. Here, a novel method is proposed to enlarge the FOV using a model-based algorithm that considers the spatial impulse response (SIR) of the transducer, which must be calibrated in advanced. An experimental study has been performed and compared with simulation results using the new OR-PAM device in an imaging phantom. It has been demonstrated that this approach can extend the image FOV in real time beyond the acoustic focus of the transducer, homogenizing and improving the signal-to-noise ratio in a 1 mm<sup>2</sup> area, easing the application of such systems in the clinical practice.

**Keywords:** photoacoustic imaging, OR-PAM, ultrasound, direct inversion.

**PACS n°.** 43.60.Uy, 43.38.Zp, 43.35.Sx

## 1 Introducción

La imagen fotoacústica es una técnica híbrida de imagen biomédica molecular que se basa en la detección de ondas acústicas generadas por un tejido tras sufrir una rápida expansión termoelástica provocada por la absorción de energía proveniente de pulsos láser de corta duración, alrededor de varios nanosegundos. El contraste de la imagen se obtiene, por tanto, de las diferencias en la absorción óptica de las moléculas excitadas, también conocidas como cromóforos [1]. Gracias a su carácter híbrido, esta técnica permite obtener imágenes con contraste selectivo en función de la longitud de onda óptica, con alta resolución espacial y temporal, a profundidades mayores que las alcanzables con técnicas puramente ópticas, y de manera completamente no invasiva e indolora [2].

La microscopía fotoacústica de resolución óptica (OR-PAM, por sus siglas en inglés) es una técnica concreta de imagen fotoacústica que se basa en escanear un haz láser altamente focalizado cuyo tamaño determina la resolución lateral del sistema a lo largo del volumen del tejido escaneado. Las ondas acústicas de baja amplitud generadas son detectadas mediante un transductor focalizado de alta sensibilidad que se dispone en configuración coaxial respecto al eje óptico del haz láser [3]. En los últimos años, con el objetivo de reemplazar las costosas y voluminosas fuentes láser comúnmente utilizadas en estos sistemas, como los sistemas láser de estado sólido, se ha propuesto el uso de diodos láser como una fuente de excitación compacta y de bajo coste [4-6]. No obstante, estos diodos láser emiten haces de baja calidad y energía de pulso, lo que dificulta su desarrollo e implementación final en sistemas orientados a la práctica clínica, por lo que, actualmente, no existe ningún microscopio fotoacústico comercial basado en diodos láser de bajo coste que permita la obtención de imágenes en profundidad bajo la piel.

Este estudio se enmarca en un proyecto enfocado a la construcción del primer prototipo de microscopía fotoacústica de bajo coste orientado a imagen clínica, en el que se emplea un transductor focalizado monoelemento de alta sensibilidad que se sitúa coaxialmente a la incidencia del haz láser sobre la piel, en el conocido como modo de reflexión (como se muestra en la Figura 1). Además, el microscopio posee un sistema de dos espejos galvanométricos que escanea rápidamente el haz láser a lo largo del área de imagen, lo que reduce sustancialmente los tiempos de adquisición y la formación de la imagen volumétrica final respecto a sistemas de escaneo mecánico. Sin embargo, esta configuración lleva asociada una limitación del campo de visión de la imagen (FOV, por sus siglas en inglés), ya que se reduce a la zona de máxima sensibilidad del foco acústico del transductor. Este efecto puede intentar mitigarse utilizando transductores planos (no focalizados) o sondas lineales, que proporcionan un FOV amplio a costa de una reducción drástica de la sensibilidad del receptor, lo que perjudica directamente al rendimiento del sistema de imagen y disminuye las posibilidades de su uso en la práctica clínica [7,8].

En este trabajo, con el objetivo de compensar el efecto del foco acústico y ampliar el FOV hasta un orden de magnitud, se propone utilizar un algoritmo de inversión basado en un modelo previamente calibrado, que captura la respuesta al impulso espacial (o zona de sensibilidad) del transductor utilizado. Este tipo de algoritmos han sido ampliamente utilizados en el campo de la reconstrucción de imagen médica [9-11], ya que, esencialmente, facilitan la obtención de imágenes libres de artefactos al determinar la solución deseada minimizando una función de coste. Dicha función representa la diferencia entre las señales medidas y el modelo físico que recoge las señales esperadas que conforman la imagen. Además, puede incluir restricciones a la solución como conocimiento *a priori* de la muestra. En la práctica, presentan el inconveniente de requerir largos tiempos de computación al manejar conjuntos de datos tridimensionales muy extensos. En imagen fotoacústica, también han sido implementados en los últimos años con el objetivo de reducir artefactos en configuraciones con espectro angular reducido, ampliar la profundidad de foco o mejorar la resolución del sistema [12-17]. No obstante, este enfoque no ha sido empleado en microscopía fotoacústica para este propósito, donde la

reconstrucción es más sencilla al obtener solo una forma de onda por posición de escaneo o píxel, reduciendo considerablemente los tiempos de computación. Este enfoque, por tanto, resuelve una importante limitación de este tipo de microscopios, haciendo factible su transferencia a la práctica clínica.

## 2 Métodos y materiales

### 2.1 Descripción del prototipo de microscopía fotoacústica de bajo coste

El diseño básico del cabezal del sistema OR-PAM se muestra en la Figura 1. Se trata de un microscopio fotoacústico basado en un diodo láser pulsado (905D2S3JT09X, Laser Components, Alemania) que emite pulsos de 100 ns a una longitud de onda de 905 nm y una frecuencia de repetición (PRF) de hasta 10 kHz. Utilizando un diseño óptico previo [5], mediante el cual se homogeneiza el haz de salida al acoplarlo a una fibra óptica multimodo (al fondo de la Fig. 1 drcha.), se obtiene un foco óptico con un perfil *flat-top* cuadrado de 75  $\mu\text{m}$  de lado y una energía de pulso de aproximadamente 5  $\mu\text{J}$ , a una distancia de focalización de 1 cm de la lente objetivo. La posición del foco óptico es escaneada mediante un juego de dos espejos galvanométricos (QS20XY-AG, Thorlabs, US) a lo largo del plano de imagen fotoacústica. Las ondas generadas son detectadas por un transductor focalizado monoelemento de PVDF en forma de anillo con una apertura de 60 mm y una distancia focal de 30.25 mm, con 19 MHz de frecuencia central y 150% de ancho de banda (Precision Acoustics Ltd, UK). Por la apertura central del transductor pasa el eje óptico del haz láser, permitiendo la configuración en modo reflexión con los focos acústico y óptico alineados coaxialmente, y confocales para la posición central de escaneo. Se fabricó una pieza de sinterizado de poliamida que sujeta una membrana *film* de plástico transparente para rellenar el transductor de agua desionizada y proporcionar así el acoplo acústico a la muestra de ensayo que se sitúa debajo de ella en seco. Las señales fotoacústicas son amplificadas (ZFL-500LN+, Minicircuits) y filtradas paso-bajo (BLP-27+, Minicircuits) antes de ser digitalizadas (ADQ14DC-2A-VG-PCIE, Teledyne SP Devices). Todo el proceso de escaneo láser, generación de pulsos y señales de sincronización se dirige por un *firmware* desarrollado en un controlador (STEMlab 125-14, RedPitaya), y la adquisición y el procesado es llevado a cabo en una GUI desarrollada en MATLAB (Mathworks).

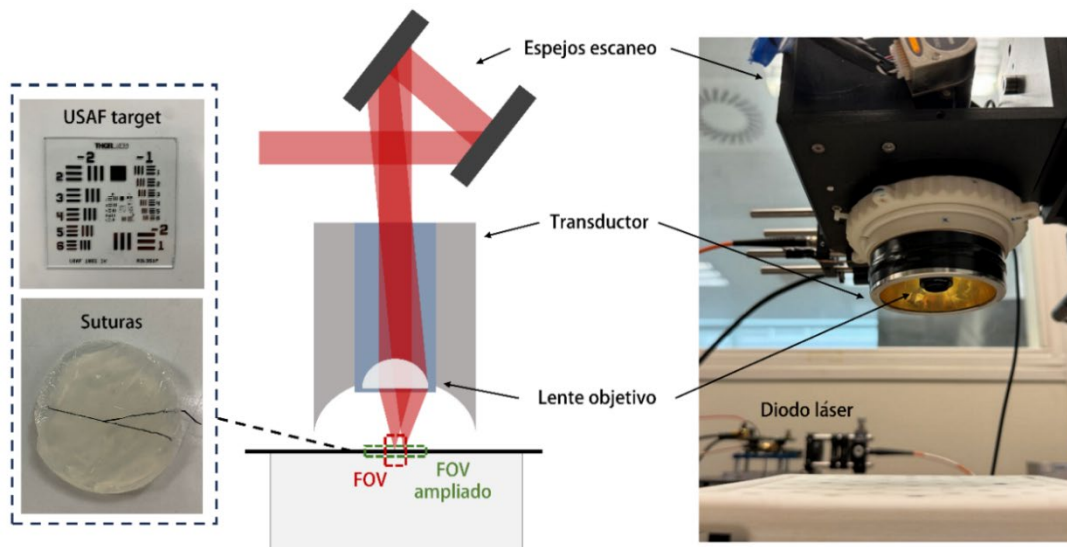


Figura 1. Esquemático (izquierda) y fotografía real (derecha) del cabezal del prototipo OR-PAM utilizado. En el cuadro discontinuo se indican dos *phantoms* de imagen (un *target* de resolución y una gelatina con suturas quirúrgicas incrustadas), los cuales se colocan en el portamuestras situado bajo el cabezal.

## 2.2 Fundamento teórico del algoritmo

La reconstrucción de imagen fotoacústica basada en la resolución del problema inverso se fundamenta en la asunción de un modelo físico que caracterice lo más fielmente posible el proceso de formación de la imagen, donde se incorporan, por ejemplo, la propagación de las ondas en un medio determinado, así como las propiedades del detector, de forma que se puedan obtener las señales de presión esperadas en cada una de las posiciones del espacio de imagen que se pretende reconstruir [17]. De este modo, se tiene un sistema como el de la Ecuación 1, en el cual la señal de presión medida  $p_m$  en un puede definirse como una combinación lineal de la matriz modelo  $A$ , la cual recoge las contribuciones de todos los puntos, o vóxeles, del espacio imagen por el que se propagan las ondas hasta el detector, y la distribución de presión inicial  $p_0$ .

$$p_m = A p_0 \quad (1)$$

La matriz modelo  $A$  se suele construir con las respuestas al impulso provenientes de fuentes puntuales situadas en cada uno de los puntos del espacio imagen entre los absorbentes y el detector. Dicho modelo puede ser calculado analítica o numéricamente, así como obtenido mediante medidas experimentales de calibración, con lo que permite introducir las propiedades espaciales del transductor, definido por su respuesta característica al impulso, posibles heterogeneidades existentes en el medio y cualquier otra corrección que aproxime el modelo los más posible al sistema real. Comúnmente, el cálculo de la solución  $p_0$ , es decir, de la imagen reconstruida mediante la inversión del modelo, se enfoca como un problema de optimización minimizando una función de coste de manera iterativa, debido principalmente a que el coste computacional de invertir la matriz modelo directamente suele ser elevado para sistemas de imagen con conjunto de datos grande como los de tomografía. Sin embargo, si se manejan conjuntos de datos pequeños se pueden realizar inversiones de la matriz modelo en tiempo real, por lo que la solución directa de la Ec.1 se escribe como

$$p_{0,sol} = A^+ p_m \quad (2)$$

donde  $A^+$  representa la matriz pseudo-inversa de Moore-Penrose [17], como generalización de la inversa para matrices de dimensiones no regulares, donde se debe distinguir la inversa por la izquierda o la derecha para poder aplicar la multiplicación matricial con las dimensiones concordantes. En este caso para para invertir la Ec. 1 se define la matriz pseudo-inversa por la izquierda como  $A^+ = (A^T A)^{-1} A^T$ . Esta actúa como un filtro que modula el valor de la solución, aumentándola cuando la presión medida se parece a la esperada y disminuyendo las influencias de otros puntos del espacio.

Para la configuración de nuestro sistema, con un transductor focalizado y su foco estático respecto al punto focal láser escaneado a lo largo del plano de imagen, la señal temporal recibida fuera del foco acústico sufrirá deformaciones respecto a la señal centrada, o confocal, debido a la llegada desigual del frente de ondas acústico a la superficie esférica del transductor. Este efecto se puede caracterizar gracias a la respuesta al impulso espacial (SIR, de sus siglas en inglés) del transductor, que se puede medir o calibrar en cada punto de un plano de imagen uniforme, por ejemplo, realizando un escaneo láser sobre una lámina absorbente homogénea. De este modo, utilizaremos las señales de radiofrecuencia de la SIR en cada punto del plano imagen para construir nuestro modelo, recogiendo la modulación espacial de sensibilidad característica del transductor focalizado utilizado, que es máxima en el centro y decae radialmente (ver Fig. 2). Hay que tener en cuenta que, en este caso, la matriz modelo  $A$  será un vector de muestras temporales de la forma de onda recibida por el transductor, de modo que el problema de

inversión para recuperar el valor original de presión  $p_0$  se simplifica considerablemente y se puede computar en tiempo real.

En definitiva, con el método de inversión directa propuesto aquí, se pretende demostrar la reconstrucción de la imagen fotoacústica compensando la baja sensibilidad fuera del foco acústico, ampliando el campo de visión más allá del foco del transductor de forma efectiva.

### 2.3 Calibración del modelo y ensayos de imagen

Se ha diseñado un método rápido y sencillo para la calibración experimental de la respuesta al impulso espacial (SIR) del transductor utilizando una *target* de resolución (1951 USAF resolution target, Thorlabs) que está formado por una lámina homogénea de cromo de 120 nm de espesor. Al ser excitada por el foco láser, genera fuentes que pueden considerarse puntuales a lo largo del plano de la imagen. Se escaneó un área de  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  con un tamaño de paso de  $25 \text{ }\mu\text{m}$ , y las señales generadas en cada punto se promedió 500 veces para obtener un modelo libre de interferencias y ruido. La duración del proceso de calibración de todo el plano focal a una frecuencia de repetición de 5 kHz es inferior a 2 minutos y medio. Este procedimiento de calibración solo deberá repetirse cuando se modifique la posición relativa entre algún componente del cabezal del microscopio. Además, previo a la calibración experimental, se realizó un estudio numérico en el entorno de simulación *k-wave* [18] replicando las condiciones realistas tanto de la recepción (ancho de banda y geometría del detector) como de la excitación (tamaño del foco y duración del pulso láser) para analizar la relevancia de la calibración utilizando el sistema real.

Una vez calibrado el modelo, se realizaron imágenes fotoacústicas de diferentes muestras de imagen para validar el rendimiento del algoritmo en un entorno real. Se realizaron imágenes de un elemento del *target* de resolución, compuesto por un número y un patrón de barras de un tamaño aproximado de  $110 \text{ }\mu\text{m}$ , y de la misma área que la de calibración. Además, se diseñó un *phantom* de piel de  $0.6 \text{ mm}$  de espesor superponiendo capas de silicona, y se repitió la imagen del mismo elemento a través de dicho *phantom* para analizar el rendimiento del algoritmo en profundidad, a través de un medio difusor de luz.

Finalmente, se diseñó un nuevo *phantom* compuesto por dos suturas quirúrgicas negras de  $\sim 350 \text{ }\mu\text{m}$  de diámetro embebidas en agar gelatinizado para analizar el funcionamiento del método propuesto al realizar una imagen volumétrica multi-plano en una muestra diferente al medio de calibración. Se realizaron 21 planos de un área de  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  obtenidos por escaneo láser con un tamaño de paso vertical de  $50 \text{ }\mu\text{m}$ , para obtener una imagen tridimensional de  $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ , desplazando el cabezal del microscopio en dirección vertical con un eje motorizado de precisión. En cada píxel se realizaron 50 promedios de señal, y se aplicó la misma compensación de la SIR para cada plano de manera independiente, tratando de reducir las influencias de las señales provenientes de fuera del plano focal.

### 3 Resultados

#### 3.1 Calibración del modelo

Los resultados de la calibración de la respuesta al impulso espacial del transductor en el plano focal se muestran en la Figura 2. Los mapas 2D de la SIR se obtienen calculando el máximo de intensidad (MIP) de las señales obtenidas en cada punto de escaneo, tanto para simulación numérica del sistema con geometría y respuesta en frecuencia ideales (Fig. 2a) como del sistema real medido experimentalmente (Fig. 2b). En la representación de las formas de onda detectadas (Fig. 2c), se aprecia como en una posición alejada una distancia de 0.4 mm (ii) del centro del foco acústico, la señal se deforma en comparación con la forma de onda del centro del foco (i) más pronunciada por la llegada simultánea del frente de onda a la superficie esférica del transductor. La SIR obtenida mediante simulación y medida experimental coinciden en reproducir el tamaño del foco acústico de 150  $\mu\text{m}$ , medido como la anchura a mitad de intensidad máxima (FWHM, del acrónimo en inglés). Sin embargo, la calibración experimental es necesaria para lograr un resultado óptimo en la inversión debido a que permite capturar la SIR particular del sistema real que incluye posibles defectos mecánicos como el desplazamiento del foco acústico con respecto al centro del plano, la respuesta en frecuencia real del transductor, o la caída radial de energía láser en ángulos de escaneo extremos.

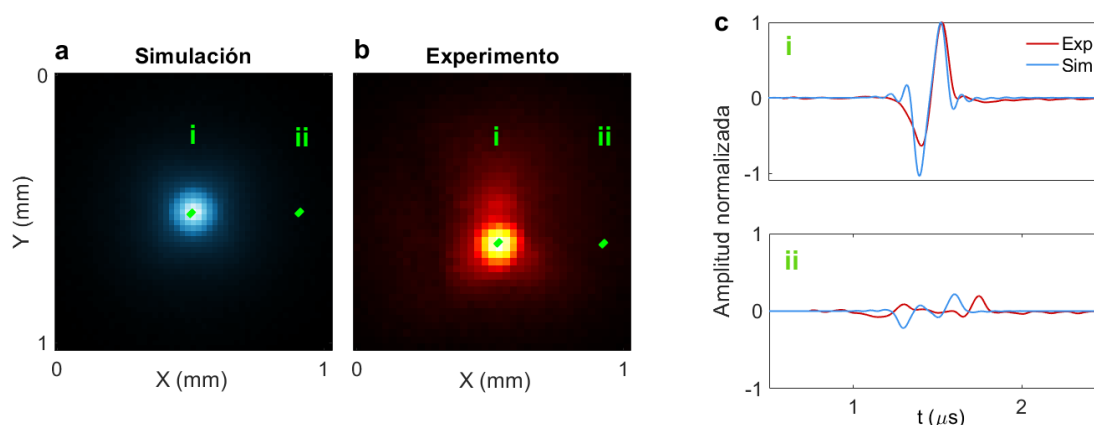


Figura 2. Respuesta al impulso espacial del transductor calibrada tanto numérica (a) como experimentalmente (b). Comparativa entre las formas de onda obtenidas en una posición dentro del foco acústico (c.i) y a 0.4 mm del centro del foco (c.ii).

#### 3.2 Imagen fotoacústica a través de un medio difusor de luz

Tras la calibración, se realizó una imagen del elemento 2 del grupo 2 del *target* de resolución USAF. En la Figura 3, se observa como la imagen sin procesar (Fig. 3a) está distorsionada radialmente por el campo acústico del detector. Nótese que la zona del foco de mayor intensidad aparece desplazada hacia la parte superior de la imagen respecto al mapa de la SIR de la Figura 2, debido a que este ensayo de imagen tuvo lugar tras realizar unos ajustes mecánicos, haciendo necesaria una recalibración. Este hecho resalta la importancia de una calibración experimental para capturar el estado del sistema real para aplicar el algoritmo de inversión y obtener imágenes compensadas correctamente.

Al computar la inversión del modelo correctamente calibrado (Fig. 3b), la intensidad de los píxeles en zonas lejanas al foco acústico se ve completamente compensada a lo largo del área de 1.2x1.2  $\text{mm}^2$ , mostrando claramente el patrón de barras del elemento 2. Esto supone un aumento del área de visión

cerca de dos órdenes de magnitud, obteniendo así un FOV extendido de  $1.44 \text{ mm}^2$  en lugar del área del foco acústico de  $0.018 \text{ mm}^2$ . Además, el algoritmo es capaz de corregir este efecto al hacer imagen a través del *phantom* de láminas de silicona de  $0.6 \text{ mm}$  de espesor (Fig. 3c), para emular la dispersión de la luz a través de la piel. Sin embargo, la calidad de la imagen final se ve empeorada debido a una degradación del foco láser inducida por esta dispersión (scattering óptico), así como por pequeñas variaciones en los tiempos de vuelo en las señales detectadas por el cambio de velocidad en el *phantom* respecto de la velocidad de propagación de las ondas acústicas en el agua. Aunque el rendimiento del algoritmo es suficiente para profundidades comúnmente utilizadas en esta técnica de imagen, todavía existe margen de mejora si se ajustan las desviaciones de tiempo de vuelo de la señal en profundidad que se investigarán para un desarrollo futuro.

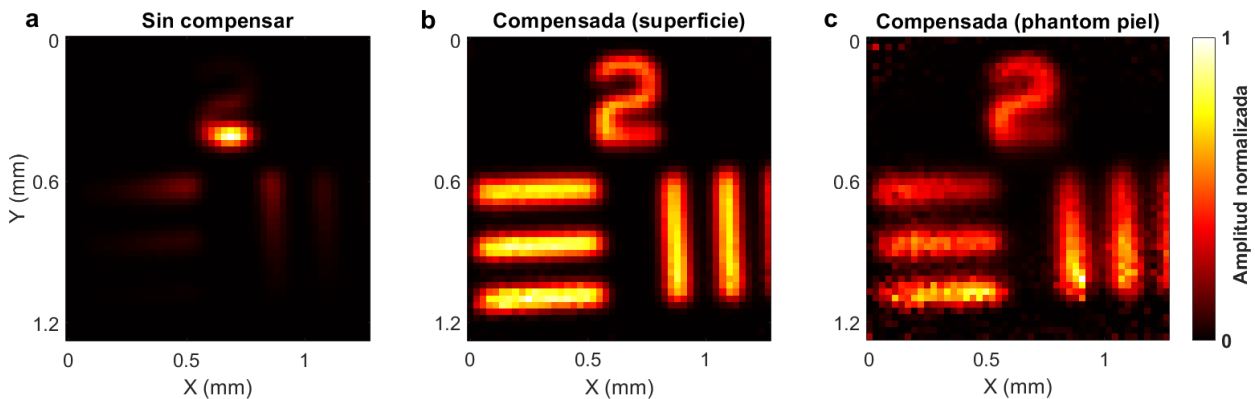


Figura 3. Imágenes fotoacústicas del elemento de ensayo del target de resolución USAF sin aplicar el algoritmo de compensación (a), después de aplicarlo (b), y aplicándolo en el ensayo realizado a través de un *phantom* de piel de silicona de  $0.6 \text{ mm}$  de espesor (c). Ancho de barra del target de  $111 \mu\text{m}$ .

### 3.3 Imagen fotoacústica volumétrica en phantom

Para comprobar el rendimiento y robustez del algoritmo al realizar una imagen volumétrica multi-plano, y dado que se basa en un modelo calibrado solamente en un plano y con medio homogéneo de agua, se realizó un ensayo de imagen de un *phantom* compuesto por suturas quirúrgicas de  $350 \mu\text{m}$  de diámetro embebidas en agar.

En la Figura 4 se muestran los resultados obtenidos. En la fila superior de las imágenes, se observa como el algoritmo compensa la caída de amplitud más allá del foco acústico (Fig. 4b), al igual que ocurre con el *target* de resolución USAF, extendiendo el FOV a  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  en comparación con la reconstrucción en crudo (Fig. 4a). En la fila inferior se muestra la reconstrucción tridimensional, donde para la imagen sin compensar (Fig. 4c), la profundidad del foco láser de aproximadamente  $700 \mu\text{m}$  provoca la elongación de los objetos. Al aplicar la compensación para cada plano de manera independiente (Fig. 4d), se observa el efecto del filtrado de las señales provenientes de fuera del plano focal. Se obtienen las suturas con una forma y disposición más fidedigna a la real (diámetro de  $350 \mu\text{m}$ ), apreciando el cruce de ambas en un extremo del FOV y a una penetración mayor de  $0.5 \text{ mm}$ . No obstante, en el volumen compensado se aprecia como el objeto no se representa con una forma cilíndrica constante lo que puede ser debido a una insuficiente selectividad del filtrado, a un tamaño de paso vertical demasiado grande, o a los artefactos de cambio de tiempo de vuelo al profundizar en el hilo de sutura. La adquisición de la imagen volumétrica duró aproximadamente 7 minutos, utilizando una frecuencia de repetición de  $5 \text{ kHz}$  y 50 promedios de señal por píxel, para un total de 21 planos. El proceso de inversión del modelo y representación del volumen conlleva menos de 1 minuto.

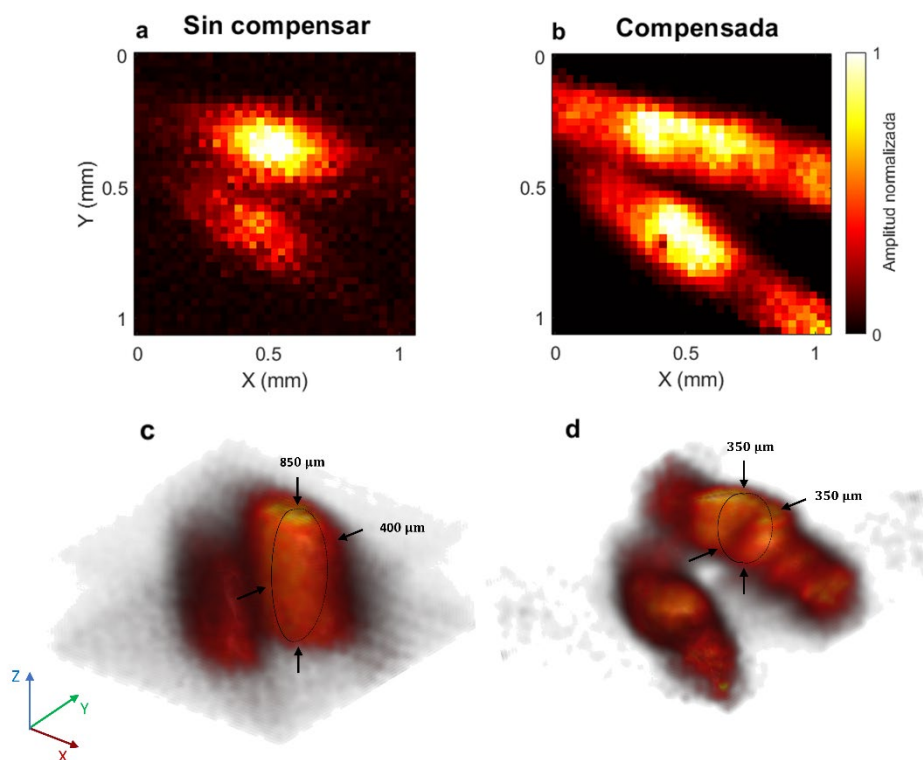


Figura 4. Imágenes fotoacústicas volumétricas del phantom de suturas quirúrgicas (diámetro  $350\ \mu\text{m}$ ). Se muestran las vistas top-view (fila superior) y la reconstrucción tridimensional (fila inferior) para los datos sin procesar (a,c) y tras la aplicación del algoritmo de inversión del modelo (b,d). Tiempo de adquisición aproximado de 7 minutos, tiempo de computación inferior al minuto.

## 4 Conclusiones

Se ha diseñado, construido y evaluado un nuevo prototipo de microscopía fotoacústica de bajo coste, compacto, y el cual utiliza un método de escaneo láser para obtener imágenes tridimensionales de objetos gruesos de manera rápida. Para mejorar su rendimiento y el hecho de que el campo de visión del sistema con el escaneo rápido se ve limitado al tamaño del foco acústico, se propone un nuevo método para extender el campo de visión más de un orden de magnitud implementando un algoritmo de inversión directa de un modelo basado en la calibración de la respuesta al impulso espacial del transductor.

Se han obtenido por primera vez imágenes fotoacústicas con un sistema basado en un diodo láser de muy bajo coste en modo reflexión, útil para aplicación clínica, con tiempos adquisición inferiores a 8 minutos y con un campo de visión ampliado de más de  $1 \times 1\ \text{mm}^2$ . Además, el algoritmo de compensación propuesto basado en la calibración de un solo plano de imagen, permite obtener imágenes volumétricas más fidedignas al seleccionar las señales provenientes de dicho plano, y eliminando las influencias de excitaciones debidas a la profundidad del foco láser. En este trabajo se ha demostrado que el método propuesto abre una nueva vía de implementar un sistema de microscopía fotoacústica basado en diodos láser de bajo coste de forma factible para su aplicación clínica futura. Actualmente, se está trabajando en optimizar el algoritmo de reconstrucción de inversión del modelo, de modo que se prevé alcanzar

próximamente una mayor calidad de imagen volumétrica con este prototipo y demostrar su aplicación en tejido biológico *ex vivo* e *in vivo*.

## Agradecimientos

Agradecemos el soporte de financiación a través de los programas de convocatorias competitivas: Agència Valenciana de la Innovació (AVI) a través del proyecto INNVA1/2022/50, Programa Investigo INVEST/2022/171 de fondos de la Unión Europea Next Generation EU, y también, Prometeo CIPROM/2021/003 y Equipamiento e Infraestructuras FEDER 2021-22 IDIFEDER/2021/004.

## Referencias

- [1] P. Beard, “Biomedical photoacoustic imaging,” *Interface focus*, vol. 1, no. 4, pp. 602–631, 2011.
- [2] J. Xia, J. Yao, and L. V. Wang, “Photoacoustic tomography: Principles and advances,” *Electromagnetic waves (Cambridge, Mass.)*, vol. 147, p. 1, 2014.
- [3] J. Yao and L. V. Wang, “Sensitivity of photoacoustic microscopy,” *Photoacoustics*, vol. 2, no. 2, pp. 87–101, 2014.
- [4] L. Zeng, G. Liu, D. Yang and X. Ji, “Portable optical-resolution photoacoustic microscopy with a pulsed laser diode excitation”, *Applied Physics Letters*, vol. 102, 2013.
- [5] J. J. García-Garrigós, A. Cebrecos, J. A. Navarro-Calvo, and F. Camarena, “A fiber coupled laser diode design for reflection mode optical resolution photoacoustic microscopy,” *Ultrasonics*, vol. 132, p. 107 008, 2023.
- [6] X. Li, K. Yeung, V. Tsang, B. Huang, C. Lo and T. Wong, “Low-cost high-resolution photoacoustic microscopy of blood oxygenation with two laser diodes”, *Biomedical Optics Express*, vol. 13, p. 3893-3903, 2022.
- [7] Y. Yuan, S. Yang, and D. Xing, “Optical-resolution photoacoustic microscopy based on two-dimensional scanning galvanometer,” *Applied Physics Letters*, vol. 100, no. 2, 2012.
- [8] Z. Xie, S. Jiao, H. F. Zhang, and C. A. Puliafito, “Laser-scanning optical-resolution photoacoustic microscopy,” *Optics letters*, vol. 34, no. 12, pp. 1771–1773, 2009.
- [9] L. Liu, “Model-based iterative reconstruction: a promising algorithm for today’s computed tomography imaging”, *Journal of Medical Imaging and Radiation Sciences*, vol. 45, p. 131-136, 2014
- [10] G. Herman, A. Lent, “Iterative reconstruction algorithms”, *Computers in Biology and Medicine*, vol. 6, p. 273-294, 1976.
- [11] J. Xiang, Y. Dong, Y. Yang, “FISTA-net: Learning a Fast Iterative Shrinkage Thresholding Network for Inverse Problems in Imaging”, *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 40, 2021.
- [12] G. Paltauf, R. Nuster, M. Haltmeier and P. Burgholzer, “Experimental evaluation of reconstruction algorithms for limited view photoacoustic tomography with line detectors”, *Inverse Problems*, vol. 23, 2007
- [13] X. Song, G. Wang, J. Dong and Q. Liu, “Sparse-view reconstruction for photoacoustic tomography combining diffusion model with model-based iteration”, *Photoacoustics*, vol. 33, 2023.

- [14] J. Turner, H. Estrada, M. Kneipp, and D. Razansky, “Improved optoacoustic microscopy through three-dimensional spatial impulse response synthetic aperture focusing technique,” *Optics letters*, vol. 39, no. 12, pp. 3390–3393, 2014.
- [15] U. A. Hofmann, W. Li, X. L. Dean-Ben, P. Subochev, H. Estrada, and D. Razansky, “Enhancing optoacoustic mesoscopy through calibration-based iterative reconstruction,” *Photoacoustics*, vol. 28, p. 100 405, 2022.
- [16] M. Seeger, D. Soliman, J. Aguirre, G. Diot, J. Wierzbowski, and V. Ntziachristos, “Pushing the boundaries of optoacoustic microscopy by total impulse response characterization,” *Nature communications*, vol. 11, no. 1, p. 2910, 2020.
- [17] X. Deán-Ben, D. Razansky, “A practical guide for model-based reconstruction in optoacoustic imaging”, *Frontiers in Physics*, 2022.
- [18] B.T Cox and P. Beard, “Fast calculation of pulsed photoacoustic fields in fluids using k-space methods”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, 2005.