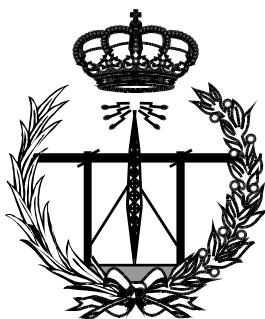


**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**Estudio para la aplicación de la holografía
digital a la caracterización de tejidos
biológicos**

**(Study for the characterization of biological tissues by
means of the digital holography technique)**

Para acceder al Título de

Graduado en

Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación

Autor: Borja Somavilla Bolado

Octubre-2017

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

Realizado por: Borja Somavilla Bolado

Director del TFG: José Luis Arce Diego, Laura Arévalo Díaz

**Título: “Estudio para la aplicación de la holografía digital a la
caracterización de tejidos biológicos”**

**Title: “Study for the characterization of biological tissues by means of
the digital holography technique “**

Presentado a examen el día: 27 de octubre de 2017

para acceder al Título de

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Arce Diego, José Luis

Secretario (Apellidos, Nombre): Sánchez González, Luis

Vocal (Apellidos, Nombre): García Arranz, Marta

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de:

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

Fdo.: El Director del TFG
(sólo si es distinto del Secretario)

Vº Bº del Subdirector

Trabajo Fin de Grado Nº
(a asignar por Secretaría)

Este proyecto ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i “Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión” (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Agradecimientos

Agradecer sobre todo la gran labor realizada por parte de Jose Luis Arce y Laura Arévalo durante todo este tiempo, pues gracias a ellos he conseguido realizar este trabajo. Me han hecho descubrir un nuevo campo totalmente desconocido para mí y una gran cantidad de trabajos muy interesantes.

Agradezco a mi familia todo el apoyo durante todos estos años de estudios ya que ellos han sido la base para que todo esto haya podido llegar a cumplirse, poniendo esfuerzo y ánimos en mi cada día para poder conseguirlo.

A todos mis amigos, “Les Sublimes” y compañeros de clase por todos estos años inolvidables.

Índice

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2: FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LA HOLOGRAFÍA DIGITAL.....	3
2.1 Introducción	3
2.2 Reconstrucción numérica de frente de onda.....	5
2.2.1 Método de la transformada de Fourier	7
2.3 Interferometría holográfica.....	9
2.3.1 Medida del desplazamiento	10
2.3.2 Medida de forma.....	13
2.3.3 Medida del índice de refracción.....	16
2.4 Conclusión	17
CAPÍTULO 3: APLICACIONES DE LA HOLOGRAFÍA DIGITAL A ESTUDIOS BIOMÉDICOS	18
3.1 Introducción	18
3.2 Medida de deformación.....	18
3.2.1 Elastografía de materiales blandos y tejidos.....	20
3.2.2 Deformaciones en secciones óseas.....	23
3.3 Medida de la forma	26
3.3.1 Forma del tímpano	26
3.3.2 Medida de superficie rugosa.....	29
3.4 Medida del índice de refracción.....	32
3.4.1 Estudio de burbujas de cavitación usando microscopía holográfica digital	33
3.4.3 Medida de temperatura.....	36
3.5 Conclusión	39
CAPÍTULO 4: HOLOGRAFÍA DIGITAL ENDOSCÓPICA.....	41
4.1 Introducción	41
4.2 Funcionamiento del endoscopio	41
4.2.1 Endoscopios rígidos.....	42
4.2.2 Endoscopios flexibles	45
4.3 Evaluación de la pared estomacal.....	45
4.4 Evaluación de un vaso sanguíneo	50
4.4.1 Observación del vaso con endoscopio	51
4.4.2 Montaje experimental.....	52
4.4.3 Resultados	54
4.6 Conclusión	58
REFERENCIAS.....	60

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

En 1948, Dennis Gabor ideó una nueva técnica para capturar imágenes a partir de la reconstrucción de frentes de onda, la holografía. Se basó en la capacidad de registrar tanto la amplitud como la fase de un frente de onda, a partir de la interferencia entre luz difractada o difundida por un objeto y una onda de referencia adecuada. Para que exista interferencia, tanto la onda de referencia como la del objeto han de proceder de la misma fuente de luz coherente (láser). Este patrón de interferencia, u holograma, almacena la distribución de fase de la onda objeto como una distribución de intensidad. Los tipos de hologramas se definen dependiendo de la configuración del montaje experimental, que va desde del ángulo que forman ambos haces hasta la distancia entre el objeto y el medio de registro. En la holografía digital (HD) el medio de registro es un sensor electrónico (CCD), a diferencia de la holografía convencional que utiliza películas fotográficas.

Por su parte, la holografía es una técnica con una infinidad de aplicaciones y se utiliza en un gran número de campos. Una de sus principales ventajas es que se trata de una técnica óptica no invasiva y sin contacto, que permite medir cuerpos y estructuras en un rango desde unas pocas micras hasta cientos de nanómetros. Su descubrimiento y posterior aplicación fue muy relevante inicialmente en el campo de la industria, donde se evaluaron piezas sólidas mecánicas. En los últimos años se ha implementado la técnica en sistemas biomédicos, con el fin de estudiarlos y aportar una mejora en el diagnóstico, prevención y tratamiento de diferentes enfermedades en seres vivos.

Existen otras técnicas como rayos X, resonancias, ecografías, etc. Que poseen la desventaja de la baja resolución temporal y/o espacial, y posibles efectos secundarios al inyectar un medio de contraste en el cuerpo a estudiar. Además de altos costes en el aparato. Sin embargo, la holografía digital es una técnica no invasiva, como se citó anteriormente, tiene una muy alta resolución espacial y temporal, y puede dar

información de deformaciones y formas de cuerpos, velocidades de fluidos, índices de refracción, entre otros.

Como un avance del uso de la HD en estudios biomédicos, se han utilizado endoscopios junto con la técnica de la holografía digital. Estos instrumentos mínimamente invasivos se utilizan para inspeccionar el interior del cuerpo humano. La posibilidad de combinar la técnica con dispositivos comerciales abre la posibilidad a un futuro análisis y diagnóstico de enfermedades. En este trabajo se hace una revisión bibliográfica de la técnica de la holografía digital aplicada al estudio de sistemas biomédicos. El objetivo es condensar trabajos con aplicaciones variadas, incluyendo aquellos que combinan la técnica con endoscopios comerciales. Se evaluará la posibilidad de usar la técnica como una herramienta de diagnóstico mínimamente invasiva.

En este documento recoge los siguientes capítulos:

- En el capítulo 2 se explican los fundamentos teóricos de la holografía digital. Cómo se almacena y se reconstruyen los hologramas. Se presenta la reconstrucción numérica de los frentes de onda por medio de la transformada de Fourier, y las tres aplicaciones más importantes de la técnica: medida del desplazamiento, medida de la forma y medida del índice de refracción.
- En el capítulo 3 se muestran una serie de ejemplos de trabajos y experimentos para los tres métodos de medición citados en el anterior capítulo, todos ellos utilizados en aplicaciones biomédicas.
- En el capítulo 4 se presenta la idea de utilizar un endoscopio comercial junto con la técnica de holografía digital. Se incluye una introducción y una explicación del funcionamiento de un endoscopio. Y algunos trabajos donde se han utilizado endoscopios con HD para medidas biomédicas.

CAPÍTULO 2: FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LA HOLOGRAFÍA DIGITAL

2.1 Introducción

En este apartado veremos los fundamentos teóricos de la holografía digital, junto con sus aplicaciones más importantes. [SCH 2005] [ARE 2015a] [VEG 2016]

Se trata de una técnica que nos permite, mediante ondas de luz, guardar y reconstruir frentes de onda. La onda objeto junto con una onda de referencia interfieren en un CCD (dispositivo de carga acoplada), como observamos en la figura 2.1, el cual convierte la señal luminosa que le llega en una señal eléctrica. La holografía digital es muy similar a la holografía tradicional, diferenciándose en que en la primera el grabado se realiza sobre un CCD como ya se dijo, lo que nos da una gran cantidad de información tanto de la amplitud como de la fase, e incluso la posibilidad de llegar a modificar esos valores.

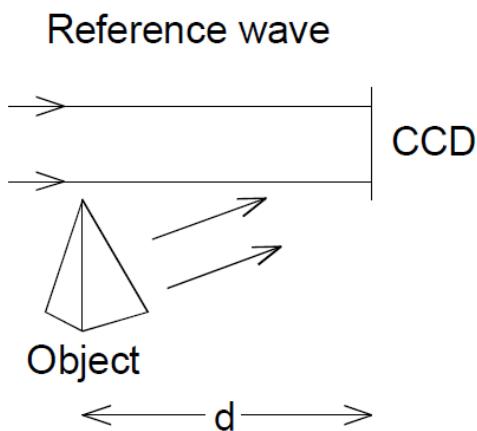


Fig. 2.1 Registro de un holograma

Podemos ver la expresión para la onda objeto y la onda de referencia en el plano del sensor CCD:

$$o(x, y) = A_0 \exp[j\varphi_0(x, y)] \quad (2.1)$$

$$r(x, y) = A_r \exp[j\varphi_r(x, y)], \quad (2.2)$$

En la expresión A_0 es la amplitud y φ la fase de la onda electromagnética. Ambos valores son aleatorios ya que dependen del objeto y de su posición con respecto al sensor. El patrón de interferencia registrado se expresa como:

$$I(x, y) = |r(x, y) + o(x, y)|^2 = A_0^2 + A_r^2 + 2A_r A_0 \cos(\varphi_0 - \varphi_r). \quad (2.3)$$

Como observamos, un holograma almacena información de la fase φ_0 y de la amplitud A_0 de la onda objeto, las cuales dependen de la naturaleza y posición de cada punto del objeto. Aunque es más usual ver la expresión de la intensidad del holograma de la siguiente forma:

$$I(x, y) = |r(x, y)/2 + o(x, y)/2 + r(x, y)*o(x, y) + r(x, y)o(x, y)*|. \quad (2.4)$$

Para la reconstrucción del frente de onda, basta con multiplicar la intensidad (ecuación 2.4) con la onda de reconstrucción $c(x, y)$. El resultado es el siguiente:

$$s(x, y) = c(x, y)I(x, y) = |r|^2 c + |o|^2 c + c r^* o + c r o^* = s_1 + s_2 + s_3 + s_4. \quad (2.5)$$

Los dos primeros términos se asocian con el orden cero de la difracción, siendo igual que la onda de reconstrucción, pero escalada en función de la intensidad de la onda objeto y la de referencia. En el caso que la onda de registro y reconstrucción coincidan, se tiene:

$$s(x, y) = c(x, y)I(x, y) = |r|^2 r + |o|^2 r + |r|^2 o + r^2 o^* \quad (2.6)$$

El tercer término es igual que la onda objeto inicial y la imagen generada es la del objeto en su posición inicial (imagen virtual). Pero, como se muestra en la ecuación 2.7, si se multiplica por $c(x, y) = r^*(x, y)$, obtenemos:

$$s(x, y) = c(x, y)I(x, y) = |r|^2 r^* + |o|^2 r^* + r^{*2} o + |r|^2 o^* \quad (2.7)$$

Y aquí el cuarto término es idéntico a la onda objeto conjugada y se genera la imagen real del objeto. El esquema para la reconstrucción de la imagen sería el de la figura 2.2:

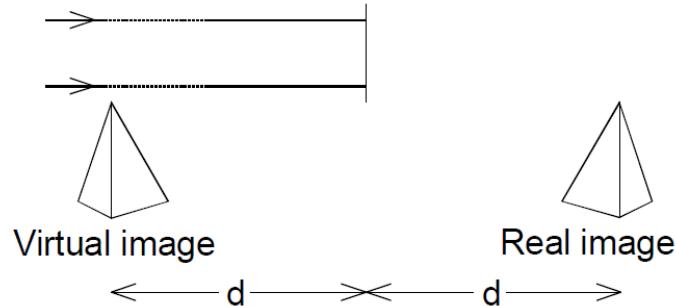


Fig. 2.2 Reconstrucción de la imagen

2.2 Reconstrucción numérica de frente de onda

Al igual que en la holografía tradicional, esta reconstrucción se realiza “iluminando” con un haz de reconstrucción, pero esta vez de manera numérica. Se multiplica por una onda creada numéricamente, con su amplitud y su fase, y se propaga numéricamente hasta el plano donde está la imagen, como en la figura 2.3.

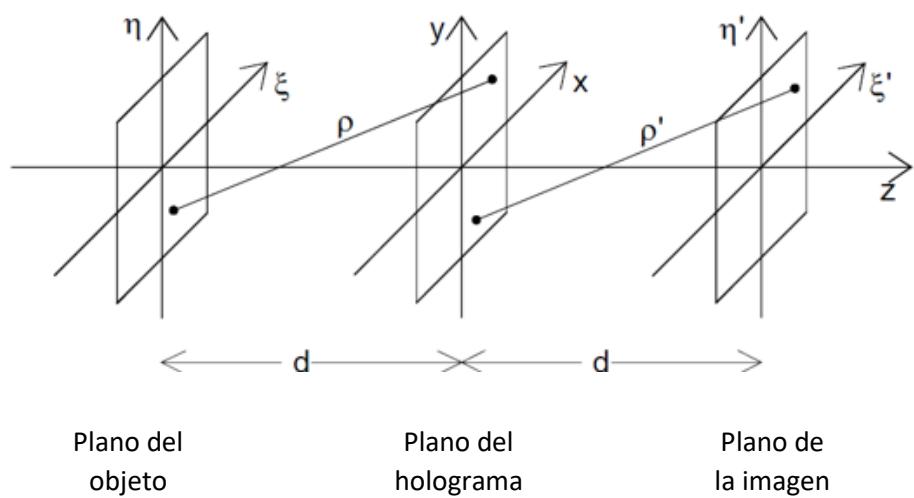


Fig. 2.3 Reconstrucción de la imagen

Se utiliza la integral de Fresnel-Kirchoff para la propagación, y gracias a ella, obtenemos la onda luminosa completa $\Gamma(\xi', \eta')$ en el plano imagen, es decir, la información del objeto:

$$\Gamma(\xi', \eta') = \frac{i}{\lambda} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y) E_R(x, y) \frac{\exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} \rho'\right)}{\rho'} dx dy \quad (2.8)$$

$$\rho' = \sqrt{(x - \xi')^2 + (y - \eta')^2 + d^2} \quad (2.9)$$

$h(x, y)$ es el holograma y ρ' es la distancia entre un punto en el plano del holograma y otro punto en el plano de reconstrucción, como se observa en la imagen 2.3.

El problema aparece cuando la imagen real puede aparecer distorsionada, lo que puede ser producido por usar el conjugado del haz de referencia. Por lo tanto, para reconstruir una imagen real sin distorsión se utilizará el conjugado de la onda de referencia E_R^* en vez de E_R , y la integral de Fresnel-Kirchoff quedará de la siguiente manera:

$$\Gamma(\xi, \eta) = \frac{i}{\lambda} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y) E_R^*(x, y) \frac{\exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} \rho\right)}{\rho} dx dy \quad (2.10)$$

$$\rho = \sqrt{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2 + d^2} \quad (2.11)$$

De acuerdo con la teoría de la Transformada de Fourier existe una relación entre Δx , Δy y Δv , $\Delta \mu$, como vemos en las ecuaciones 2.12 y 2.13.

$$\Delta v = \frac{1}{N \Delta x}; \quad \Delta \mu = \frac{1}{N \Delta y}. \quad (2.12)$$

Y realizando la sustitución:

$$\Delta \xi = \frac{\lambda d}{N \Delta x}; \quad \Delta \eta = \frac{\lambda d}{N \Delta y}. \quad (2.13)$$

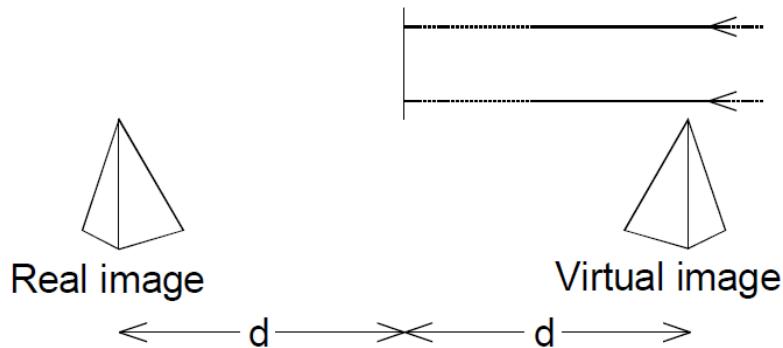


Fig. 2.4 Construcción imagen real sin distorsión

2.2.1 Método de la transformada de Fourier

La reconstrucción numérica puede llevarse a cabo a través de varios métodos como la aproximación de Fresnel, aproximación de convolución, etc. Pero existe un método muy usual, el método de la transformada de Fourier. Se utiliza un montaje especial que se muestra en la figura 2.5

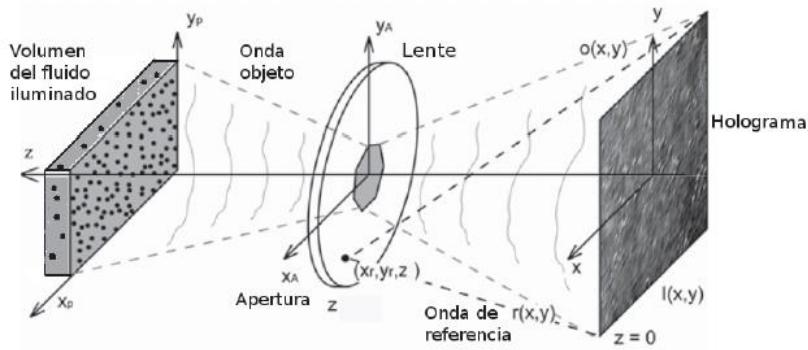


Fig. 2.5 Esquema para la reconstrucción mediante transformada de Fourier [ARE 2015a]

En el esquema, se registra la interferencia entre la imagen del objeto, producida por una lente, y el haz de referencia, con lo que se obtiene un *holograma imagen* del objeto. Pero a la vez se trata de un *holograma de Fourier* de la apertura, porque el origen del haz de referencia se encuentra en el plano de la apertura del sistema. Este montaje se llama DIPH (digital image plane holography) fuera de eje.

El procedimiento para la reconstrucción de este tipo de hologramas se describe a continuación. En primer lugar, tenemos la ecuación del holograma que se va a reconstruir.

$$I(x, y) = |a_0|^2 + |a_R|^2 + E_0(x, y)E_R^*(x, y) + E_R(x, y)E_0^*(x, y) \quad (2.14)$$

Y calculamos su transformada de Fourier.

$$\Im\{I(x, y)\} = \tilde{I}(\xi, \eta) = a_R^2 \cdot \delta(0, 0) + a_0^2 \cdot S(\xi, \eta) + \Im\{E_R^* \cdot E_0\} + \Im\{E_0^* \cdot E_R\}$$

$$\tilde{I}(\xi, \eta) = \tilde{I}_1(\xi, \eta) + \tilde{I}_2(\xi, \eta) + \tilde{I}_3(\xi, \eta) + \tilde{I}_4(\xi, \eta) \quad (2.15)$$

En la ecuación 2.13 se pueden diferenciar cuatro términos. El primero (I_1) corresponde con un punto central muy luminoso. El segundo término (I_2) representa el espectro del

objeto en el espacio de frecuencias. El tercer término (I_3) es la imagen real del objeto, y por último, el cuarto término (I_4) es la imagen virtual. La imagen real y la virtual aparecen en la diagonal del dibujo ya que es un registro fuera de eje.

A continuación, se aplica un filtro, es decir, se multiplica para seleccionar una de las dos imágenes, la real o virtual, y se centra en el origen. Por último, se realiza una transformada inversa de Fourier y se reconstruirá la distribución de la amplitud compleja del objeto.

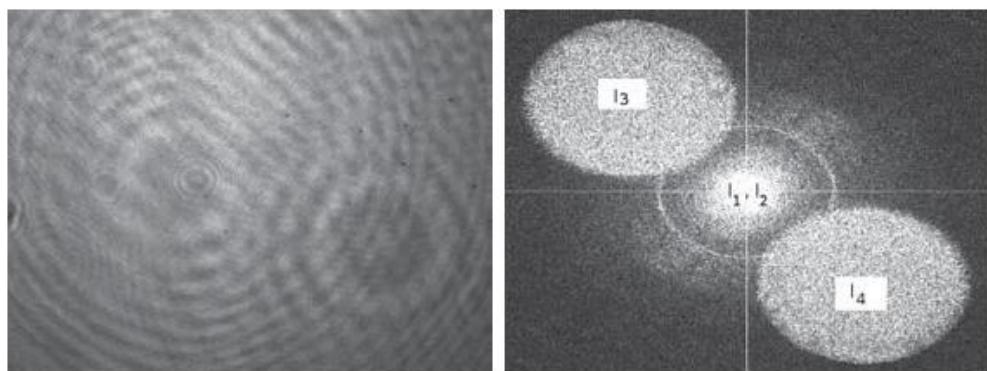


Fig. 2.6 (a) Hologramas obtenidos en laboratorio, (b) Plano de Fourier

En las imágenes de la figura 2.6 podemos observar un holograma obtenido en el laboratorio a la izquierda, y a la derecha el espacio de Fourier con los cuatro términos de la ecuación que han sido explicados.

2.3 Interferometría holográfica

La interferometría holográfica es un método que nos permite detectar cambios en el camino óptico de la onda objeto, cuando esta experimenta algún tipo de cambio. Se basa en encontrar y comparar los diferentes estados de las dos ondas, antes y después del cambio, y cuyo resultado nos proporciona información sobre el cambio de fase y a su vez sobre el cambio del objeto.

Se graban los hologramas, antes y después del cambio, y se reconstruyen por separado. De esta forma se extraen estas dos ecuaciones, que corresponden al primer y segundo estado del objeto respectivamente.

$$\begin{aligned}\varphi_1(\xi, \eta) &= \arctan \frac{\operatorname{Im} \Gamma_1(\xi, \eta)}{\operatorname{Re} \Gamma_1(\xi, \eta)} \\ \varphi_2(\xi, \eta) &= \arctan \frac{\operatorname{Im} \Gamma_2(\xi, \eta)}{\operatorname{Re} \Gamma_2(\xi, \eta)}\end{aligned}\quad (2.16)$$

Una vez halladas las fases, calculamos la diferencia de fase:

$$\Delta\varphi = \begin{cases} \varphi_1 - \varphi_2 & \text{if } \varphi_1 \geq \varphi_2 \\ \varphi_1 - \varphi_2 + 2\pi & \text{if } \varphi_1 < \varphi_2 \end{cases}\quad (2.17)$$

Así una variación de un parámetro físico o un cambio en el índice de refracción conllevará un cambio en la distribución de la fase ($\Delta\varphi$). Hallando la diferencia de fase se podrá hallar información acerca del cambio ocurrido.

A continuación, se describen las principales aplicaciones de la interferometría holográfica.

2.3.1 Medida del desplazamiento

En las mediciones de la deformación de los objetos opacos, el desplazamiento de cada punto de la superficie P da lugar a una diferencia de la longitud del camino óptico $\delta(P)$. Como se puede ver en la imagen 2.7, la diferencia de fase está relacionada con la diferencia en la posición del objeto (P_1 y P_2), y podemos sacar la relación mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta\phi(P) = \frac{2\pi}{\lambda} \delta(P). \quad (2.18)$$

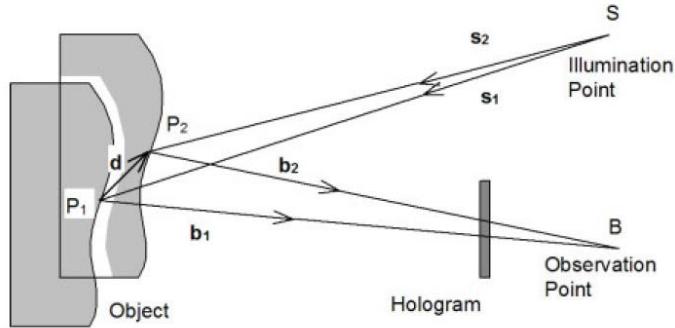


Fig. 2.7 Montaje experimental para medida de desplazamiento

$S = (x_S, y_S, z_S)$ es el punto de iluminación y $B = (x_B, y_B, z_B)$ es el punto de observación. Cuando el objeto se deforma, se obtienen los puntos $P_1 = (x_{P_1}, y_{P_1}, z_{P_1})$ y $P_2 = (x_{P_2}, y_{P_2}, z_{P_2})$, que definen el vector de desplazamiento \vec{d} .

$$\vec{d}(P) = (d_x(P), d_y(P), d_z(P)) = P_2 - P_1 \quad (2.19)$$

La diferencia de la longitud del camino óptico es entre el primer haz y el segundo se encuentra haciendo diferencia de segmentos de línea:

$$\begin{aligned} \delta(P) &= \overline{SP_1} + \overline{P_1B} - (\overline{SP_2} + \overline{P_2B}) \\ \delta(P) &= \overrightarrow{s_1} \cdot \overrightarrow{SP_1} + \overrightarrow{b_1} \cdot \overrightarrow{P_1B} - (\overrightarrow{s_2} \cdot \overrightarrow{SP_2} + \overrightarrow{b_2} \cdot \overrightarrow{P_2B}) \end{aligned} \quad (2.20)$$

Por otro lado, el vector de desplazamiento \vec{d} se puede definir de las siguientes dos formas:

$$\vec{d}(x, y, z) = \overrightarrow{P_1B} - \overrightarrow{P_2B}, \quad \vec{d}(x, y, z) = \overrightarrow{SP_2} - \overrightarrow{SP_1} \quad (2.21)$$

Los vectores unitarios s_1, s_2 y b_1, b_2 (ver figura 2.7), pueden aproximarse a los vectores unitarios \vec{s} y \vec{b} , que apuntan a la bisectriz del ángulo que forman sus parejas anteriores, y serán llamados vector de iluminación y de observación respectivamente.

$$\delta(P) = \vec{s} \cdot (\overrightarrow{SP_1} - \overrightarrow{SP_2}) + \vec{b} \cdot (\overrightarrow{P_1B} - \overrightarrow{P_2B}) \quad (2.22)$$

Combinando la ecuación 2.21 con la ecuación 2.22, se obtienen que la diferencia entre la longitud de camino óptico es:

$$\delta = (\vec{b} - \vec{s}) \cdot \vec{d} \quad (2.23)$$

De la ecuación 2.20, se tiene que el mapa de diferencia de fase resultante cuando el objeto ha sufrido un desplazamiento es:

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} (\vec{b} - \vec{s}) \cdot \vec{d} \quad (2.24)$$

Al registrarse dos hologramas de un objeto que ha sufrido un desplazamiento en, es posible obtener sus mapas de diferencia de fase, como el de la figura 2.8. [VEG 2016]



Fig. 2.8 Mapa de fase [VEG 2016]

Los mapas de fase son franjas horizontales en las que cada una corresponde con un desplazamiento de $\lambda/2$, si los vectores de iluminación y observación están en la misma dirección.

Para la obtención de un mejor mapa de fase se necesitará que el vector de sensibilidad sea lo más grande posible, lo que implica que la longitud de onda sea lo más pequeña posible, es decir, será más recomendable trabajar en el espectro visible que en el infrarrojo. Gracias al alto valor del vector de sensibilidad, nos permite ver más fácilmente las pequeñas variaciones que se encuentren en el mapa.

2.3.2 Medida de forma

Se trata de la modulación de la imagen de un objeto tridimensional por franjas correspondientes a contornos de elevación constante, con respecto a un plano de referencia. Dentro de este campo podemos encontrar dos técnicas dependiendo de cómo se generen los hologramas de contorno.

Método de los dos puntos de iluminación

Para esta técnica se necesitan realizar dos hologramas, pero iluminando el objeto desde dos puntos distintos, como se muestra en la figura 2.9. El primer holograma se ilumina con el extremo de una fibra óptica en la posición S, y para el segundo holograma la fibra se desplaza hasta la posición S'. Los hologramas se reconstruyen por separado y el mapa de fase se calcula restando las distribuciones de fase individuales.

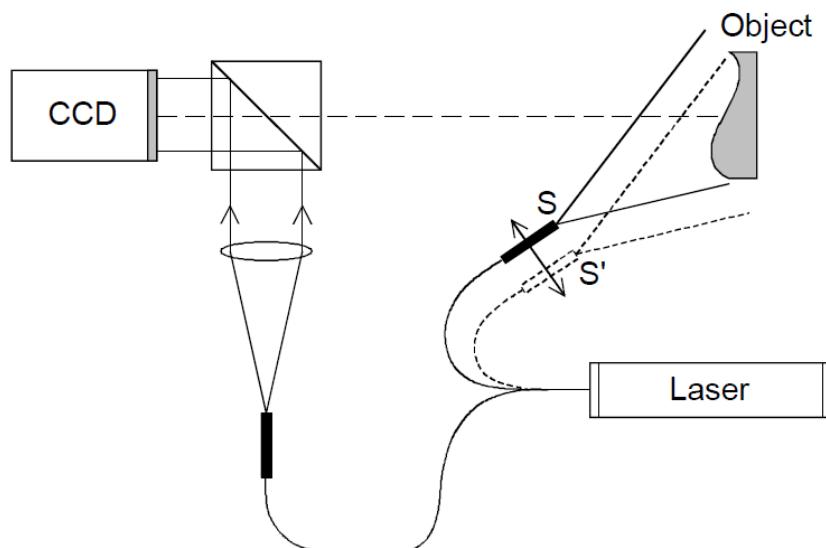


Fig. 2.9 Montaje experimental para la obtención de un holograma

En este caso la diferencia de fase puede calcularse como:

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi}{\lambda} \vec{ps}$$

(2.25)

Y la distancia entre los diferentes contornos viene dada por:

$$\Delta H = \frac{\lambda}{2 \sin \frac{\theta}{2}}$$

(2.26)

Donde θ es el ángulo entre las dos direcciones de iluminación. El resultado será un mapa de fase que se interpreta de forma similar un mapa de contornos. Para obtener una sensibilidad máxima en dirección normal a la superficie, la iluminación debe venir del lado, es decir, el ángulo entre la dirección de iluminación y la dirección de observación debe ser de 90° . Unos de sus problemas es que puede causar sombras debido a variaciones superficiales, por lo que siempre hay que elegir entre la máxima sensibilidad y el mínimo de sombras en las imágenes.

Método de las dos longitudes de onda

Para este método, en holografía tradicional, se registran dos hologramas, con dos longitudes de onda distintos para cada uno, λ_1 y λ_2 . Se registran ambos en la misma placa fotográfica y se reconstruyen con la misma longitud de onda, así, cuando se utilice λ_1 para reconstruir la imagen, ésta será igual a la original. Pero cuando se utilice λ_2 , la imagen se desplazará en la dirección de la observación. La superposición de estas dos imágenes generará franjas que están relacionadas con la forma del objeto.

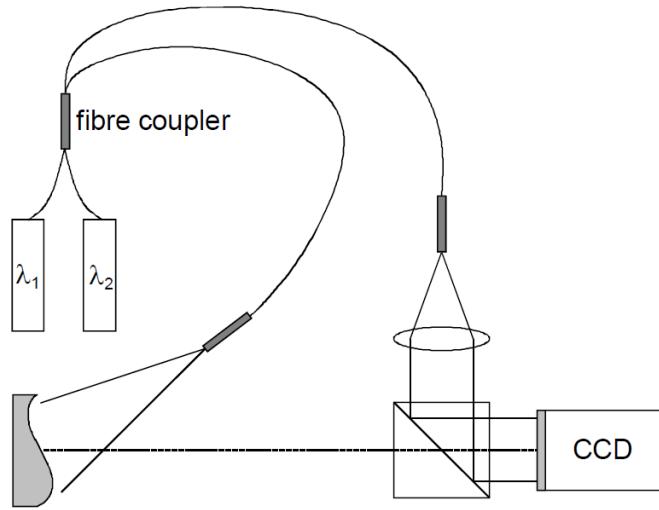


Fig. 2.10 Montaje experimental con dos longitudes de onda

En holografía digital, se registran también dos hologramas con dos longitudes de onda distintas, y se registran electrónicamente en un CCD. En la figura 2.10 se muestra un montaje experimental usado para esta aplicación. Ambos hologramas pueden ser reconstruidos separadamente con su longitud de onda correcta. De las amplitudes complejas se pueden calcular sus fases:

$$\begin{aligned}\varphi_{\lambda 1}(\xi, \eta) &= \arctan \frac{\operatorname{Im} \Gamma_{\lambda 1}(\xi, \eta)}{\operatorname{Re} \Gamma_{\lambda 1}(\xi, \eta)} \\ \varphi_{\lambda 2}(\xi, \eta) &= \arctan \frac{\operatorname{Im} \Gamma_{\lambda 2}(\xi, \eta)}{\operatorname{Re} \Gamma_{\lambda 2}(\xi, \eta)}\end{aligned}\quad (2.27)$$

Y sus diferencias de fase:

$$\Delta \varphi = \begin{cases} \varphi_{\lambda 1} - \varphi_{\lambda 2} & \text{if } \varphi_{\lambda 1} \geq \varphi_{\lambda 2} \\ \varphi_{\lambda 1} - \varphi_{\lambda 2} + 2\pi & \text{if } \varphi_{\lambda 1} < \varphi_{\lambda 2} \end{cases} \quad (2.28)$$

Para este método de dos longitudes de onda, un salto de fase 2π se corresponde con una altura de paso $\Lambda/2$. Donde Λ se llama longitud de onda sintética y está definida como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\Delta H = \frac{\lambda_1 \lambda_2}{2|\lambda_1 - \lambda_2|} = \frac{\Lambda}{2} \quad (2.29)$$

Una modificación de contorno con múltiples longitudes de onda requiere utilizar más de dos para eliminar ambigüedades. Esta técnica también se puede utilizar con objetos que tengan áreas aisladas.

2.3.3 Medida del índice de refracción

Otra aplicación es la medición de las variaciones del índice de refracción de materiales o líquidos transparentes o semitransparentes. Con este método podemos determinar la temperatura o las variaciones de concentración en medios líquidos o gaseosos, ya que un cambio de estas propiedades físicas está relacionado con cambios en el índice de refracción.

Un cambio del índice de refracción provoca una variación de fase entre dos ondas de luz que pasan por el medio, antes y después del cambio. Esta diferencia de fase viene dada por:

$$\Delta\varphi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_{l_1}^{l_2} [n(x, y, z) - n_0] dz \quad (2.30)$$

n_0 es el índice de refracción del medio en su estado inicial y $n(x, y, z)$ es la distribución final del índice de refracción.

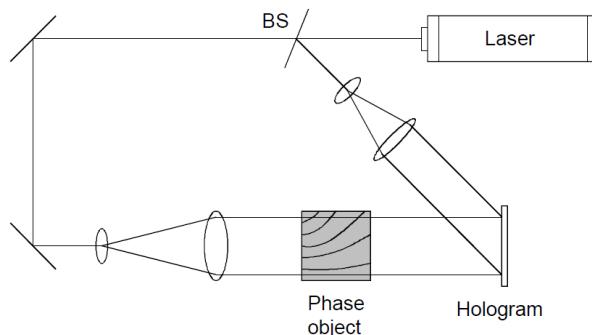


Fig. 2.11 Montaje experimental para grabación de holograma

Un esquema para la grabación de objetos transparentes se refleja en la figura 2.11, donde se tiene una fuente de luz coherente, el medio y componentes ópticos. La luz pasa a través del objeto en la dirección Z, es por esto que la integral de la ecuación 2.30 se realiza a lo largo de esta dirección de propagación. Sin embargo en muchos experimentos, solo debe tenerse en cuenta los objetos de fase bidimensional, ya que, si el medio es relativamente pequeño y en índice de refracción no depende de Z, la variable $\eta(x,y)$ se puede sacar de la integral y determinar el índice. En caso contrario se necesitaría más información.

2.4 Conclusión

Se ha visto a la holografía digital como técnica óptica no invasiva que es capaz de recuperar frentes de onda numéricamente, partiendo del registro de la interferencia entre una onda procedente de un objeto y una onda de referencia.

Si dos hologramas se registran en dos instantes de tiempo se encuentra numéricamente la diferencia de fase entre ambas ondas. Dependiendo de la geometría de registro y del problema, la diferencia de fase será proporcional a los desplazamientos del objeto, a su forma o a su índice de refracción.

Estas medidas son del orden de la longitud de onda y se puede resolver hasta una centésima parte de esa longitud de onda, haciendo de la holografía una técnica de alta resolución.

CAPÍTULO 3: APLICACIONES DE LA HOLOGRAFÍA DIGITAL A ESTUDIOS BIOMÉDICOS

3.1 Introducción

Las técnicas en las que se puede utilizar la holografía digital abarcan campos tales como el estudio de materiales, la industria, la biología e incluso hasta el estudio del arte. El tipo de aplicación y el área de estudio han ido aumentando a lo largo de los años. Sus resultados han sido muy importantes, ya que han conseguido demostrar la posibilidad de analizar propiedades mecánicas de sólidos como dureza, elasticidad, fatiga, rigidez, forma entre otros. En los últimos años la técnica ha cobrado relevancia en el ámbito de la medicina y la bioingeniería. La técnica aplicada a tejidos blandos y duros ha demostrado la posibilidad de analizar propiedades biomecánicas, y a su vez su funcionalidad.

En este capítulo se tratarán algunas de las aplicaciones más relevantes encontradas en la literatura en estudios biomédicos. Al igual que en el anterior capítulo nos centraremos en tres usos en los que se aplica la holografía digital.

3.2 Medida de deformación

La holografía digital permite medir desplazamientos de sólidos del orden de las micras ($\lambda/2$) y a partir de estas medidas, por medio de una relación, se pueden hallar propiedades mecánicas interesantes como la fatiga, dureza, elasticidad, etc.

Las investigaciones en tejidos duros con holografía digital tuvieron lugar con Pedrini [TOR 2016], quien realizó estudios sobre las características biomecánicas y la deformación de la cavidad oral. Más tarde, Kishen [KIS 2004] trató la superficie dental y Lang realizó medidas en 3D con el fin de determinar las características de torsión y maleabilidad de la estructura dental.

Zalansky [ZAS 2006] fue el primero en utilizar técnicas de holografía digital, lo que le permitió medir la deformación y el módulo elástico de la dentina húmeda, [Web 1] un tejido intermedio, más blando que el esmalte y con un alto grado de elasticidad que protege al esmalte suprayacente contra las fracturas. Gracias a la holografía digital pudo encontrar sus propiedades mecánicas.

En cuanto a los tejidos blandos, se realizaron estudios de su tensión, forma y desplazamiento. Un experimento que destacar fue el de Avenhaus [AVE 2005] quien estudió la pared intestinal. Una de las limitaciones de la endoscopia gastrointestinal es la ausencia de percepción táctil, la elasticidad de la pared gastrointestinal se mide a partir de deformaciones de micrómetros. De esta forma, con la HD se podrían detectar zonas gastrointestinales de menor elasticidad o zonas enfermas.

En el campo de la visión, Jaycock [JAY 2005] realizó estudios sobre los efectos en la córnea, centrándose en los cambios acontecidos tras realizar incisiones de microqueratomina. También se hicieron investigaciones en el comportamiento físico de la córnea, sometiéndola a deformaciones. Estos últimos experimentos fueron llevados a cabo por Iqbal.

Los desplazamientos de la córnea sometida a una presión hidrostática desvelaron resultados importantes, ya que las corneas operadas con incisiones de microqueratomina se desplazan un 20% en comparación a las córneas no operadas.

Recientemente, Kenny [KEN 2014] hizo un estudio sobre las vibraciones de los tejidos, realizando investigaciones con el micro-temblor ocular. Esto es el movimiento más pequeño y rápido que se produce en el ojo cuando observamos algo. Los buenos resultados están a la altura de las técnicas clásicas de contacto visual.

A continuación, se presentan con más detalle algunos experimentos relacionados con la medida de deformación de cuerpos dentro del campo de la biomedicina.

3.2.1 Elastografía de materiales blandos y tejidos

La elastografía es una técnica que mide la consistencia o dureza de los tejidos. Se basa en el grado de compresibilidad de un tumor, la cual produce elasticidad y desplazamiento, ya que los tejidos blandos se deforman más que los tejidos duros. Ha sido demostrado que se puede detectar cáncer de mama, próstata e incluso tumores musculoesqueléticos. Dentro de la elastografía podemos diferenciar dos tipos: [Web 2]

- Elastografía semicuantitativa. Recopila datos del tejido antes de realizar cualquier acción sobre él, y a continuación, se realiza una pequeña presión. Se realiza una nueva adquisición de datos y se comparan dos mapas atómicos formados, los cuales se reflejan en un mapa de colores.
- Elastografía cuantitativa. Mide directamente el desplazamiento del tejido sin necesidad de haber aplicado presión, ya que la medida se realiza con microimpulsos acústicos. La ventaja de esta técnica con respecto a la otra es que se trata de una forma sin contacto.

En este trabajo se utiliza la holografía digital para capturar imágenes elastográficas de tejidos blandos utilizando ondas acústicas superficiales. Las ondas acústicas producen movimiento en el tejido que puede ser medido. Un movimiento anormal de la superficie del tejido estaría relacionado con anomalías en el mismo. Tiene especial relevancia en la detección de cáncer de mama, evaluando las ondas sobre el tejido y la uniformidad de estas, lo que constituye una nueva forma para la elastografía de gran volumen y no invasiva.

En la figura 3.1 podemos ver el esquema utilizado en el experimento, en el cual se utiliza un transductor piezoeléctrico para producir las ondas. El piezoeléctrico está en contacto con el tejido fuera del área de iluminación de la muestra, y se desplaza en profundidad hasta 20 μm , va y viene a diferentes frecuencias entre 70 y 300 Hz. [MOH 2012]

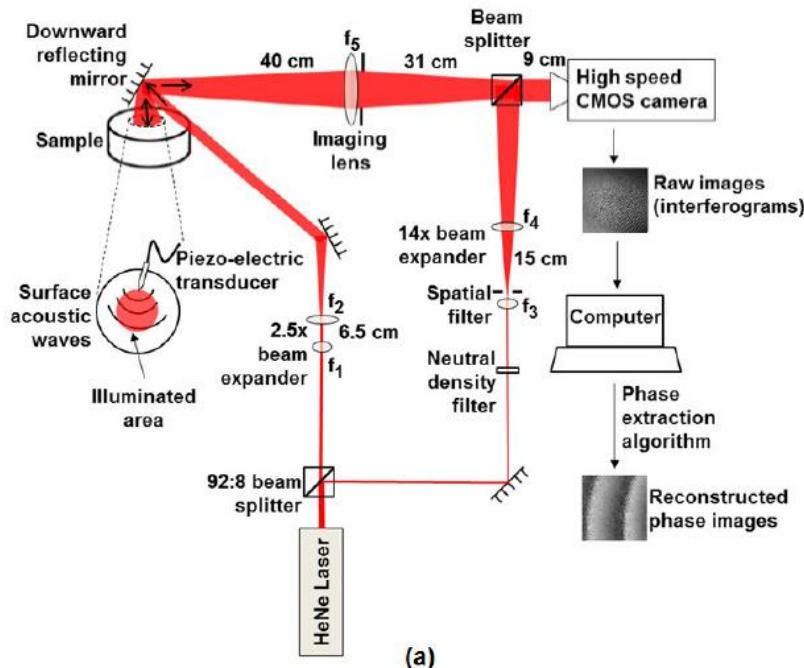
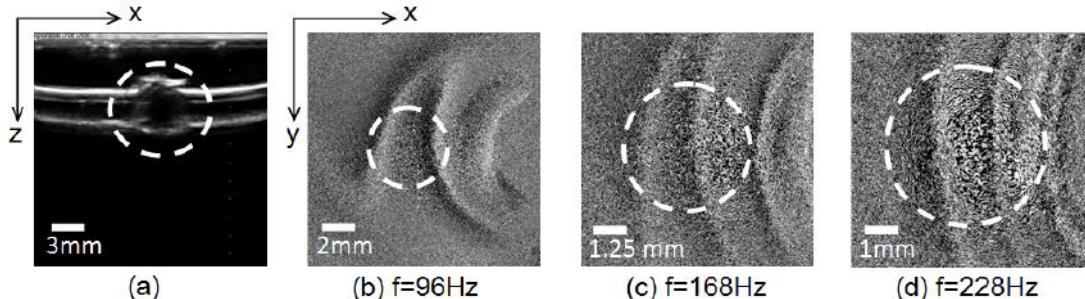


Fig. 3.1 Sistema de holografía digital para el monitoreo de ondas en los tejidos. Las longitudes focales de las lentes son $f_1 = 40\text{mm}$, $f_2 = 100\text{mm}$, $f_3 = 11\text{mm}$, $f_4 = 150\text{mm}$, $f_5 = 200\text{mm}$.

Para probar la técnica propuesta, se fabricaron pequeños cuerpos de silicona, de propiedades ópticas y mecánicas similares al tejido real. En estos modelos que simulan tejido sano, se introdujeron objetos para simular un pequeño tumor. Los hologramas son capturados y mapas de fase son encontrados debido al movimiento micrométrico del tejido. En la figura 3.2 podemos ver los resultados donde se ve que en los mapas de fase se observan las ondas. En los modelos donde no se incluyó ningún cuerpo extraño, a cualquier frecuencia, las ondas siguen un movimiento uniforme. Sin embargo, en el tejido donde fueron añadidos los modelos de tumores, podemos distinguir que hay zonas donde las ondas no siguen su camino sino parece que se desvían. Dentro de este caso, vemos que a frecuencias más altas las ondas permanecen imperturbables, sin

embargo, a frecuencias más bajas es donde se aprecia mejor la perturbación de las ondas.



Tejido con inclusión que simula un tumor.

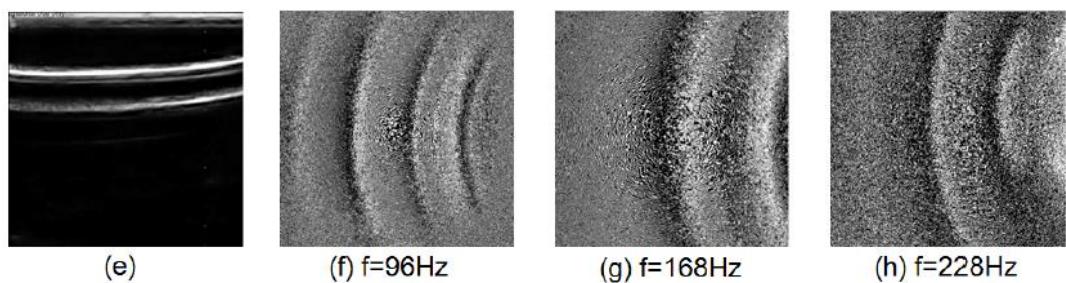


Fig. 3.2 Tejido sin inclusión (tejido sano).

Los resultados muestran el potencial de esta técnica de elastografía utilizando la holografía digital para detectar ondas superficiales y a su vez presencia de tumores en tejido blando. Además, este método proporciona una mayor profundidad de penetración que otros métodos, ya que esta depende de la profundidad de la onda la cual depende a su vez de su frecuencia. Constituye, además, un enfoque no invasivo y novedoso para este tipo de aplicaciones, con una alta resolución ya que es sensible a desplazamiento de escala nanométrica.

3.2.2 Deformaciones en secciones óseas

En este trabajo [ALV 2014] se utilizó un interferómetro digital holográfico para determinar la tensión en la superficie de dos huesos diferentes de animales bovinos. Se obtuvieron secuencias de imágenes que contienen tres tipos de hologramas cada una, de esta forma encuentran las tres componentes de desplazamiento que sufre el hueso cuando es sometido a una fuerza. La realización del experimento se llevó a cabo con diferentes secciones de hueso: el hueso cortical y la sección de la cabeza de la médula craneal. El resultado nos da a conocer la importancia de saber y entender la respuesta mecánica de estructuras biológicas complejas.

En la figura 3.3 observamos esquemáticamente el sistema utilizado. Se utilizan tres láseres. Los tres haces objeto se dirigen y se expanden por medio de dos espejos y dos lentes, y los haces de referencia se guían al sensor con fibras ópticas mono-modo. Cada haz de referencia se combina en el CCD con la luz retrodispersada del hueso, donde se superponen y se graban simultáneamente.

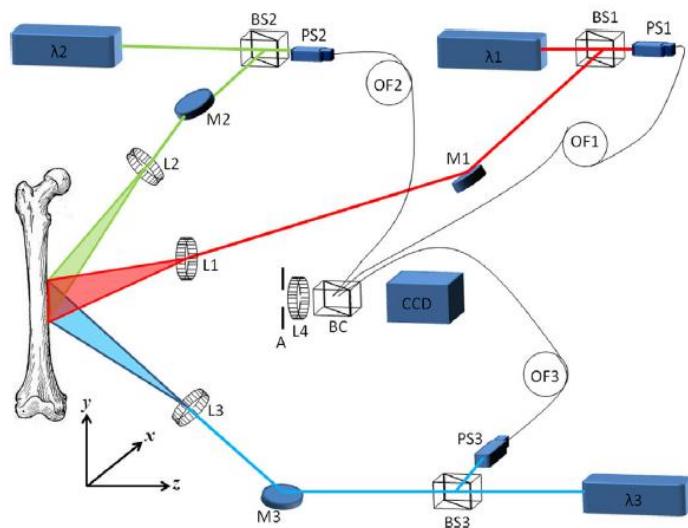


Fig. 3.3 Vista esquemática del sistema experimental

Esto se realiza en dos secciones, primero en la región cortical del hueso (sección longitudinal), donde es agarrado por una prensa mecánica. En la segunda realización, el hueso es cortado perpendicularmente al eje, y en este caso el hueso es más susceptible a las deformaciones externas producidas. En la figura 3.4 se muestra una foto del sistema de sujeción de la pieza osa.

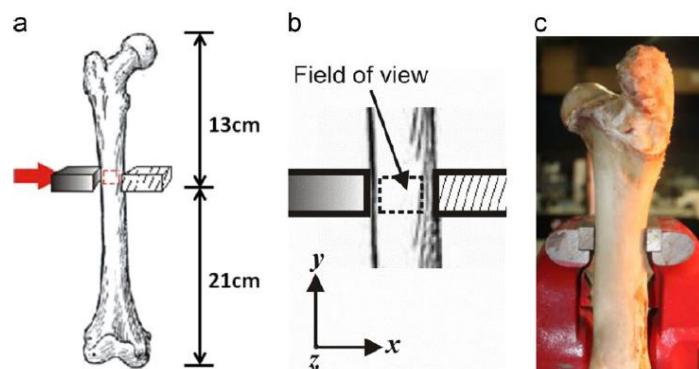


Fig. 3.4 (a) Representación esquemática de la carga ósea en la que la flecha roja a la izquierda muestra dónde se aplicó la compresión mientras se fija el lado derecho del objeto. (b) Área observada con la cámara (22-15mm) mostrada con líneas punteadas. (c) Imagen del hueso fijado durante la primera prueba.

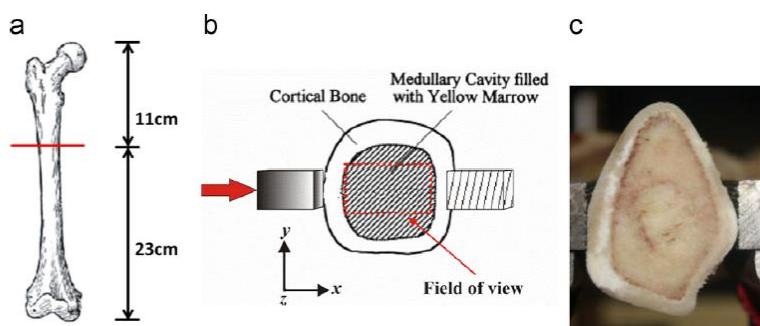
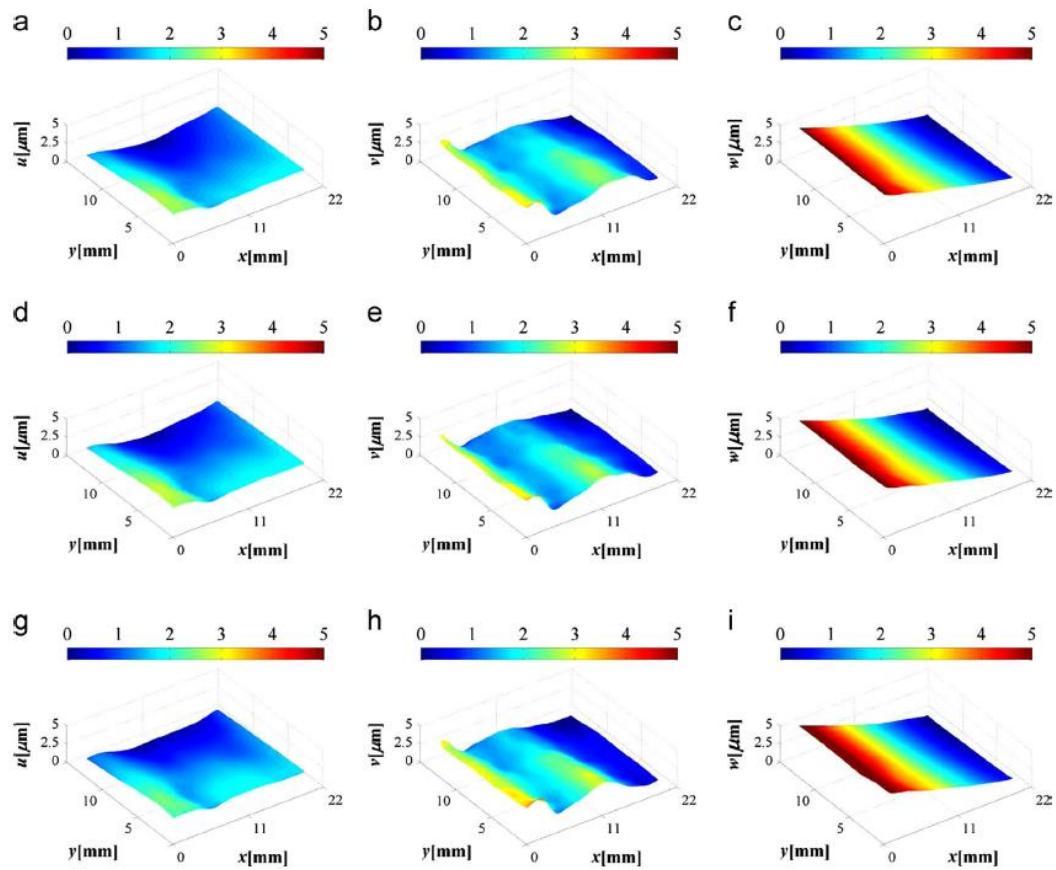


Fig. 3.5 (a) Representación esquemática del hueso donde la línea roja indica la línea de corte. (b) Región transversal del hueso con el campo de visión indicado con la línea punteada roja. (c) Imagen del hueso fijado para la segunda prueba.

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3.6, en ella podemos diferenciar cinco estados consecutivos de deformación. Las tres columnas coinciden con las tres componentes de desplazamiento en x , y y z , llamadas (u, v, w) . Cada color indica el valor del desplazamiento en micras. A medida que se va aplicando más fuerza con la prensa se van midiendo los desplazamientos. Se puede ver un pequeño desplazamiento en la componente u . La componente v muestra una parte semiestática, que es donde la prensa está comprimiendo. Los mapas de desplazamiento en w muestran un comportamiento típico.



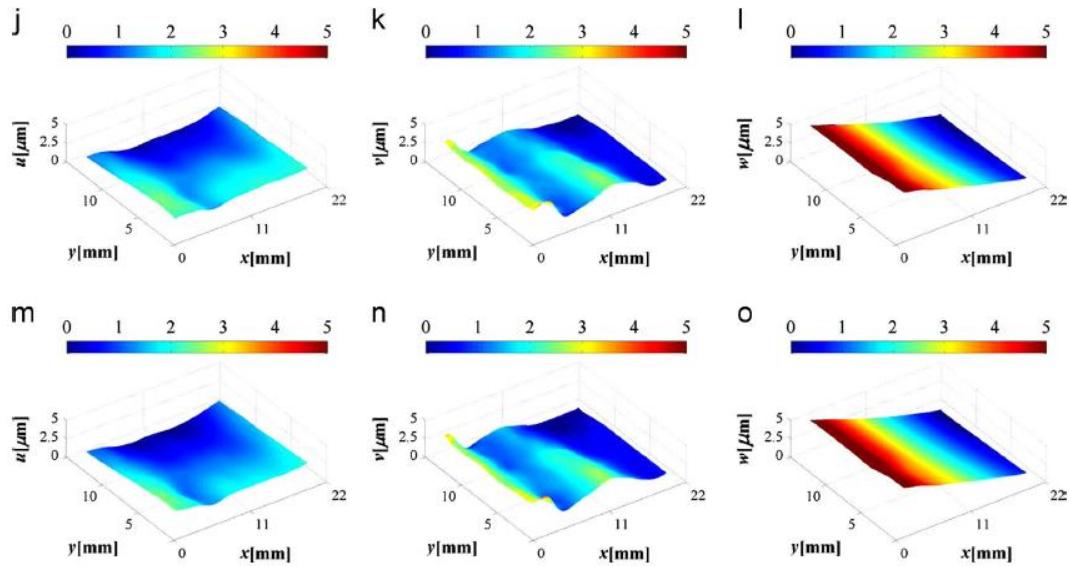


Fig. 3.6 Mapas de desplazamiento de la prueba longitudinal: (a, d, g, j, m) para u , (b, e, h, k, n) para v , (c, f, i, l, o) para w .

De aquí, se puede concluir que la holografía digital no invasiva es una gran manera de poder observar y medir desplazamiento de huesos durante un periodo de tensión. Y de esta forma encontrar propiedades mecánicas del tejido óseo.

3.3 Medida de la forma

En este apartado se van a exponer las técnicas para la medida de formas, ya que son de especial interés para diferentes partes del cuerpo humano como pueden ser la córnea para fines de cirugía, un muñón para la adaptación de una prótesis o unas huellas digitales con el fin de identificación de víctimas.

3.3.1 Forma del tímpano

Dentro del campo auditivo, la membrana timpánica se ha estudiado con diversas técnicas para medir los parámetros mecánicos de su superficie y su forma de vibrar. Este

tejido es importante en el sistema auditivo y forma parte del oído medio, y por consiguiente, su deterioro puede llevar a una pérdida de audición.

La determinación de la forma se realiza siguiendo el montaje que se muestra en la figura 3.7. La luz retrodispersada procedente del objeto se recoge gracias a una lente situada a 5 cm del CCD. En este experimento se mide la forma capturando dos hologramas trasladando la iluminación y reconstruyendo con el método de Fourier. [SOL 2012]

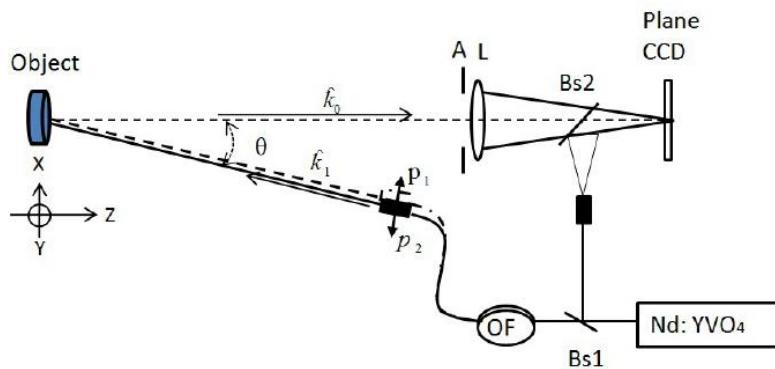


Fig. 3.7 Disposición óptica experimental: Bs1, divisor de haz; Bs2, combinador de haz; L, lente; A, abertura; OF, fibra óptica monomodo; P1, p2, posiciones de iluminación del objeto.

El ángulo θ en el montaje se mide desde la posición fija del objeto hasta el centro del CCD y el desplazamiento angular $\Delta\theta$ depende de la fuente de iluminación del objeto, el cual se ha desplazado del punto p1 al p2. Se puede obtener el contorno de la muestra con la diferencia de las fases obtenidas de los dos hologramas en las dos posiciones y usando la ecuación 3.1:

$$\Delta\phi(x, y) = 2k \sin \frac{\Delta\theta}{2} x \cos \left(\theta + \frac{\Delta\theta}{2} \right) - 2k \sin \frac{\Delta\theta}{2} h(x, y) \sin \left(\theta + \frac{\Delta\theta}{2} \right), \quad (3.1)$$

Así, podemos determinar el cambio de la altura del objeto a partir de la diferencia de las dos fases. Para ángulos más pequeños la sensibilidad de la medida es mayor:

$$\Delta h \approx \frac{\lambda}{\Delta\theta \sin \theta}, \quad (3.2)$$

Como forma de probar la técnica, se mide la forma de una esfera. En la figura 3.8 se muestra el mapa de fase resultante. La figura 3.8 a representa la distribución de la fase envuelta, y en la figura 2b se puede observar el desplegado de la fase. La esfera está inclinada y eso se evidencia en el aumento de la fase en dirección horizontal. Mientras que la forma esférica se evidencia en la curvatura de las franjas.

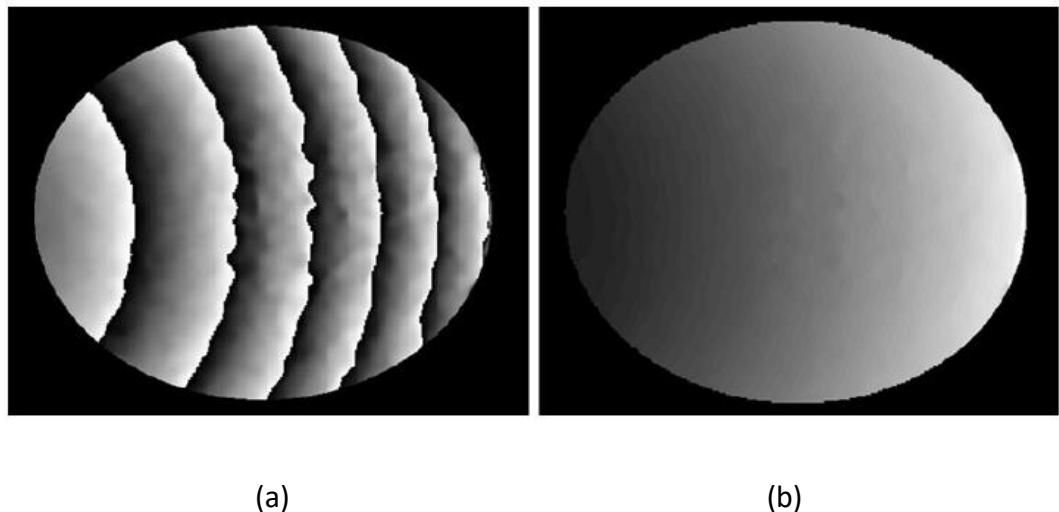


Fig. 3.8 Contorno superficial experimental de una esfera metálica usando un método de dos posiciones de iluminación: (a) fase envuelta, y (b) mapas de fase no envueltos con inclinación.

La figura 3.9 muestra la forma de la esfera que se encontró a partir de los mapas de fase. En la figura 3.10 vemos la forma de la membrana timpánica obtenida con el mismo sistema de medida.

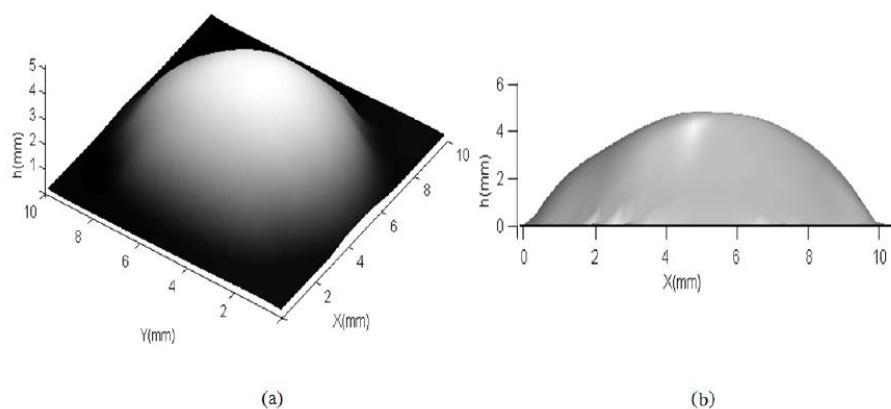


Fig. 3.9 (a) Esfera obtenida a partir de los mapas de fase (b) Forma de la membrana timpánica

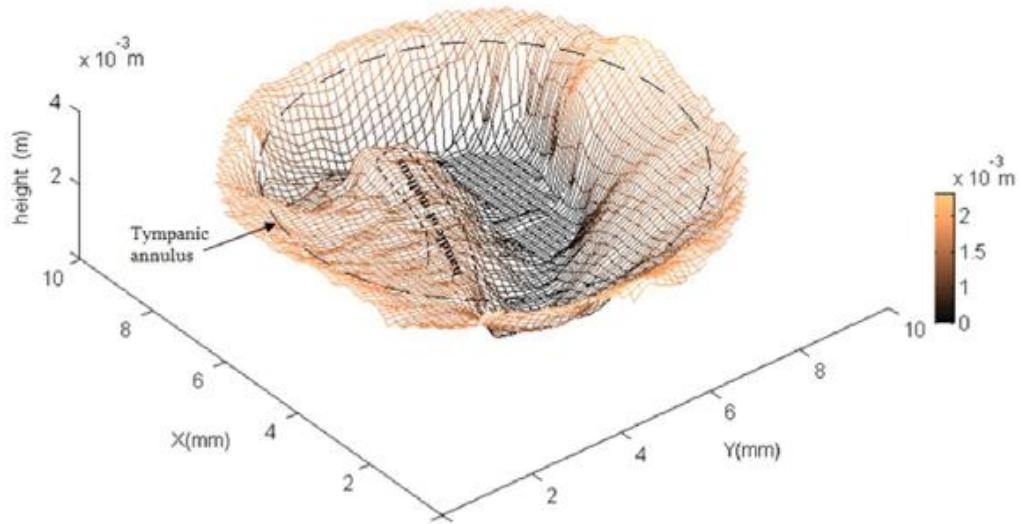


Fig. 3.10 Reconstrucción de membrana timpánica.

3.3.2 Medida de superficie rugosa

Otra investigación [AND 2014] que destaca es la medida de forma dinámica de superficies rugosas con un método de dos longitudes de onda. La configuración se muestra en la figura 3.11 donde los rayos de los dos láseres se guían por fibra óptica con una longitud de onda sintética de 3.6mm.

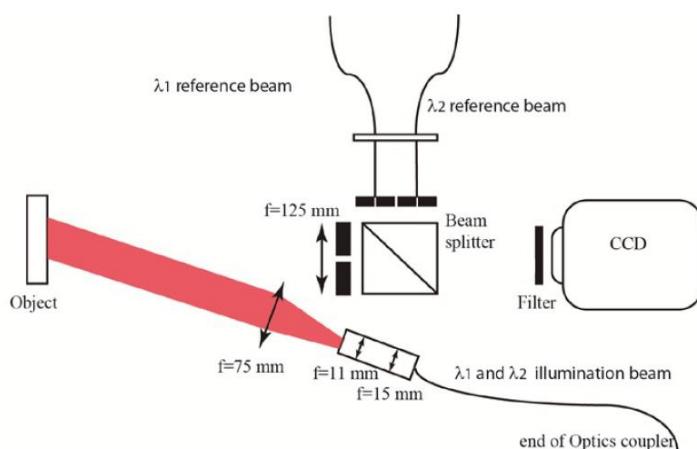


Fig. 3.11 Configuración óptica para dos registros de longitud de onda.

La luz dispersada por la superficie del objeto se visualiza en el CCD. Entonces queda registrado el holograma con las dos longitudes de onda de misma dirección. Sin embargo la posición de cada haz de referencia es diferente, de esta manera cada holograma de cada longitud de onda puede ser separado y filtrado en el plano de Fourier, como se muestra en la figura 3.12. Así se obtienen dos mapas de fase con los que se encuentra el mapa de diferencia de fase.

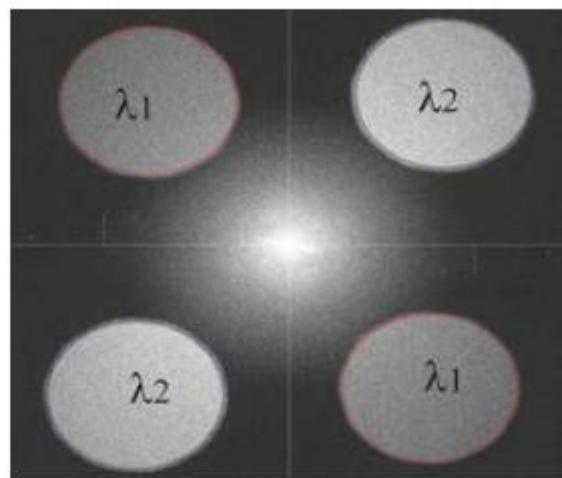


Fig. 3.12 Mapa de Fourier de la grabación holográfica con dos longitudes de onda simultáneamente.

Es importante fijarse en la posición de las aperturas de las imágenes en el plano de Fourier, ya que, si ambos centros están desplazados, una serie de líneas paralelas aparecen en los mapas de fase. Por lo que habría que cambiar el centro de la longitud de onda hasta que estas franjas desaparezcan. En las imágenes de la figura 3.13 podemos observar diferentes mapas de fase para diferentes ángulos.

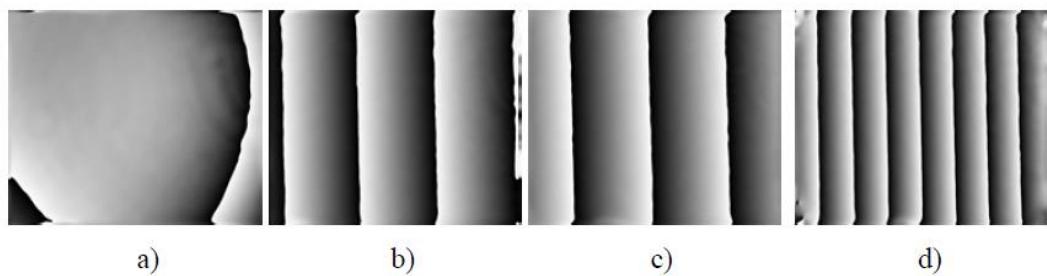


Fig. 3.13 Mapas de fase para diferentes ángulos. A) Para 0º grados. B) 20º en sentido horario c) 20º en sentido antihorario. D) 40º en sentido antihorario.

Con esta técnica se pretende comparar los mapas de fase y medir las formas de materiales. Para ello se utilizaron diferentes objetos: caucho, globo, mármol y cerámica; y se obtuvieron los mapas de fas de la figura 3.14 y 3.15. También se realizó de nuevo el proceso al mármol con capa de pintura sobre él.

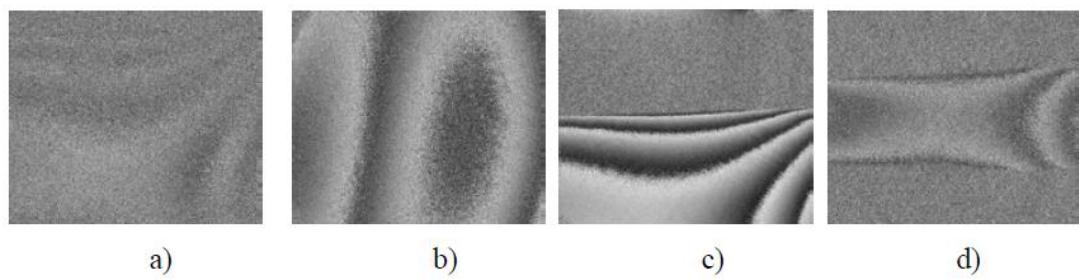


Fig. 3.14 Diferencia mapas de fase de diferentes materiales: a) goma flexible b) caucho fuerte, c) globo inflado, e) globo sobre una barra de vidrio.

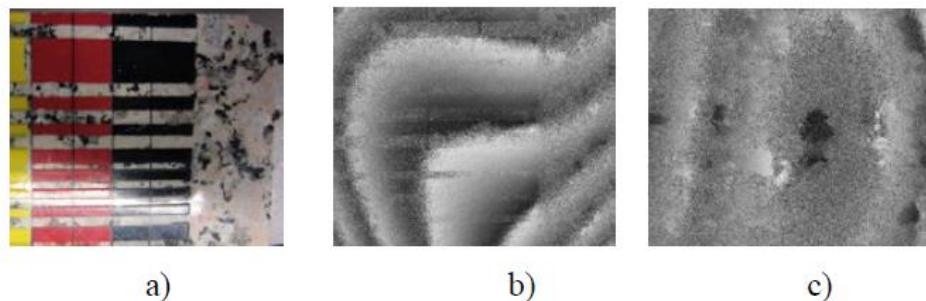


Fig. 3.15 a) superficie de mármol con rayas pintadas, b) mapa de fase de diferencia, c) detalle ampliado del mapa de diferencia de fase correspondiente a las áreas no pintadas

Finalmente, como aplicación interesante en el ámbito biomédico se mide la forma de un vaso sanguíneo. El resultado se muestra en la figura 3.16. Es de interés encontrar la forma de los vasos para descubrir alguna anomalía como los aneurismas, que son deformaciones anormales de la pared del vaso sanguíneo.

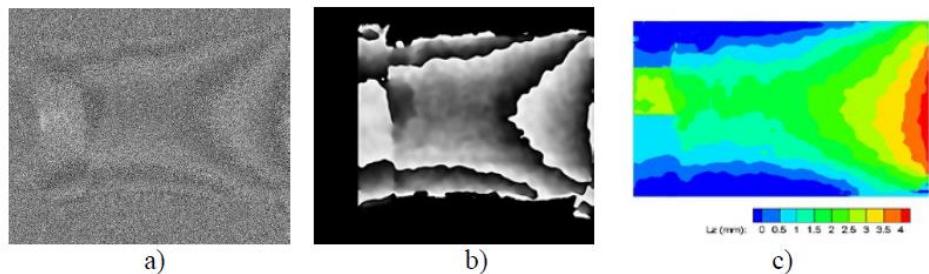


Fig. 3.16 Resultados para una vena de oveja. A) Mapa de fase de diferencia c) Mapa de filtro después de aplicar la máscara c) Mapa de superficie 2D.

3.4 Medida del índice de refracción

La técnica de la holografía digital se puede usar para medir cambios de índices de refracción. Estos cambios están relacionados con cambios físicos que esté sufriendo la muestra como cambios de temperatura. La holografía digital ofrece también, como vemos en este trabajo, nuevas capacidades de microscopía biomédica. La microscopía de fase por holografía digital se ha aplicado a la imagen de varios tipos de células, como las células cancerígenas en los ovarios. También se utilizó para realizar el seguimiento de los cambios que los fármacos pueden llegar a producir en las células. A continuación, se muestran algunos trabajos donde se ha usado esta aplicación en problemas biomédicos.

3.4.1 Estudio de burbujas de cavitación usando microscopía holográfica digital

En este trabajo [TAN 2015] se describe el uso de holografía digital para medir la formación y espesor de burbujas de cavitación, las cuales se producen cuando se crean cavidades de vapor dentro de un fluido sometido a diferencias de presión.

Las burbujas de cavitación, dentro del campo de la biomedicina, pueden llegar a generar desgaste en las superficies de apoyo a través de un sistema de erosión. Esto es afecta por ejemplo en las prótesis implantadas en personas, donde el movimiento de la articulación puede llegar a generar estas pequeñas burbujas, y sería perjudicial. En este trabajo se pretende, mediante la utilización de holografía digital, medir el espesor de las burbujas de cavitación formadas, que será en torno a los micrómetros.

También se aplican para la fragmentación de cálculo renales mediante ondas de choque [Web 3], ya que se produce el efecto de cavitación y se forman estas pequeñas burbujas de aire en el medio líquido. Sufren un proceso de compresión y rápidamente se colapsan, produciendo unos microchorros que golpean la superficie del cálculo produciendo fracturas en él.

Para la realización de este experimento se utiliza un microscopio holográfico [KIM 2010] como el de la figura 3.17. Se utiliza una onda plana con una longitud de onda de $\lambda=523\text{nm}$ que es dividida en el haz de referencia y en el haz objeto, por medio de un divisor de haz 50:50. La imagen de las burbujas generada por el objetivo del microscopio, interfiere con la onda de referencia y se graba un holograma plano en el CCD.

Para estudiar este fenómeno, las burbujas se producen al juntar una superficie plana con otra superficie curva (lente cilíndrica), dejando una separación entre ambas de unas 100 micras. Entre ambas se coloca un líquido altamente viscoso el cual, al comenzar a mover la superficie plana, se producen las burbujas en su interior. Tanto las superficies

de contacto como el líquido son transparentes, con lo cual la luz del haz de iluminación pasa a través de ellos para dirigirse al objetivo de microscopio.

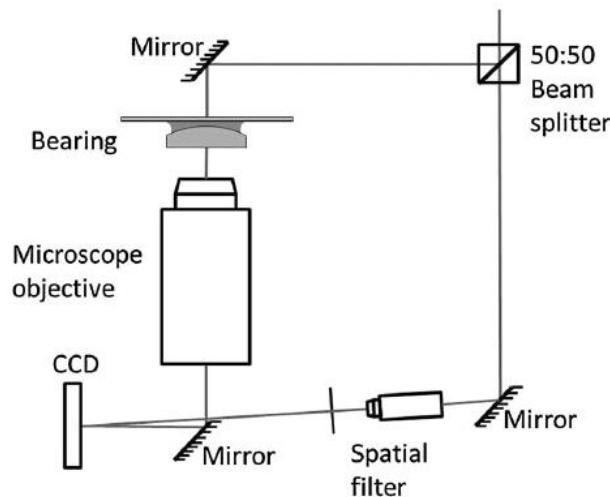
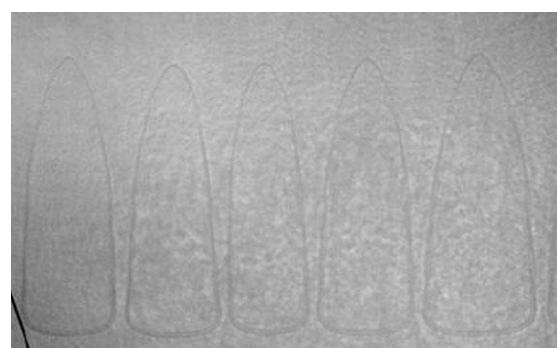
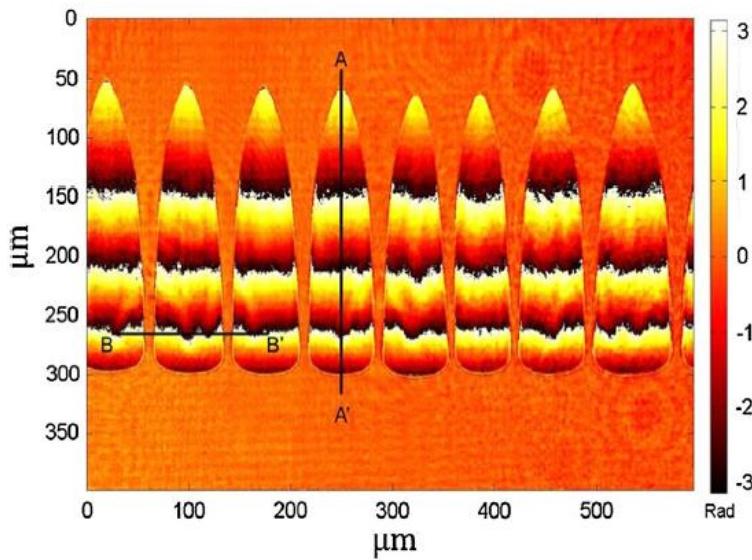


Fig. 3.17 Microscopio holográfico digital.

En la figura 3.18 (a) se muestra la imagen que se observa con el microscopio, se ve el contorno de las burbujas de aire que han sido generadas a lo largo de la superficie cilíndrica. Son burbujas alargadas de forma semi-triangular. La imagen microscópica nos da información en 2D (plano x-y), pero la holografía nos permite hallar información en profundidad (z). El mapa de fase resultante se muestra en la figura 3.18b, donde aparecen franjas que están relacionadas con el cambio de índice de refracción que ha ocurrido al aparecer las burbujas.



(a)



(b)

Fig. 3.18 (a) Imagen del microscopio (b) Mapa de fase restante

A partir de la información de fase, y conociendo el cambio de índice, ya que se conoce el índice del líquido y del aire, se puede hallar información del grosor de la burbuja. En la figura 3.19 se encuentra el espesor de la burbuja que se ha calculado en función de la posición longitudinal de la burbuja, donde el cero es el centro del cilindro. Se ve que el grosor de la burbuja se hace mayor a medida que la distancia al centro se hace más grande.

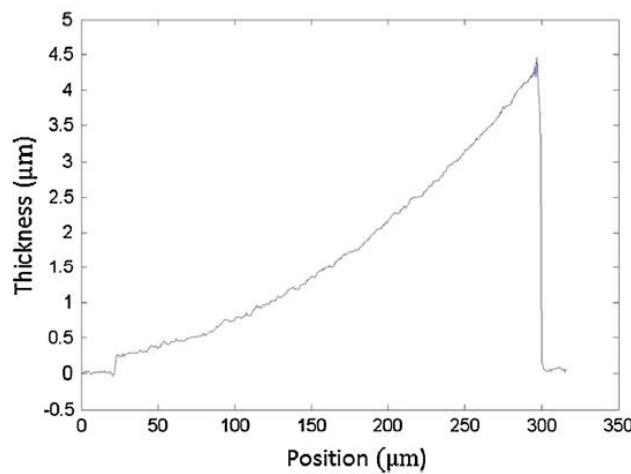


Fig. 3.19 Espesor de la burbuja a lo largo de la línea A-A' en la figura (anterior)

Este trabajo es el primer estudio experimental que mide las burbujas de cavitación utilizando holografía digital. El beneficio de utilizar esta técnica es que queda registrada tanto la fase como la amplitud de la onda y con esta información, se puede realizar las mediciones de espesor y posición de manera precisa. Este estudio permite conocer más acerca del fenómeno de cavitación.

3.4.3 Medida de temperatura

En varias aplicaciones es de interés monitorizar el cambio de temperatura de cuerpos biológicos in-vivo. A veces es necesario medir cambios muy pequeños, imperceptibles con un termómetro corriente, o realizar medidas donde el contacto sea mínimo. La técnica de holografía digital es ideal en estos casos, gracias a su capacidad de medida en rangos de temperatura muy pequeños, y a la no necesidad de contacto con el tejido a medir.

En este trabajo [GUE 2016] se mide perfiles de temperatura en el enfriamiento de un líquido utilizando holografía digital. El esquema utilizado en este experimento se observa en la figura 3.20 y 3.21.

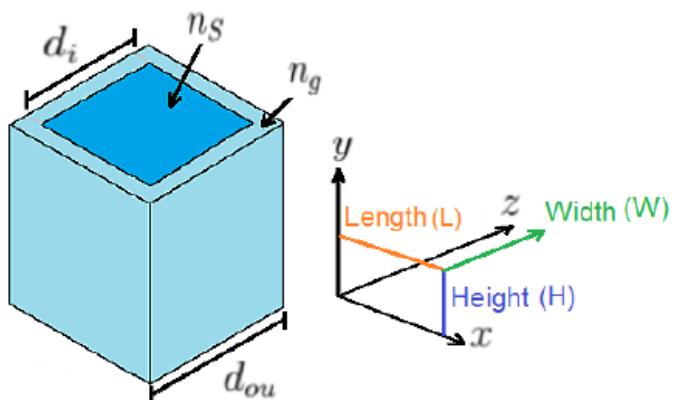


Fig. 3.20 Contenedor rectangular. d_i y d_{ou} son las longitudes del lado interior y exterior del recipiente, respectivamente; n_s y n_g son los índices de refracción de la muestra líquida y las paredes de vidrio, respectivamente. Las dimensiones de la célula son 10x10x50 mm

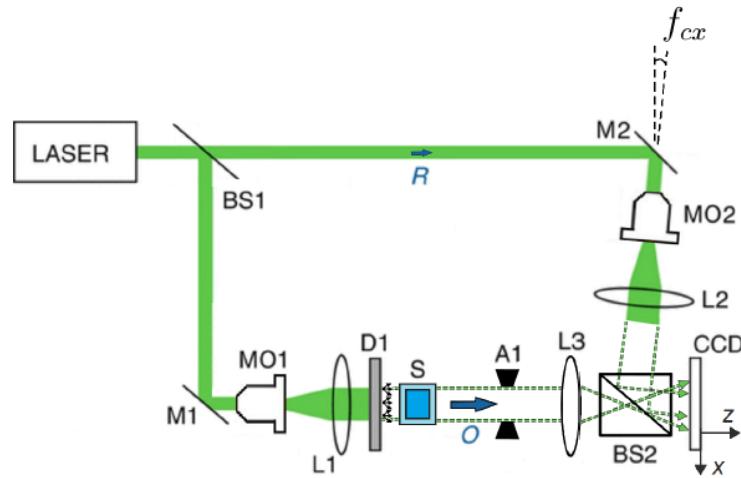


Fig. 3.21 Diagrama esquemático de la configuración experimental usando holografía digital

Se utiliza un cubo de cuarzo con paredes transparentes, cuyo interior se llena de líquido también transparente y con un índice de refracción similar. Se ilumina por un extremo de la pieza y por el otro se recoge el haz con una lente, y se hace interferir con el haz de referencia.

Para llevar a cabo el experimento, se graba un holograma cuando el líquido está a una temperatura inicial alta. Después de un tiempo se realiza el segundo holograma, de manera idéntica, cuando la temperatura ha descendido ligeramente. Gracias a los dos hologramas podemos obtener el mapa de diferencias de fase en el que se determina la variación de la temperatura, pero además se puede obtener el valor de la temperatura para cada instante. Esta variación puede expresarse como:

$$\Delta n_S(x, y, t) = \left[\frac{\partial n_S}{\partial T} \right]_{Con} [T_t(x, y, t) - T_0(x, y, 0)] + \left[\frac{\partial n_S}{\partial Con} \right]_T [Con_t(x, y, t) - Con_0(x, y, 0)] \quad (3.3)$$

Gracias a ella podemos obtener el índice de refracción en función de la temperatura y la concentración de la solución en un tiempo determinado tiempo t . Si la solución del líquido permanece constante en ambos períodos se puede concluir:

$$\Delta n_S(x, y, t) = \left[\frac{\partial n}{\partial T} \right]_{Con} [T_t(x, y, t) - T_0(x, y, 0)] \quad (3.4)$$

En la imagen de la figura 3.22 podemos observar los mapas de fase para distintos intervalos de tiempo. Se han seleccionado distintos puntos como referencia (p1, p2, p3).

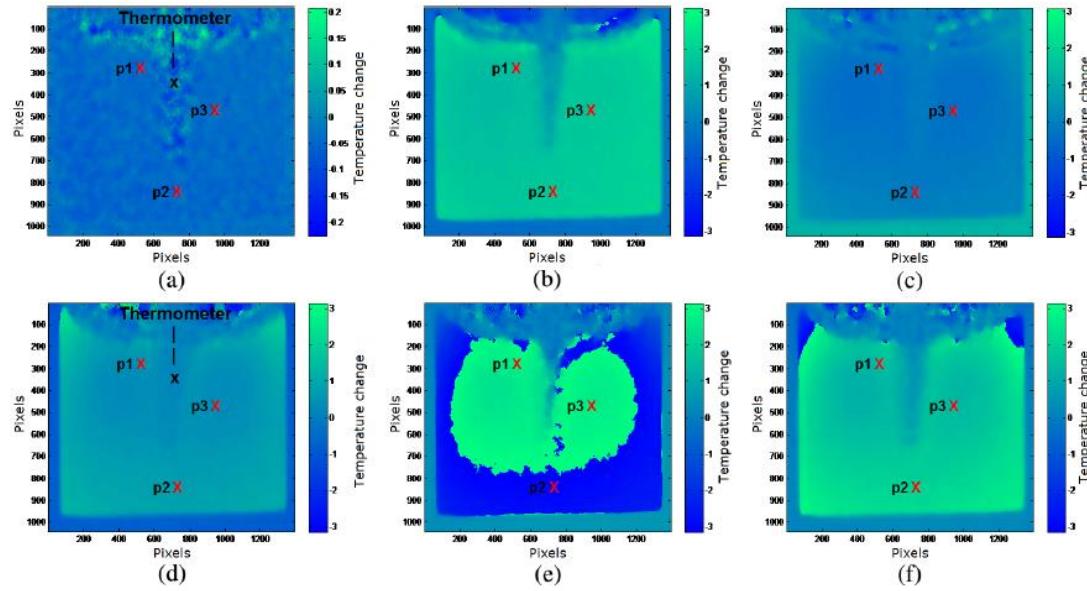


Fig. 3.22 La diferencia de fase en dos dimensiones (en radianes) del agua destilada en tiempo diferente:
 (a) $t = 1$ s; (b) $t = 21$ s; (c) $t = 43$ s; (d) $t = 64$ s; (e) $t = 86$ s; (f) $t = 108$ s.

Se utilizaron los mapas de fase unidimensionales y cada resultado se fue introduciendo en la ecuación 3.4. Las medidas obtenidas se compararon con las obtenidas con un termómetro y el resultado es el que se ilustra en la figura 3.23.

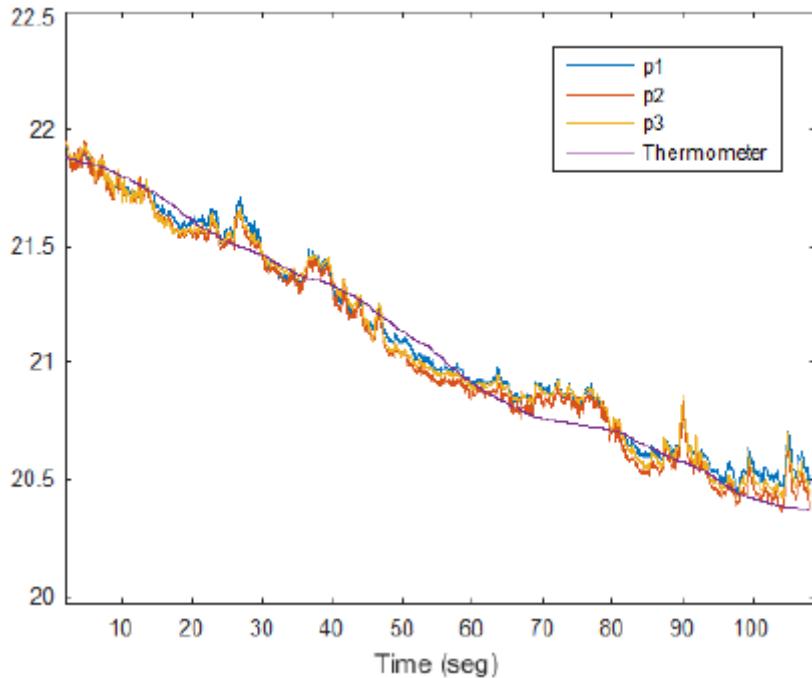


Fig. 3.23 Variación de fase en los píxeles p1, p2 y p3 con los valores de temperatura en cada punto

Gracias a los resultados de este trabajo se pudo concluir que los valores de temperatura obtenidos y los medidos con un termómetro son muy similares, otra razón más para su posible uso ya que no se precisa de una interacción física con el objeto a estudiar, además de ser no invasivos, no destructivos y de medir campos completos de temperatura. Cabe destacar que las diferencias de fase no fueron filtradas en ningún momento, por lo que los datos no se degradaron y se obtienen con buena precisión.

3.5 Conclusión

En este capítulo se han visto distintos trabajos relacionados con las distintas aplicaciones de la holografía digital. El avance en esta técnica supone un gran desarrollo para los campos de la ingeniería y de la medicina, pues significa la obtención de medidas más precisas. La gran ventaja de este método a diferencia de instrumentos o técnicas utilizadas a diario es la no invasión y la mínima necesidad de contacto con el elemento a estudiar. Para la ingeniería puede ser una gran ayuda para el control de estructuras que presenten pequeñas deformaciones con el tiempo, y en la medicina puede prevenir

y mejorar el descubrimiento y seguimiento de diferentes tipos de enfermedades. Además, la holografía digital permite realizar las mediciones en un rango de las micras, lo cual es una gran ventaja ya que la gran mayoría de las técnicas utilizadas no permiten manejar tal precisión. En este capítulo se han visto una variedad de aplicaciones, lo que abre un abanico sin fin de posibles estudios y medidas.

CAPÍTULO 4: HOLOGRAFÍA DIGITAL ENDOSCÓPICA

4.1 Introducción

En los capítulos anteriores se ha visto el potencial de la tecnología de la holografía digital para medir deformaciones, desplazamientos, formas y cambios de índice de refracción; experimentos que fueron realizados en laboratorio.

Ahora se explora si es posible aplicar esta técnica en un ámbito clínico. Para poder realizar exploraciones internas en órganos o tejidos de forma mínimamente invasiva, los especialistas hacen uso de dispositivos endoscópicos. La cuestión es saber si la técnica de la holografía digital se puede combinar con el uso de estos dispositivos médicos comerciales. Y por lo tanto el objetivo de este capítulo es concluir si esto es posible.

A continuación, se verá el trabajo realizado sobre un vaso sanguíneo y la capacidad elástica que poseen sus paredes internas y externas a la vez que un fluido le recorre por dentro. También veremos cómo se utilizan estas dos técnicas para estudiar la elasticidad del interior de la pared gástrica, y gracias a ello poder detectar distintos tipos de enfermedades como el cáncer. Por último, veremos estas dos técnicas aplicadas al estudio de la deformación de la membrana timpánica.

4.2 Funcionamiento del endoscopio

La endoscopia es una técnica diagnóstica, de la rama de la medicina, que consiste en la introducción de una cámara o lente dentro de un tubo o endoscopio a través de un orificio natural, una incisión quirúrgica o una lesión para la visualización de un órgano hueco o cavidad corporal. El instrumento utilizado en estas prácticas se llama endoscopio y está formado por una sonda flexible la cual presenta una luz que permite que la cavidad sea observable y una cámara en el extremo de la sonda.

Gracias a esta herramienta, se ha desarrollado mucho en el campo de la medicina influyendo tanto en la prevención, diagnóstico y pronóstico de muchas enfermedades. Dependiendo de la naturaleza del trabajo, pueden utilizarse diferentes tipos de endoscopios, los cuales se clasifican en rígidos o flexibles.

4.2.1 Endoscopios rígidos

Los endoscopios rígidos son aquellos que como su nombre lo indica tiene un extremo rígido tubular que entra en el interior del cuerpo. Existen diferentes tipos como son el otoscopio, que se utiliza para examinar el canal auditivo; el laparoscopio, para observar la cavidad abdominal mediante una punción; y el artroscopio, para examinar la anatomía interna de las articulaciones.

En la imagen 4.1 podemos observar cada uno de ellos. [ARE 2015b]

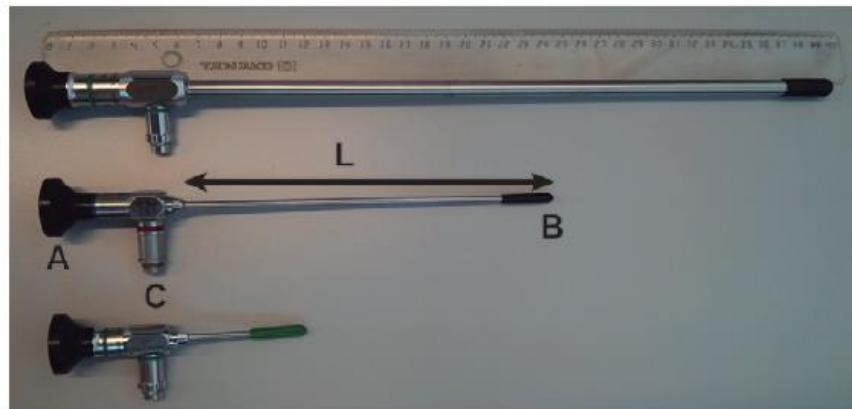


Fig. 4.1 Endoscopios utilizados (laparoscopio, artroscopio y otoscopio). A: ocular en el extremo proximal; B: extremo distal, donde se encuentra el puerto de salida de luz; C: puerto de luz de entrada; L: longitud de trabajo.

	Laparoscopio	Artroscopio	Otoscopio
Medida de trabajo (mm)	300	180	50
Diámetro (mm)	10	4	4
Campo de visión	75°	65°	90°

Tabla. 4.1 Características de los endoscopios

El otoscopio, se utiliza para el estudio del oído interno y utiliza una longitud de trabajo de 50mm, además posee un ángulo de visión amplio. El laparoscopio es mayor que el anterior, posee un diámetro de 10mm y un campo de visión de 75°. Su mayor ventaja es la gran cantidad de luz que recoge del objeto iluminado. Por último, el artroscopio posee las características del campo de visión del laparoscopio y el pequeño diámetro del otoscopio. En la tabla 4.1 se observan sus diferentes características.

Los endoscopios poseen iluminación incluida, gracias a un haz de fibras que rodean las lentes, la entrada de la luz se hace por un lateral y la salida se encuentra en el extremo distal. En general se suele usar una fuente de luz blanca guiada por fibra para iluminar el órgano a estudiar. Para estudiar las características de los endoscopios se realiza el siguiente experimento, en la figura 4.3 podemos observar el montaje experimental. Una rejilla milimétrica y translúcida es iluminada con el endoscopio y queda grabado en una cámara CCD la imagen que se ve con el dispositivo y usando una lente.

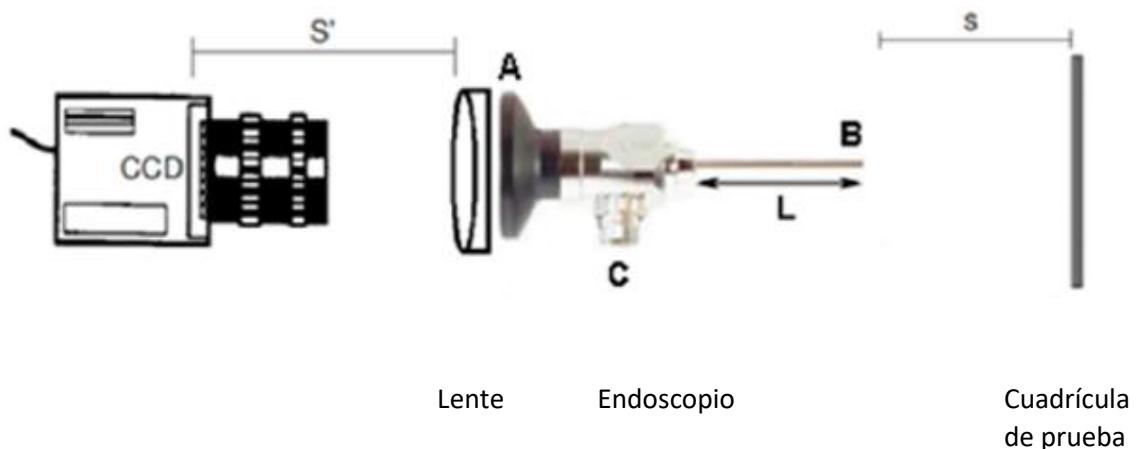


Fig. 4.3 Configuración experimental para medir el rendimiento de los endoscopios como dispositivos de visualización.

En la figura 4.4, vemos imágenes registradas con los tres tipos de instrumentos. Pudiéndose observar la diferencia entre los tres dispositivos.

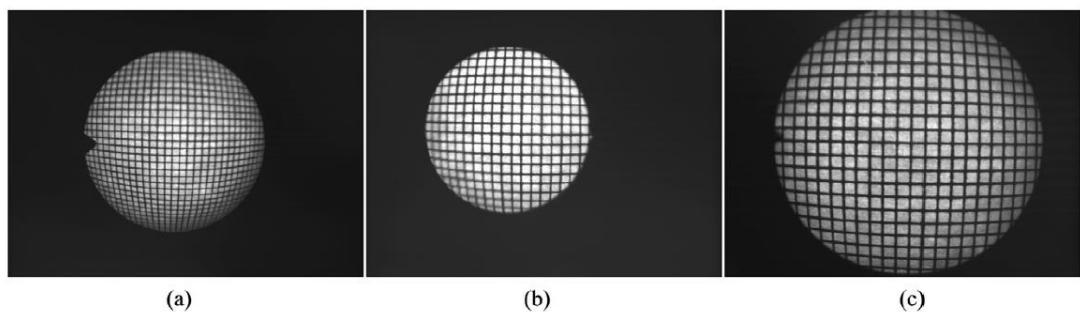


Fig. 4.4 Imágenes registradas en $s = 15$ mm para (a) el otoscopio, (b) el artroscopio y (c) el laparoscopio.

En los experimentos de holografía, la luz se genera en un láser de estado sólido bombeado con un diodo acoplado a 90 fibra de 532nm y 317mW, y se envía hasta la entrada lateral.

4.2.2 Endoscopios flexibles

Los endoscopios flexibles son los más utilizados en medicina, en la actualidad. A diferencia de los rígidos poseen la ventaja de tener una parte flexible y larga con fibras en su interior, lo que permite llevar la imagen a una cámara o directamente a la vista del especialista que le de uso. Además, son muy útiles para realizar observaciones en el interior del estómago y de los intestinos, ya que son lugares de difícil acceso y a los que el endoscopio flexible puede llegar sin ningún problema. En las intervenciones, también se les suele acoplar algún instrumento quirúrgico.

Algunos de los más utilizados son el esofagogastroduodenoscopio para inspeccionar el revestimiento del estómago y la primera parte del intestino delgado y el colonoscopio empleado para visualizar el interior del colon (intestino grueso) y el recto. En la imagen 4.5 podemos ver un ejemplo de ellos.



Fig 4.5 Esofagogastroduodenoscopio y colonoscopio

4.3 Evaluación de la pared estomacal

La endoscopia digestiva alta o gastroscopia es una prueba que sirve para diagnosticar y tratar enfermedades del esófago, el estómago y el duodeno. La mayor limitación que posee es la ausencia de percepción táctil, impidiendo la visión de la elasticidad de la pared estomacal al realizar el análisis. Por ello, en este trabajo se quiere combinar la

holografía digital y la técnica endoscópica para poder estudiar las distintas áreas del estómago. La diferencia de elasticidad en las distintas zonas estudiadas nos muestra una posible alteración del tejido, y de esta forma se pueden detectar posibles enfermedades como el cáncer.

Para la realización de este trabajo [AVE 2005] se utilizó un esquema de montaje como el que se muestra en la figura 4.6.

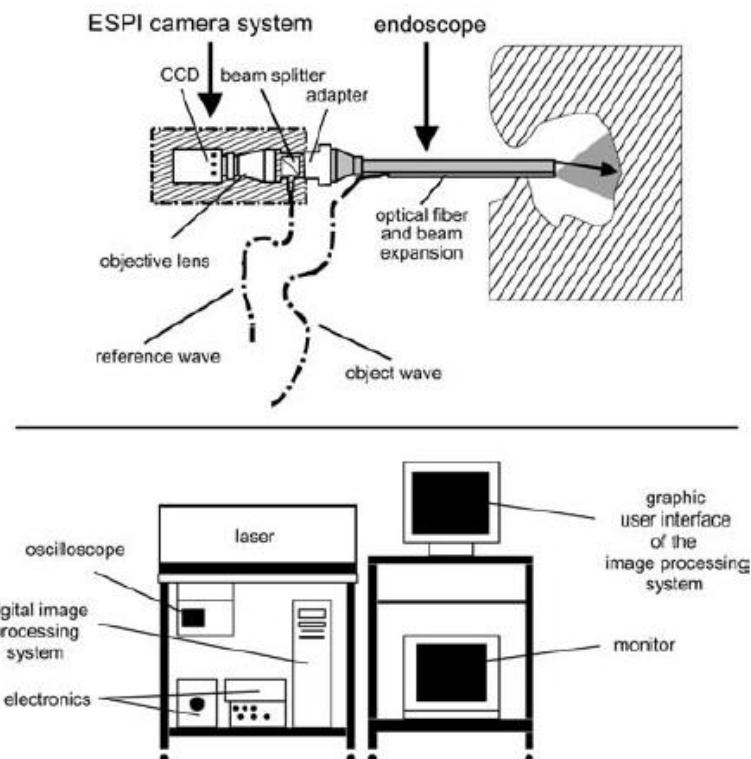


Fig. 4.6 El sistema electrónico móvil de la cámara del patrón de interferometría de Speckle: sobre el sistema de medición; unidad óptica de medición y unidad óptica de operación

Se utiliza un láser Nd:YAG de frecuencia doble y como fuente de iluminación. Un sistema de fibra monomodo de 2mm guía los haces de luz. La onda de referencia se guía al divisor de haz y después al CCD. La cámara digital es de alta velocidad y tiene una frecuencia de captura de 12,5 KHz. La diferencia de fase entre ambos registros se puede relacionar con

deformaciones de la muestra. En este trabajo, en concreto, se utilizó un endoscopio rígido.

Después de realizar diez experimentos con tejido gastrointestinal humano, se obtuvieron diferentes resultados. En la figura 4.7 se muestra un ejemplo del tejido utilizado.

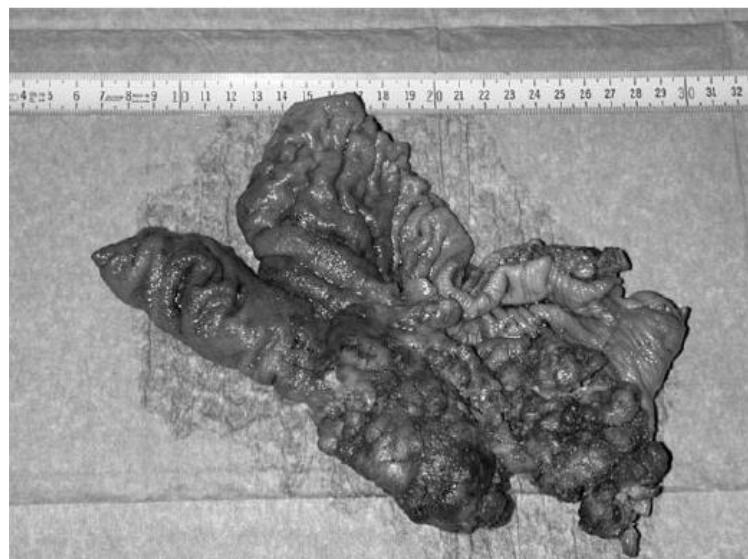


Fig. 4.7 Muestra del tejido utilizado en el experimento

Las figuras 4.8(a) y 4.9(a) corresponden a la imagen que observa el endoscopio, se puede ver el patrón de moteado debido a la iluminación láser, las imágenes corresponden a mucosa gástrica libre de tumor. A continuación, las figuras 4.8(b) y 4.9(b) muestran las franjas del mapa de diferencia de fase resultante, se ve un alto contraste de franjas circulares donde el centro del cual, es el punto de deformación activo.

Al aplicar métodos numéricos para mejorar el contraste de las franjas se obtienen las figuras 4.8 (c) y 4.9 (c), de donde se puede hallar más información.

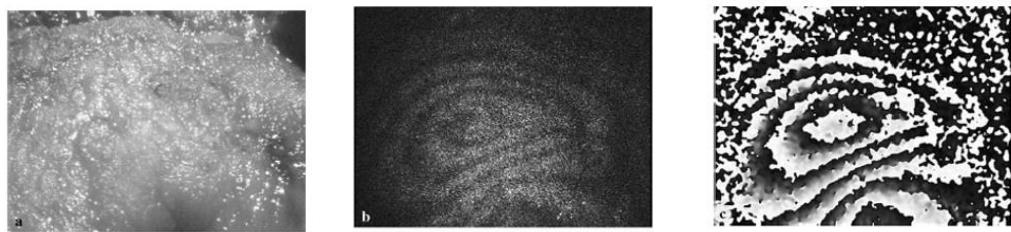


Fig. 4.8 Resultados experimentales (imágenes representativas) con un laparoscopio estándar: (a) fotografía endoscópica de luz blanca de la mucosa gástrica sin anormalidades estructurales; (b) patrón de correlación de manchas correspondiente; (c) diferencia de fase filtrada

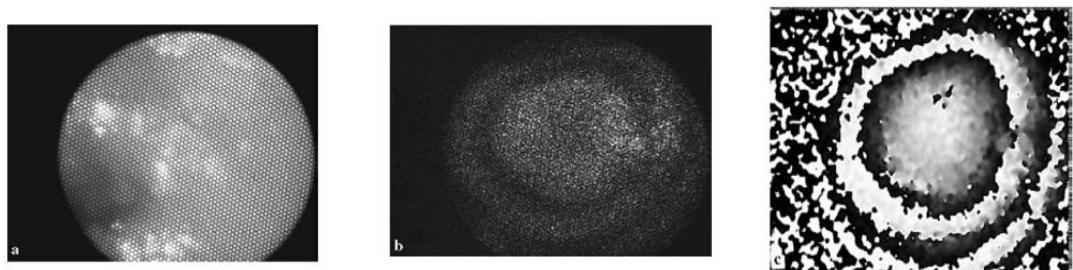


Fig. 4.9 Resultados experimentales (imágenes representativas) con gastroscopio de fibra óptica: (a) fotografía endoscópica de luz blanca de la mucosa gástrica sin anomalías estructurales; (b) patrón de correlación de manchas correspondiente; (c) diferencia de fase filtrada

Por otra parte, se muestra también parte de adenocarcinoma iluminado con luz blanca en las figuras 4.8 (c) y 4.9 (c), caracterizado por una gran mayoría de líneas paralelas, lo que indica un punto de deformación. Lo que conlleva una elasticidad más reducida en comparación con el tejido sano.

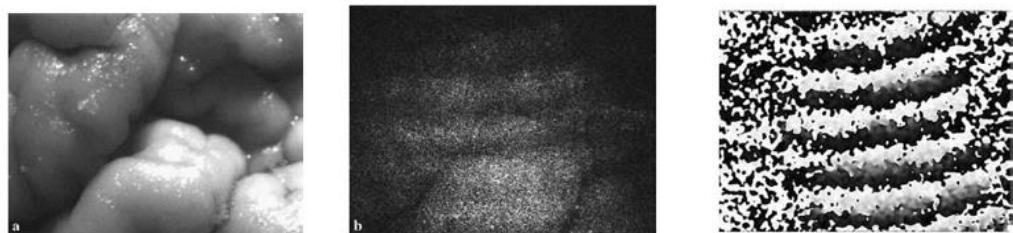


Fig. 4.10 Resultados experimentales (imágenes representativas) con un laparoscopio estándar: una fotografía endoscópica de luz blanca de adenocarcinoma gástrico; B patrón de correlación de manchas correspondiente; C diferencia de fase filtrada

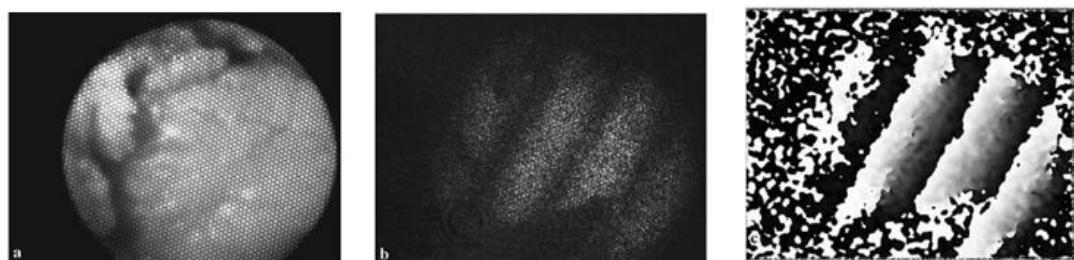


Fig. 4.11 Resultados experimentales (imágenes representativas) con gastroscopio de fibra óptica: una fotografía endoscópica de luz blanca de adenocarcinoma gástrico; B patrón de correlación de manchas correspondiente; C diferencia de fase filtrada

Estos resultados, independientemente de la etapa del tumor, demuestran que, debido al bajo nivel de elasticidad, el tejido neoplásico puede distinguirse del tejido sano o áreas de gastritis, basándose en las diferencias de los patrones de correlación de moteado.

Como podemos ver en la siguiente figura, en los estudios de Avenhaus [AVE 2005], se utilizó también pared de estómago de animales porcinos.

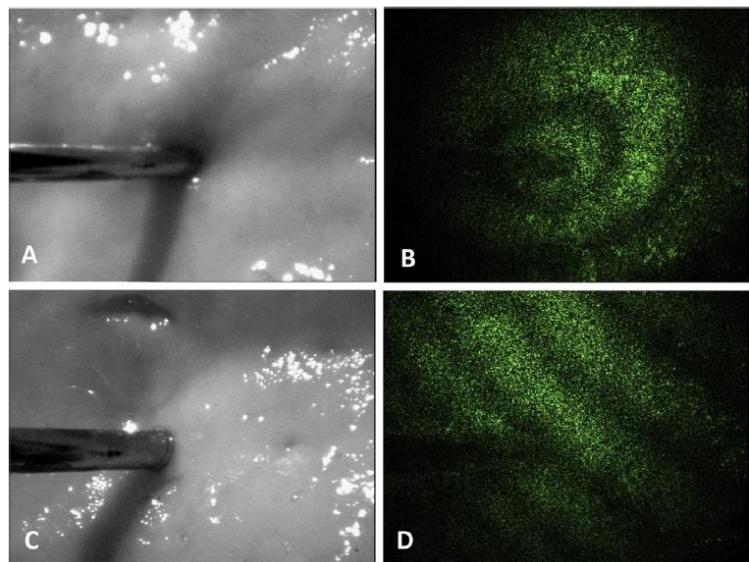


Fig. 4.12 Imágenes de mucosa gástrica porcina normal sin alteración (A) y con alteración (C). Los patrones de correlación de Speckle se muestran en las figuras (B) y (D), respectivamente.

Por último, podemos concluir que las investigaciones de los tumores gástricos malignos realizadas muestran que la aplicación de la endoscopia holográfica digital hace posible distinguir las áreas enfermas de las áreas con tejido sano circundante basándose en la diferente elasticidad de los tejidos.

4.4 Evaluación de un vaso sanguíneo

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte y de discapacidad en la población mundial. Actualmente se trabaja en este campo, y esta investigación, concretamente, incluye investigación en nuevos filtros anti-trombos. El estudio se basa principalmente en estudiar la deformación de las paredes de los vasos sanguíneos a medida que fluye el flujo sanguíneo. Es de interés estudiar tanto por el interior como por el exterior, y así conseguir información acerca de la interacción flujo-estructura.

Para poder acceder a los vasos sanguíneos y a su interior se utiliza un endoscopio. Esta combinación endoscópica con holografía digital ha sido utilizada en distintos campos como la mecánica y también en investigaciones en el tímpano o estómagos in vitro. Pero la diferencia de este experimento es que aún no se ha realizado ninguno con fluidos en el interior, por ello se pretende medir la velocidad del flujo y deformación de un vaso sanguíneo, con el endoscopio.

Las mediciones de la deformación interna y externa de la pared del vaso se realizaron utilizando los endoscopios como herramienta de imagen y un sistema holográfico digital. La novedad de este trabajo es que se utiliza el endoscopio para iluminar y observar el modelo del vaso sanguíneo.

4.4.1 Observación del vaso con endoscopio

La visualización de los vasos [ARE 2015b], al ser opacos, no puede realizarse a 90°, sino con un ángulo. En la figura 4.13 podemos apreciar una escala a la parte interior del vaso y visto de forma oblicua, la diferencia entre ambas imágenes es que la primera se realizó con el interior del vaso vacío, y la segunda con líquido en el interior del vaso, y sumergiendo el endoscopio en líquido. Esto permite evitar errores debido al cambio de índice de refracción. En las imágenes se observa una distorsión que se produce al no realizar la visualización a 90°.

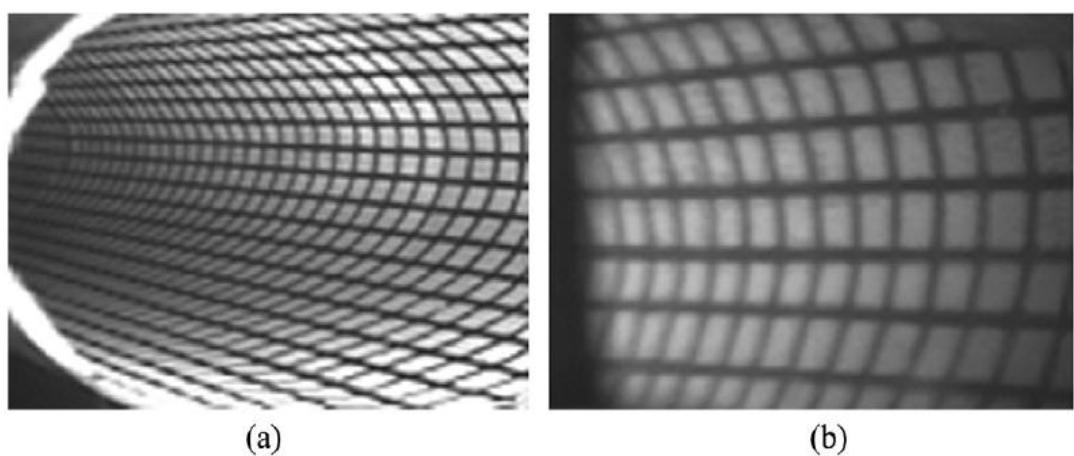


Fig. 4.13 Distorsión de perspectiva cuando se observa el interior de un recipiente que está (a) vacío o (b) lleno de líquido

Esto puede corregirse numéricamente, como observamos en la imagen 4.14, donde en la primera el objeto está distorsionado a un ángulo de 40°, y en la segunda se calcula la imagen corregida con la ayuda de un software, que realiza la conversión de píxeles a milímetros.

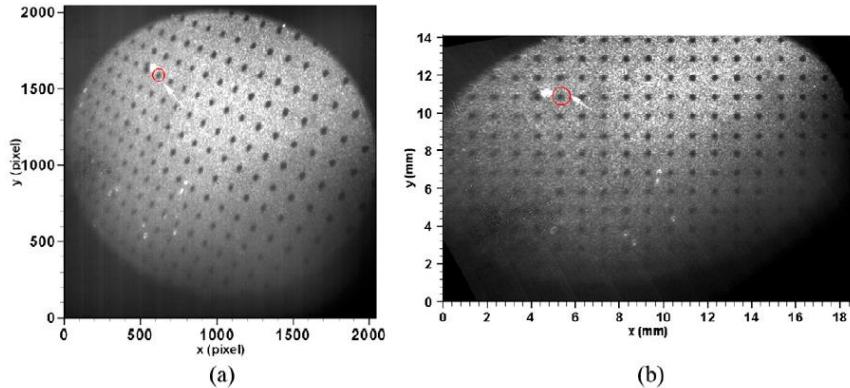


Fig. 4.14 (a) Imagen de la escala de calibración vista con el artroscopio a 40 °, (b) imagen de escala corregida.

4.4.2 Montaje experimental

Los aparatos utilizados para el experimento fueron el artroscopio y el laparoscopio, debido a que eran los que más se ajustaron para realizar el análisis de los vasos sanguíneos.

Para la realización de los ensayos se utilizaron globos, tubos de silicona y una aorta de oveja, y así poder medir las deformaciones de las paredes aplicando holografía digital. El líquido elegido para tales experimentos posee unas características similares a la sangre, tanto en densidad como en viscosidad, gracias a una mezcla de agua ($n=1,33$) y glicerina ($n=1,4734$) en una proporción 40/60 en peso. El resultado es un líquido con un índice de refracción $n=1,4185$ y una viscosidad de $0,0109 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ a 20°C .

Todo sistema se introdujo en este líquido incluyendo el extremo distal del endoscopio, de esta forma se evitan posibles reflejos de luz. Se utiliza un láser de 300mW de potencia con una longitud de onda $\lambda = 532\text{nm}$ para iluminar. Este rayo láser se divide en dos con

una cuña, de tal manera que el 5% de la intensidad total es el haz de referencia y el 95% restante se utiliza para iluminar el vaso, además, ambos haces son guiados por una fibra óptica monomodo. El primer haz se envía al sensor de la cámara, mientras que el segundo se introduce en el puerto de iluminación del endoscopio, tal y como se muestra en la figura 4.15.

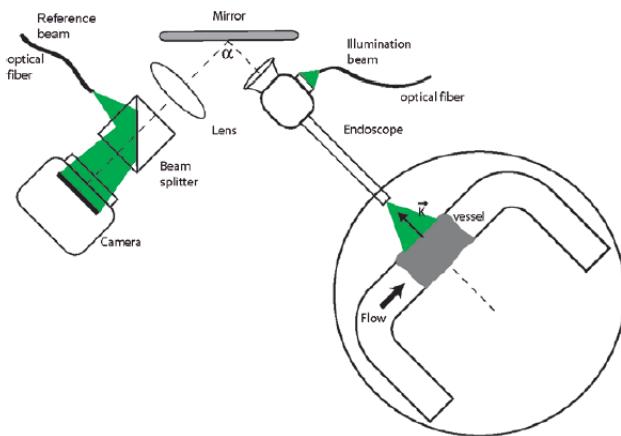


Fig. 4.15 Configuración endoscópica de holografía de imágenes digitales. El sistema de iluminación propio del endoscopio se utiliza para iluminar la pared externa del vaso.

Se registraron hologramas a una frecuencia de 500Hz con un intervalo de 2ms, gracias a una cámara Photron Fastcam SA2. Una bomba CompFlow 1000 MR para producir una onda pulsátil con diferentes formas de onda y caudales variables. Estos últimos se midieron con un caudalímetro de tubos de Transonic Systems y la presión con dos sondas ML866 PowerLab 4/30 de AD Instruments. El tubo flexible de látex opaco posee un radio externo de 6mm y una longitud de 4cm. La aorta de oveja tiene un radio de 6mm y una longitud de 3cm. Por último, el endoscopio forma una imagen de una sección de 10mm de longitud de los vasos con un ángulo de 90°.

La deformación que se produce al fluir un líquido a través de un vaso es radial, y puede calcularse a partir de los mapas de diferencia de fase de los hologramas, usando la ecuación:

$$d = \frac{\Delta\phi}{K_d} \quad (4.1)$$

Donde K_d es la proyección del vector k a lo largo del vector dirección d . En la figura 4.16 observamos el esquema utilizado en la iluminación del vaso y en su observación, se puede apreciar, además, que el vaso es iluminado de manera uniforme.

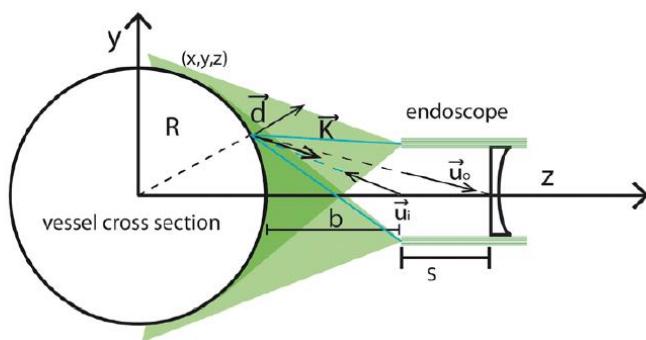


Fig. 4.16 Geometría endoscópica para el cálculo del vector de sensibilidad

4.4.3 Resultados

El mapa de diferencias de fase del tubo de látex para una deformación máxima, que se muestra a continuación en la figura 4.17, es calculado a partir de la deformación máxima y mínima. Las franjas se distribuyen de manera uniforme y similar, lo que nos da información de que el vaso se está deformando de forma radial.

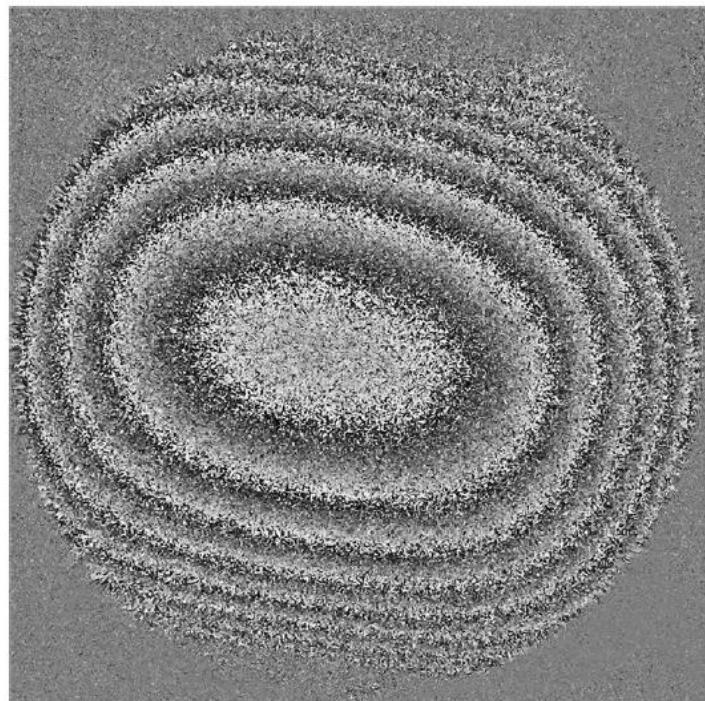


Fig. 4.17 Mapa de diferencia de fase envuelto para un tubo de látex.

En la figura 4.18 podemos ver la deformación del vaso, con sus valores representados como isolíneas sobre un tubo estimado. La deformación es prácticamente constante en cada sección transversal, resultado esperado de un tubo homogéneo. El valor máximo ($d=1,7\text{mm}$) disminuye a medida que nos acercamos a los extremos, debido a las restricciones de los tubos en los cuales el vaso está sujeto. En la figura 4.18 (b) se muestra la evolución temporal de la deformación, de manera radial, de un punto en el centro del vaso.

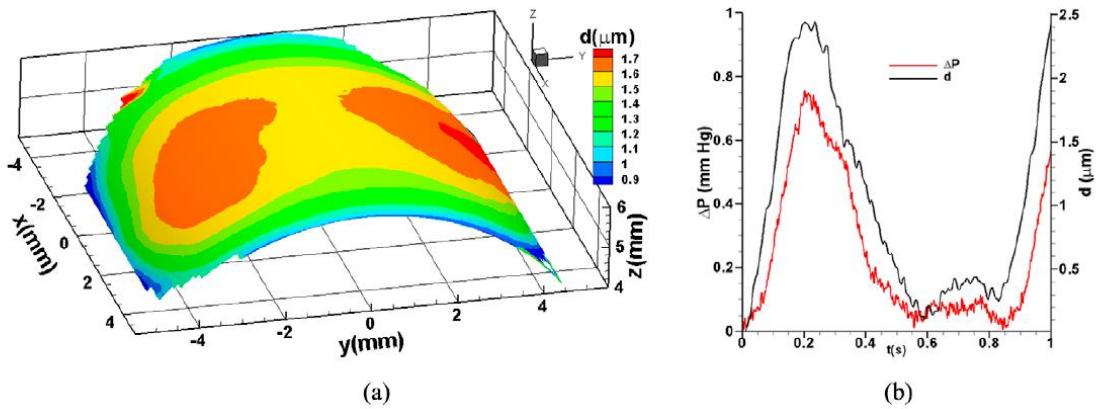


Fig. 4.18 Resultados de un tubo flexible de látex. (a) Mapa de deformación radial; (b) evolución temporal de la deformación puntual y de la presión global.

Para obtener el resultado de la deformación se utilizaron mapas de diferencia de fase con un intervalo de 2ms. Cuando el flujo pasa a través de la aorta de oveja, consideramos una deformación radial, pero en realidad no es constante, como se observa en la figura 4.19 (a). Diferenciamos cinco mapas de fase desde el primero en el instante $t=0$, las franjas aparecen con una resolución aceptable, pero a medida que aumenta el tiempo, los mapas sucesivos muestran una serie de franjas menos visibles y con una resolución peor.

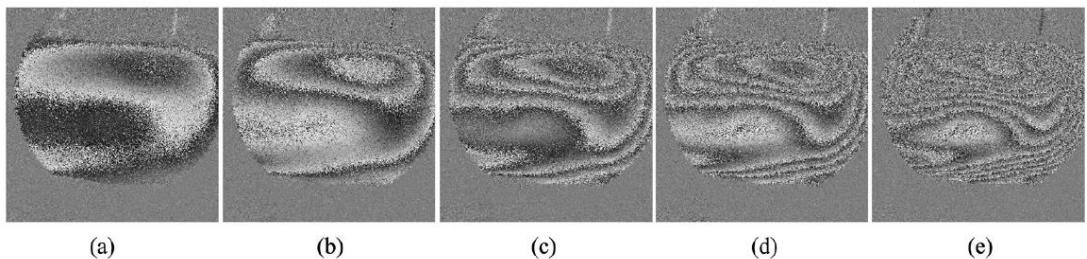


Fig. 4.19 Mapas de diferencia de fase envueltos obtenidos en una aorta de oveja real bajo un flujo femoral pulsátil en los siguientes puntos de ciclo: (a) 254 ms, (b) 274 ms, (c) 294 ms, (d) 314 ms y (e) 374 ms.

En la figura 4.20 se muestra el mapa de deformación de la pared para el último de los mapas de fase anteriores. Esta diferencia en los resultados, con respecto al tubo de látex, puede deberse al distinto grosor de la pared de la aorta o a una distribución no uniforme de las células.

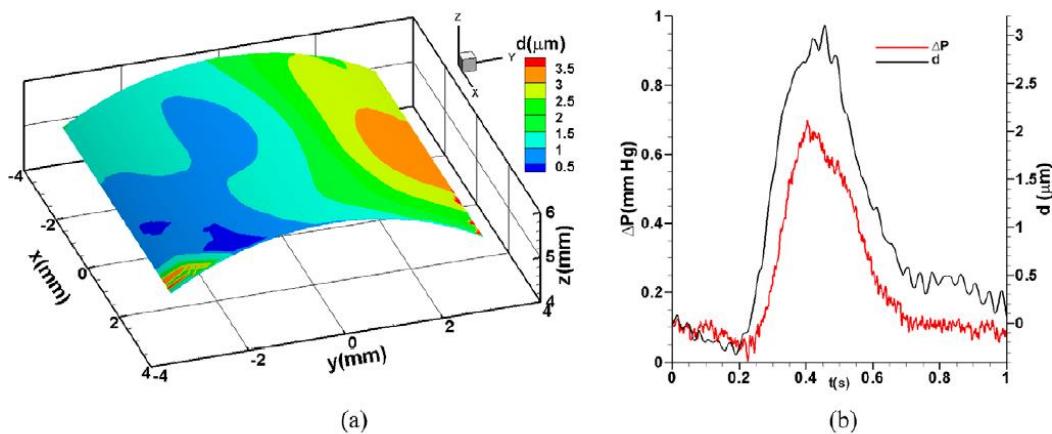


Fig. 4.20 Resultados de una sección de aorta de oveja. a) Deformación radial para la variación máxima de la presión ($t = 0,5$ ms); (b) evolución temporal de la deformación puntual y caída de presión global.

Deformación interna de la pared

En el estudio de la deformación de la pared interna existen dos parámetros de especial importancia, el líquido en el interior del vaso y la cantidad de luz dispersada por la pared, que se evita que sea recogida de nuevo por el endoscopio, colocándole de manera no perpendicular a la pared del vaso.

Primero se estudió la influencia que causa el movimiento del líquido en el interior del vaso de PVC utilizado en este experimento, y se utilizó un esquema como en la figura 4.21. En él apreciamos, además, uno de los mapas de fase obtenidos, que comparándole con los anteriores se detecta un menor contraste, pero suficiente para concluir que el líquido no perturba la medición de la deformación de la pared.

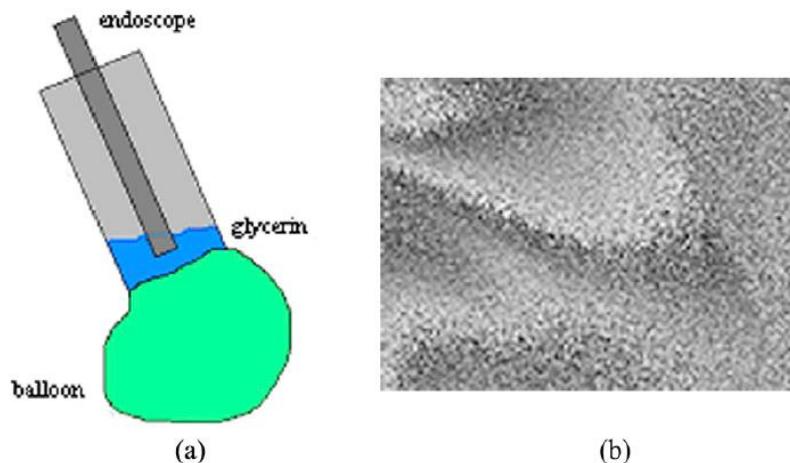


Fig. 4.21 Instalación para observar directamente la pared interna del recipiente; (b) mapa de diferencia de fase envuelto correspondiente a la deformación de la pared del balón.

El último experimento se realizó sin alterar el flujo del líquido, utilizando un trozo de caucho unido a dos tubos de PVC transparentes y rígidos, y conectados a la bomba de diafragma, tal y como se muestra en la figura. Los mapas de fase resultantes muestran una estructura definida, con un buen contraste, como vemos en la figura segunda. Con lo que se puede concluir que la holografía digital endoscópica es una potente técnica para el estudio de vasos sanguíneos opacos.

4.6 Conclusión

La holografía digital se ha combinado en este caso con endoscopios comerciales para la medición de la elasticidad de la pared estomacal y de la deformación de la pared interna y externa de un tubo de látex y una aorta real de oveja. La técnica permite diferenciar las zonas gástricas sanas de las enfermas. Un gran avance dentro de este campo pues no se precisa realizar incisiones para poder analizar el tejido. La pared del tubo de látex muestra un comportamiento esperado en toda su longitud, sin embargo, la aorta de oveja posee una deformación irregular debido a su posible distribución celular no uniforme. Esto quiere decir que la pared del vaso tiene una gran importancia en la deformación que produce el flujo. La utilización de esta técnica dentro del campo de la

medicina supone una gran ventaja frente a los métodos tradicionales, pues no se necesita realizar ninguna modificación sobre el tejido. Además, utiliza instrumentos comerciales como son los endoscopios y permite realizar mediciones en el rango de las micras.

REFERENCIAS

- [ALV 2014]** A. S. Alvarez, M. De la Torre Ibarra, F. Mendoza Santoyo and T. Anaya. "Strain determination in bone sections with simultaneous 3D digital holographic interferometry." *Optics and Lasers in Engineering* 57 (2014): 101-108. (2014)
- [AND 2014]** N. Andrés, L. A. Arévalo-Díaz, J. A. Lorda, V. Palero, J. Lobera, M. P. Arroyo, "Dynamic shape measurements of rough surface with a two wavelength method", *Proc. SPIE 9204, Interferometry XVII: Advanced Applications*, 92040B (2014)
- [ARE 2015a]** L. Arévalo, "Desarrollo de técnicas ópticas avanzadas para el análisis de sistemas biomédicos," *Tesis de Doctorado (Universidad de Zaragoza, España 2015)*.
- [ARE 2015b]** L. Arévalo, V. Palero, J. Lobera, N. Andrés and M.P. Arroyo, "Combining endoscopes with PIV and digital holography for the study of vessel model mechanics," *Measurement Science and Technology* 26.11 (2015): 115701 (2015)
- [AVE 2005]** W. Avenhaus, B. Kemper, S. Knoche, D. Domagk, C. Poremba, G. von Bally, W. Domschke, "Dynamic holographic endoscopy - ex vivo investigations of malignant tumors in the human stomach," *Lasers in Medical Science* (2005) 19: 223–228 (2005)
- [FLO 2011]** J. M. Flores-Moreno, C. Furlong, J. Rosowski, E. Harrington, J. Cheng, C. Scarpino and F. Mendoza Santoyo, "Holographic otoscope for nanodisplacement measurements of surfaces under dynamic excitation." *Scanning* 33.5 (2011): 342-352. (2011)
- [GUE 2016]** C. Guerrero-Mendez, T. S. Anaya, M. Araiza-Esquívela, R. Balderas-Navarro, A. López-Martínez and C. Olvera-Olvera, "Real-time measurement of the average temperature profiles in liquid cooling using digital holographic interferometry." *Optical Engineering* 55.12 (2016): 121730-121730. (2016)

[HEC 2003] Hecht E., Zajac -- Optics (4th Ed., 2003)

[JAY 2005] P. D. Jaycock, L. Lobo, J. I. Meng, J. Tyrer and J. Marshall, "Interferometric technique to measure biomechanical changes in the cornea induced by refractive surgery." *Journal of Cataract & Refractive Surgery* 31.1 (2005): 175-184. (2005)

[KEN 2014] E. Kenny, D. Coakley, and G. Boyle. "Non-contact in vivo measurement of ocular microtremor using laser speckle correlation metrology." *Physiological measurement* 35.7 (2014): 1229. (2014)

[KIM 2010] M. K. KIM, "Principles and techniques of digital holographic microscopy." *Journal of Photonics for Energy* (2010): 018005-018005. (2010)

[KIS 2004] A. Kishen and A. K. Asundi. "Optical techniques to understand biofunctional adaptation in human dentine." *Saratov Fall Meeting 2003: Optical Technologies in Biophysics and Medicine V*. International Society for Optics and Photonics, 2004.

[MOH 2012] K. D. Mohan and Amy L. Oldenburg. "Elastography of soft materials and tissues by holographic imaging of surface acoustic waves." *Optics express* 20.17 (2012): 18887-18897 (2012)

[POT 2009] M. C. Potcoava, and M. K. Kim "Fingerprint biometry applications of digital holography and low-coherence interferography." *Applied optics* 48.34 (2009): H9-H15 (2009)

[SCH 2005] U. Schnars and W. Jueptner, "Digital Holography: Digital HologramRecording, Numerical Reconstruction, and Related Techniques," Berlin Heidelberg, Germany: Springer (2005)

[SOL 2012] Silvino M. Solís, M. S. Hernández-Montes and F. M. Santoyo. "Tympanic membrane contour measurement with two source positions in digital holographic interferometry." *Biomedical optics express* 3.12 (2012): 3203-3210. (2012)

[TAN 2015] T.Tang, N. Morris, J. Coupland and L. Arévalo, "Cavitation bubble measurement in tribological contacts using digital holographic microscopy." *Tribology Letters* 58.1 (2015): 5.

[TOR 2016] M. De la Torre, M. del Socorro Hernández Montes, J. M. Flores-Moreno and F. Mendoza Santoyo, "Laser speckle based digital optical methods in structural mechanics: A review," *Optics and Lasers in Engineering* 87 (2016): 32-58. (2016)

[VEG 2016] P. de la Vega, "(Sub-micron surface characterization by using digital holography.," *Trabajo Final de Grado (Universidad de Cantabria, España 2016)*

[ZAS 2006] P. Zaslansky, R. Shahar, A. A. Friesem and S. Weiner, "Relations Between Shape, Materials Properties, and Function in Biological Materials Using Laser Speckle Interferometry: In situ Tooth Deformation," *Adv. Funct. Mater.* 2006, 16, 1925–1936 (2006)

Enlaces web

[Web 1] <https://tejidosdentariosbesty.wordpress.com/page/2/>

[Web 2] <http://www.elsevier.es/es-revista-radiologia-119-articulo-la-elastografia-una-nueva-aplicacion-S0033833812002469>

[Web 3] <https://www.clinicaremei.org/es/article/litotricia-eliminacion-piedras-rinon-mediante-ondas-choque>