

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**“Desarrollo y caracterización de
simuladores de tejidos biológicos para la
calibración de equipos OCT”**

**(“Development and characterization of
phantoms for OCT equipment calibration”)**

Para acceder al Título de

***Graduado en
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación***

Autor: Miguel Ángel Santander Carral

Octubre - 2015

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

Realizado por: Miguel Ángel Santander Carral

Director del TFG: Olga María Conde Portilla

Título: “Desarrollo y caracterización de simuladores de tejidos biológicos para la calibración de equipos OCT”

Title: “Development and characterization of phantoms for OCT equipment calibration “

Presentado a examen el día:

para acceder al Título de

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Lomer Barboza, Mauro

Secretario (Apellidos, Nombre): Conde Portilla, Olga María

Vocal (Apellidos, Nombre): Aguado Menéndez, Fernando

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 N°
(a asignar por Secretaría)

AGRADECIMIENTOS: trabajo en parte realizado con los medios aportados por los proyectos DA2TOI (Proyecto FIS2010-19860) y FOS4 (Proyecto TEC2013-47264-C2-1-R).

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Olga, directora del trabajo, por la confianza que ha depositado en mí, su disposición y su grandísima ayuda, sin ella este trabajo no tendría significado. A Eusebio que, junto con Olga, me ha aconsejado y me ha ayudado con sus conocimientos en todos los momentos en los que veía el trabajo imposible. Y como no, a todo el grupo de fotónica por prestarme todos sus medios y su ayuda para la realización del trabajo.

En segundo lugar, a mi familia. A mis padres, Miguel Ángel y Loli, por enseñarme los conocimientos y los valores para ser la persona que soy hoy en día, ayudarme día tras día, escucharme, apoyarme en todas mis decisiones y por vuestro cariño que ha sido esencial para superar todas las etapas de mi vida. A mis dos hermanas, Ceci y Loli, por su gran esfuerzo en intentar comprenderme, guiarme siempre, ayudarme a ver el lado bueno de las cosas y compartir momentos inolvidables. A María, por estar siempre ahí, aguantarme, apoyarme y ser esa persona especial que ha hecho que los años de carrera sean más fáciles.

Al resto de mi familia y mis amigos, por preocuparse por mí cada día y acompañarme durante toda la carrera. A mis compañeros de carrera, por compartir cada día de estos años y por ayudar a que los días de estudio sean más amenos.

Y agradecer, por último, a todas las personas que dedican un poco de su tiempo a leer este trabajo de fin de grado, espero que lo disfrutéis tanto como yo he disfrutado durante su elaboración.

Muchas gracias.

ÍNDICE

Capítulo 1: Introducción y Objetivos	6
1.1. Introducción	6
1.2. Objetivos.....	8
1.3. Estructura del trabajo	8
Capítulo 2: Interacción de la luz con la materia: propiedades ópticas	10
2.1. Introducción	10
2.2. Refracción y reflexión	10
2.2.1 Refracción.....	10
2.2.2 Reflexión.....	11
2.3. Esparcimiento o <i>Scattering</i>	12
2.4. Absorción	14
2.5. Interacción con los tejidos	15
Capítulo 3. Simuladores de tejido biológico (Phantoms)	18
3.1. Introducción	18
3.2. Composición de los phantoms	19
3.3. <i>Scattering</i> en <i>phantoms</i>	20
3.4. Materiales y propiedades	21
3.4.1 <i>Phantoms</i> basados en agua	21
3.4.2 <i>Phantoms</i> basados en gelatinas	22
3.4.3 <i>Phantoms</i> basados en resinas	23
3.4.4 <i>Phantoms</i> comerciales especializados en calibración y caracterización de equipos OCT	24
Capítulo 4. Tomografía de coherencia óptica. OCT y Modelado.....	26
4.1. Introducción	26
4.2. Coherencia	28
4.3. Interferometría.....	29
4.4. Técnicas OCT.....	31
4.4.1 Características de un sistema OCT	34
4.4.2 OCT en el dominio temporal (TD-OCT).....	36
4.4.2.1 Reflectometría OCT	36
4.4.2.2 OCT de Haz Dual	38
4.4.3 OCT en el dominio de Fourier	39

4.5. Equipo OCT utilizado	41
4.6. PSF.....	44
4.7. Preparación de las muestras.....	45
4.8. Modelado del retro-esparcimiento	48
4.8.1 Ley de Beer-Lambert	48
4.8.2 Modelo Beer-Lambert con corrección de PSF.....	49
4.9. Técnicas de Procesado	50
4.10. Simulador de <i>Scattering</i> de Mie	56
Capítulo 5. Resultados	58
5.1. Introducción	58
5.2. Medidas de Absorción	59
5.2.1 Medidas de Sangre	59
5.2.2 Medidas de Tinta China	61
5.2.3 Medidas con tintes textiles	63
5.3. Medidas de <i>Scattering</i> o Esparcimiento.....	64
5.3.1 Disoluciones de Intralipid en agua	64
5.3.1.1 Resultados con Beer-Lambert	64
5.3.1.2 Resultados con PSF	66
5.3.1.3 Índice de refracción medio.....	68
5.3.1.4 Comparación y validación con el Simulador de Mie	69
5.3.2 Disoluciones de Leche+Agua	71
5.3.2.1 Resultados con Beer-Lambert	72
5.3.2.2 Resultados con PSF	74
5.3.2.3 Índice de refracción medio.....	76
5.4. Medidas de diferentes tipos de leche al 100%	77
5.4.1 Modelo Beer-Lambert.....	77
5.4.2 Con corrección de PSF.....	78
Capítulo 6. Conclusiones y Líneas futuras.....	80
6.1. Conclusiones.....	80
6.2. Líneas futuras	81
Referencias bibliográficas	83

PALABRAS CLAVE

- Tomografía
- Coherencia
- Óptica
- Luz
- OCT (*Optical Coherence Tomography*)
- *Phantom*
- Tejido
- *A-Scan*
- *B-Scan*
- Coeficiente de Atenuación
- Coeficiente de *Scattering*
- Coeficiente de Absorción
- *Intralipid*
- Leche
- Sangre
- Tinta

Capítulo 1: Introducción y Objetivos

1.1. Introducción

La luz se trata de una parte fundamental de nuestras vidas y del resto de los seres vivos debido a su importancia en diversos aspectos. Se trata del fenómeno fundamental que regula y produce numerosos procesos biológicos. La luz tiene numerosos efectos en los seres vivos tal como la capacidad de modificar las propiedades de las moléculas que los forman. Se trata de una radiación electromagnética en la que el rango visible abarca las longitudes de onda que varían desde 400 hasta 750 nanómetros. El rango en el que se trabaja en la mayoría de las técnicas ópticas suele ser el del infrarrojo (750 nm a 1000 nm), el rango visible (400 a 750 nm) y ultravioleta (100 a 400 nm). Uno de los parámetros más importantes de la luz es su longitud de onda, o alternatively su frecuencia, que indica su comportamiento a la hora de interactuar con los diferentes materiales pues las propiedades ópticas (absorción, penetración en tejidos, refracción, reflexiones, etc.) difiere según sea esta magnitud.

Todo esto nos lleva a que, dependiendo de la aplicación o interacción luz-materia que queramos utilizar, tendremos que utilizar diferentes zonas del espectro electromagnético como se observa en la figura 1.1. Cada una de las regiones de este, se caracteriza por la interacción que produce con la materia. Por ejemplo, la radiación de tipo rayos X es perjudicial ya que sus fotones llevan una gran cantidad de energía que modifica la estructura molecular. Sin embargo, la radiación en el rango de la luz visible no es perjudicial para los tejidos ya que la energía de la que disponen sus fotones es baja produciendo sólo la excitación de electrones y, en el caso del infrarrojo, su energía es todavía inferior por lo que el único efecto que produce es la “vibración” de las moléculas.

Región espectral	Longitud de onda (cm)	Energía	Técnicas
Rayos γ	10^{-11}	3×10^8	
Rayos X	10^{-8}	3×10^5	Scattering
Ultravioleta	10^{-5}	3×10^2	Absorción UV
Visible	6×10^{-5}	5×10^3	Absorción visible
Infrarrojo	10^{-3}	3×10^0	Emisión y absorción
Microondas	10^{-1}	3×10^{-2}	Microondas
Radiofrecuencia	3×10^{-4}	3×10^{-4}	Resonancia magnética

Figura 1.1. Técnicas espectroscópicas en aplicaciones biomédicas

La aplicación de la tecnología óptica en la medicina y la biología tiene una larga y distinguida historia. Desde el siglo XVIII, el microscopio ha sido una indispensable

herramienta de los biólogos. Más tarde, con la invención del láser en los principios de la década de los 60, los médicos descubrieron un gran instrumento quirúrgico y comenzó podemos decir 'el boom' de las técnicas de imagen médica.

El desarrollo de la fibra óptica condujo a la fabricación de endoscopios que permiten la visualización directa de los órganos internos en el cuerpo. En el laboratorio clínico moderno, nuevas técnicas ópticas facilitan el análisis morfológico y químico de muestras de tejido.

Durante las últimas décadas se ha producido la búsqueda exhaustiva de técnicas que permitan la obtención de imágenes de alta resolución y que permitan medir con rapidez y precisión las propiedades ópticas del tejido. Las propiedades ópticas más interesantes son las propiedades del tejido que indican cómo se comporta esa luz a lo largo de la estructura del tejido. Entre estas propiedades se encuentran el coeficiente de dispersión, el factor de anisotropía y el coeficiente de absorción, conceptos que se utilizarán a lo largo del trabajo. En la actualidad, el conocimiento de estos factores es determinante en aplicaciones biomédicas como la identificación de lesiones ateromatosas, la identificación de diversos tumores en tejido sano, la simulación de tejidos, la caracterización de tejidos etc.

La técnica de Tomografía de Coherencia óptica OCT (*Optical Coherence Tomography*) se trata de una de las técnicas en desarrollo más importantes ya que permite la obtención de imágenes de forma no invasiva. Se trata de una modalidad de imagen que es análoga a la formación de imágenes por el eco de un pulso de ultrasonido con la gran diferencia de que, en este caso, es la luz la que se escanea tomográficamente. Al contrario de lo que sucede con el resto de técnicas de obtención de imágenes microscópicas, en este caso, el factor de dispersión de la luz es esencial. Sus primeras aplicaciones en la medicina fueron descubiertas hace una década. Pronto, se descubrió su capacidad para la obtención de imágenes en el ojo y en otros tejidos corporales. Esta técnica permite obtener datos a profundidades más allá del alcance de los microscopios convencionales en diferentes tejidos. En tejidos altamente dispersivos permite obtener imágenes sobre los pequeños vasos sanguíneos que los recorren y alcanza profundidades de 1-2 milímetros por debajo de estos. Esto, supone ventajas sobre las técnicas normalmente utilizadas como el ultrasonido que consigue profundidades mucho mayores, pero con una resolución inferior.

La motivación de este trabajo es debida al incipiente crecimiento de las técnicas ópticas en la medicina, principalmente desarrollar una metodología que permita desarrollar *phantoms* de tejidos y su correcta caracterización mediante la técnica OCT.

Los *phantoms* se tratan de simuladores de tejido cuya misión es proporcionar propiedades ópticas similares a los tejidos reales. La historia de los *phantoms* comienza en la década de los 80 cuando se inicia la utilización de infrarrojo cercano para la obtención de imágenes en tumores cancerosos. En los 90 se produjo un aumento

considerable del uso de estas técnicas por lo que un gran número de investigadores se centraron en el desarrollo de nuevas técnicas y su mejora. Con el comienzo del desarrollo de estas técnicas surge la necesidad de utilizar tejidos reales para que el funcionamiento de los sistemas sea el correcto, por lo que los investigadores comenzaron a realizar estudios sobre materiales que permitan simular estos tejidos.

Los *phantoms* se diseñan con unas características acordes a su propósito o aplicación específica. Estos, nos permiten realizar validaciones de modelos físicos y simulaciones, realizar calibraciones en los instrumentos de laboratorios, realizar comparaciones entre sistemas, pruebas para estandarización, etc. Como se puede ver los simuladores tienen un gran campo de aplicación en todo tipo de técnicas de imagen ya sean por ultrasonografía, óptica o resonancia.

1.2. Objetivos

El principal objetivo de este trabajo es caracterizar y desarrollar simuladores de tejido biológico calculando su coeficiente de atenuación y su índice de refracción. Para ello es importante conocer otros conceptos que van a ser utilizados:

- Entender las propiedades ópticas (coeficiente de atenuación, esparcimiento o *scattering*, absorción, etc.).
- Las características físicas de la propagación de la luz.
- Comprender los efectos de interacción con los tejidos.
- Comprender el funcionamiento de un sistema OCT.
- Comprender que es un simulador de tejido biológico y su desarrollo.
- Caracterizar los simuladores desarrollados mediante un sistema OCT.
- Comprobar que los resultados obtenidos mediante el sistema OCT son análogos a los teóricos.

1.3. Estructura del trabajo

Capítulo 1:

Introducción del trabajo en el que se plasma el contexto actual de las técnicas imagen óptica y se presentan los objetivos de este trabajo.

Capítulo 2:

En este segundo capítulo se muestran las diferentes interacciones que existen entre la luz y los materiales, especialmente los que ocurren en tejidos. Además, se introducen algunos conceptos básicos sobre las propiedades ópticas necesarios para la realización de este trabajo.

Capítulo 3:

En él desarrollaremos la idea de los simuladores de tejido biológico, mostraremos su función, las características y los diferentes tipos de *phantoms* que pueden ser desarrollados.

Capítulo 4:

En este capítulo se introducen los conceptos sobre la técnica de imagen que se utilizará para caracterizar los *phantoms*, la OCT, y se explica el modelado y procedimiento empleados en el trabajo.

Capítulo 5:

En el quinto capítulo se muestran los resultados obtenidos a lo largo de todo el trabajo.

Capítulo 6:

En este capítulo se resumen las conclusiones del trabajo y se enumeran las posibles líneas futuras como por ejemplo aplicaciones o mejoras que se pueden derivar de este trabajo.

Referencias bibliográficas:

Se incluyen las referencias bibliográficas que se referencian desde el texto.

Capítulo 2: Interacción de la luz con la materia: propiedades ópticas

2.1. Introducción

Las propiedades ópticas de un medio por el cual viaja la luz describen como la radiación óptica interactúa con ese medio. En el caso de los tejidos biológicos existen múltiples medios muy diferentes pero que están caracterizados por sus propiedades ópticas. En este capítulo se describen los conceptos que caracterizan la luz al atravesar los tejidos y algunos de los fenómenos que suceden.

2.2. Refracción y reflexión

2.2.1 Refracción

El índice de refracción es uno de los conceptos fundamentales en la óptica. Está definido principalmente para medios homogéneos, aunque también es posible su definición para elementos no homogéneos. La forma de este índice es compleja donde la parte imaginaria muestra la atenuación debido a la absorción y al esparcimiento. El parámetro al cual se le denomina índice de refracción se trata de la parte real, se puede definir de la siguiente forma:

$$\overline{n(\lambda)} = n(\lambda) - i\alpha(\lambda) \quad (1)$$

Cuando la luz que se está propagando a lo largo de un material con un índice de refracción determinado se encuentra con un segundo material con un índice de refracción diferente, el trayecto que seguía esta radiación se ve modificado. La cantidad de luz reflejada o transmitida entre ambos medios depende de los índices de refracción de cada uno de los materiales, de la polarización de la luz y del ángulo con el que incide la radiación. La ley de Snell muestra la relación entre el ángulo de incidencia y el ángulo de refracción:

$$\sin \theta_2 = \frac{n_1}{n_2} \sin \theta_1 \quad (2)$$

Donde n_1 y n_2 son los índices de refracción de cada uno de los medios y θ_1 se trata de los ángulos de incidencia y θ_2 de refracción.

2.2.2 Reflexión

La reflexión es uno de los fenómenos ópticos básicos. Cuando un rayo de luz colisiona con una superficie, se ve reflejado y cambia su dirección. Se pueden distinguir tres tipos de reflexión: especular, compuesta y difusa. Los dos primeros se producen cuando el haz incidente y el haz reflejado forman el mismo ángulo con respecto a la perpendicular a la superficie. Si la superficie es lisa se produce la denominada reflexión especular y los rayos reflejados serán paralelos entre sí. Si la superficie es rugosa, será reflexión compuesta y los rayos reflejados no serán paralelos pero se mantiene la máxima potencia reflejada en el mismo ángulo que cuando era especular. La reflexión difusa es debida a dos efectos. El primero de ellos, es la luz que se refleja en la superficie del material pero el ángulo de la reflexión no es el especular. Es por tanto toda la luz que no se refleja en la dirección especular. El otro efecto es el que se da por ejemplo en los tejidos, cuando la luz entra en el tejido, interacciona con éste mediante procesos de absorción y esparcimiento y finalmente sale de él.

La reflexión difusa es el tipo de reflexión a tener en cuenta a la hora de estudiar la interacción con los tejidos. La reflexión especular hace que la luz se refleje en la dirección especular pero esta luz, al contrario que en el caso de la reflexión difusa no interactúa con los tejidos. La interacción con el tejido es importante ya que esto permite obtener información relevante acerca de sus características.

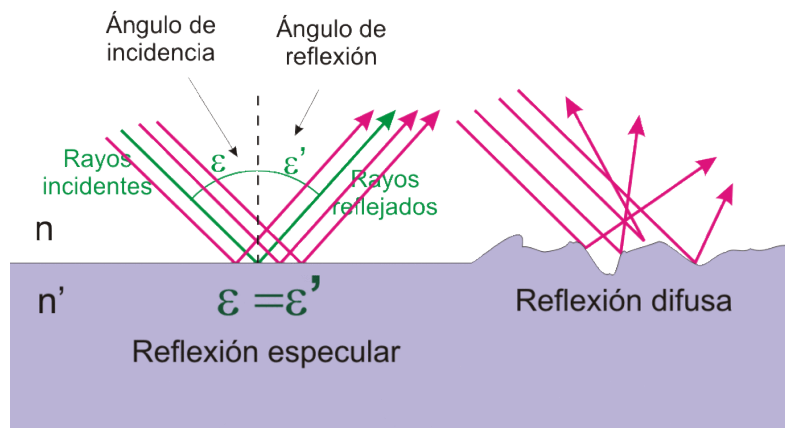


Figura 2.1. Efectos de reflexión especular y difusa.

2.3. Esparcimiento o *Scattering*

Si tenemos un medio con un determinado índice de refracción donde se pueden encontrar elementos con otros índices de refracción, cuyo tamaño sea relativamente pequeño respecto a la longitud de onda de la radiación, ocurre el denominado efecto de esparcimiento o *scattering* de la luz. Es decir, una parte de la luz que incide sobre el material o el medio es redirigida a otros ángulos relativos al esparcidor. Para poder calcular correctamente cuánta de esa luz sufre este fenómeno es necesario conocer los índices de refracción de la partícula y del medio. Además, es necesario conocer también cual es el aspecto físico de la partícula donde incide la luz.

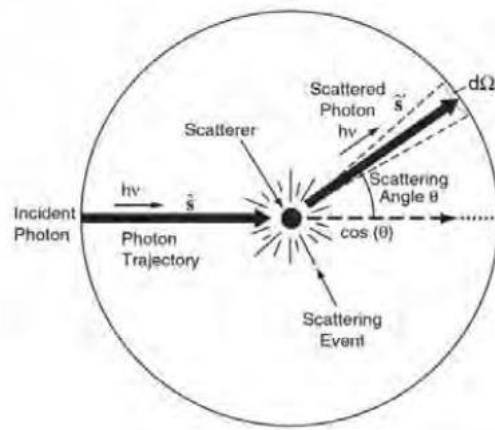


Figura 2.2. Efecto de esparcimiento en una partícula en la que se observa el ángulo de *scattering*. [1]

Los medios en los que este efecto tiene un efecto importante se tratan de los medios no homogéneos. Para caracterizar correctamente el efecto del esparcimiento sobre un haz de luz introducimos una serie de conceptos relativos. En un medio con una distribución uniforme de esparcidores iguales con una densidad de esparcidores ρ , el índice o coeficiente de *scattering* μ_s se define como:

$$\mu_s = \rho \sigma_s \quad (3)$$

Donde σ_s es la sección transversal de esparcimiento que se define como la proporción entre la intensidad de la onda incidente y la cantidad de energía que se esparce y ρ se trata de la densidad de partículas. Se asume una simetría esférica a la hora de definirla:

$$\sigma_s = \frac{P_{scatt}}{I_0} \quad (4)$$

La distancia media que atraviesa un fotón a través de ese medio antes de sufrir esparcimiento se define como la longitud media de trayecto libre y se expresa como la inversa del coeficiente de *scattering*:

$$l_s = \frac{1}{\mu_s} \quad (5)$$

Cuando el tamaño de la partícula que produce el esparcimiento de los fotones es mucho más pequeña que la longitud de onda del haz incidente estamos dentro del denominado límite de Rayleigh (*scattering* de Rayleigh). Esto significa que en cualquier instante de tiempo el elemento responsable del esparcimiento solamente ve un campo eléctrico espacialmente uniforme de las cargas en este. Según la teoría clásica, se denominaría esparcimiento elástico debido a que la energía del fotón esparcido es la misma que la del fotón incidente.

El fenómeno de esparcimiento está dentro de la denominada región de Mie que es aplicable para cualquier relación tamaño/longitud de onda (o de tamaño y longitud de onda comparables). El *scattering* de Mie es más importante a medida que el tamaño de la partícula sea más aproximada a un tamaño similar a la longitud de onda o superior a esta.

El *scattering* de Rayleigh se caracteriza por su radiación isotrópica. Es decir tiene un coeficiente de anisotropía nulo, $g=0$. Mientras que en el régimen de Mie, la luz esparcida solamente se ve desviada ligeramente de su trayectoria inicial y sigue siendo altamente direccional ($g=1$). El caso de anisotropía negativa, $g=-1$, indica que la luz esparcida se dirige hacia atrás, hacia la fuente de la radiación. Podemos ver una representación gráfica de los procesos que ocurren en la figura 2.3. Existen también otros procesos de esparcimiento inelástico, como los procesos de Raman o Brillouin, en los que las frecuencias de los fotones esparcidos son desplazadas debido a cambios en el estado energético.

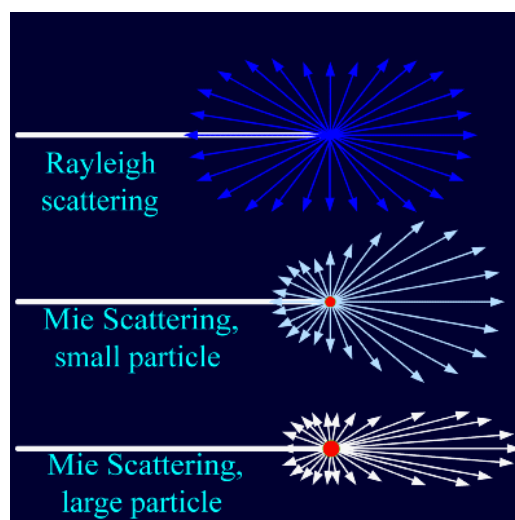


Figura 2.3. Muestra de las radiaciones en los diferentes tipos de *scattering* [2].

2.4. Absorción

Mediante el mecanismo de absorción, la intensidad de una onda electromagnética incidente es atenuada al pasar a través de un medio. La absorción es producida por una conversión parcial, o total, de energía luminosa en energía térmica, debido a la vibración producida en las moléculas del medio absorbente. La absorción depende de la longitud de onda de la onda incidente. La capacidad de un medio para absorber la radiación electromagnética depende de distintos factores como, la configuración electrónica de sus átomos y moléculas, el grosor de la capa absorbente, parámetros internos como la temperatura o la concentración de agentes absorbentes y la longitud de onda de la onda incidente. Las leyes de Lambert y Beer describen el efecto del grosor y de la concentración, en la absorción, respectivamente. En los tejidos biológicos, la absorción es causada principalmente por las moléculas de agua y las macromoléculas como las proteínas.

La longitud de absorción se define como la distancia media que un fotón recorre antes de ser absorbido, también se puede denominar camino medio libre de absorción.

$$l_a = \frac{1}{\mu_a} \quad (6)$$

Los fotones son absorbidos por átomos y moléculas en transiciones específicas y la energía de estos fotones es a su vez la que provoca el paso a niveles energéticos superiores. Las regiones del espectro donde ocurren estos procesos se conocen como bandas de absorción. Puesto que los fotones a cada longitud de onda llevan una energía determinada, cada material sólo absorberá la luz a unas longitudes de onda dadas. Esto da como resultado una curva de absorción característica para cada uno de estos materiales.

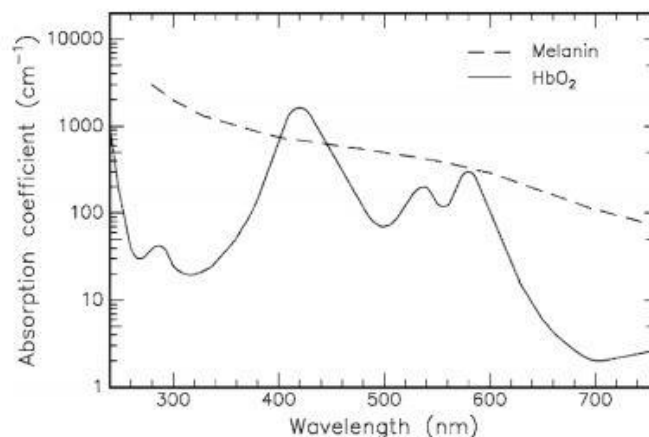


Figura 2.4. Espectro de absorción de la melanina en la piel y la hemoglobina de la sangre. [3]

El coeficiente de absorción de un medio compuesto por partículas absorbentes idénticas uniformemente distribuidas se define como:

$$\mu_a = \rho \sigma_a \quad (7)$$

Donde ρ se trata de la densidad de partículas. σ_a se trata de la sección de absorción.

La absorción de un medio viene descrita por la ley de Beer-Lambert:

$$I(d) = I_0 e^{-\mu_a d} \quad (8)$$

Donde I_0 es intensidad inicial, d la distancia recorrida por la radiación dentro del medio y μ_a es el coeficiente de absorción por unidad de longitud en cm^{-1} .

2.5. Interacción con los tejidos

Los tejidos están compuestos por una gran variedad de elementos diferentes: células, organismos intracelulares, fibras con distintas formas, membranas, etc. todos ellos con diferentes tamaños, disposición y, por lo tanto, presentando diferentes propiedades ópticas. Los tejidos son materiales muy heterogéneos y por esto se denominan medios “turbios” ya que son altamente dispersivos y con gran absorción y esparcimiento. La piel y otros elementos como las paredes arteriales tienen estructuras multicapa muy dispersivas, los glóbulos rojos que circulan en la sangre disponen de un tamaño de tan sólo 7 micras con forma plana con gran absorción. Sin embargo, el resto de células pueden tener tamaños que superan la centena de micras.

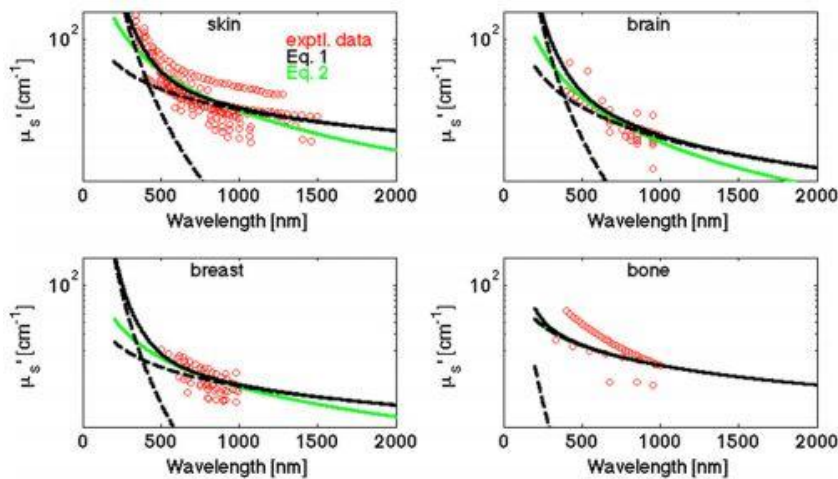


Figura 2.5. Evolución aproximada del coeficiente *scattering* en diferentes tejidos biológicos. Los puntos rojos son las diferentes medidas, la línea verde y la negra dos ajustes diferentes. [4]

El esparcimiento depende fuertemente de la forma, tamaño y estructura de las partículas que forman el tejido como se puede observar en la figura 2.5. Es por esto, que midiendo este coeficiente se pueden detectar variaciones en la forma o el tamaño de los componentes del tejido que permiten conocer por ejemplo si el tejido tiene posibles anomalías.

Estos tejidos presentan multitud de reflexiones, refracciones, esparcimiento y absorción debido a las diferencias de forma, tamaño y composición que existen entre ellos. El parámetro óptico más dependiente del tamaño y la forma de las partículas que forman los tejidos es el coeficiente de *scattering*.

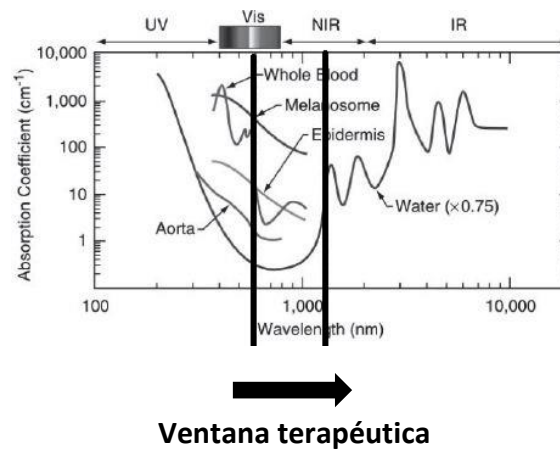


Figura 2.6. Coeficiente de absorción de distintos tejidos biológicos. Se indica la 'ventana terapéutica' (*Diagnostic window*) [1]

Si hablamos sobre la absorción, esta viene determinada por la composición química de las partículas que conforman el tejido y no tanto por la forma o tamaño de estas. La absorción depende por lo tanto de las moléculas que forman cada tejido y depende también de la longitud de onda a la que se toma la medida. Por ejemplo, el agua [3] se trata de uno de los mayores absorbentes y se encuentra presente en todos los tejidos.

La región entre 600-1400 nanómetros se trata de la denominada “ventana terapéutica” donde el valor de la absorción debido al agua disminuye como se puede observar en la figura 2.6. Aunque en la caracterización de tejidos no sólo afecta la absorción del agua, sino que también entra en juego la absorción de la sangre, que estudiaremos en el trabajo.

Se han mencionado los fenómenos de la absorción y el *scattering* por separado, pero normalmente, en la mayoría de tejidos, estos se presentan simultáneamente. Su atenuación total puede ser expresada como:

$$\mu_t = \mu_s + \mu_a \quad (9)$$

Este μ_t se trata del coeficiente de atenuación total, que indica la atenuación total que se produce en la luz en un material resultado de todos los efectos de *scattering* y de absorción.

Capítulo 3. Simuladores de tejido biológico (Phantoms)

3.1. Introducción

En los últimos años se ha producido un fuerte crecimiento en el uso de las técnicas ópticas para la caracterización de tejidos. La obtención de las propiedades ópticas de un tejido real es complicada ya que el cálculo de éstas depende de múltiples variaciones de distintos parámetros morfológicos y bioquímicos que son difíciles de controlar. Por lo tanto, los sistemas comerciales reales que se utilizan a la hora de caracterizar los tejidos necesitan métodos de calibración estables y reproducibles. Para ello, son necesarias herramientas de prueba que imiten las características ópticas de los distintos tejidos.

Desde la década de los 80 se han ido desarrollando varios modelos de tejido que imitan las propiedades ópticas o estructurales de los tejidos para diferentes áreas de diagnóstico óptico. Se han desarrollado modelos de tejido para múltiples técnicas ópticas como: fluorescencia, monitorización no invasiva del nivel de glucosa, oxigenación de la hemoglobina, medida de las propiedades ópticas de tejidos ex vivo, detección cuantitativa de fluoróforos, medidas en reflectancia difusa, etc. Los *phantoms* juegan un papel muy importante en los estudios relacionados con la aplicación terapéutica de la radiación óptica.

Los simuladores de tejido biológico “*phantoms*” se utilizan para múltiples propósitos, como:

- Verificación inicial del sistema en diseño
- Optimización de la relación señal a ruido de sistemas de imagen óptica
- Realización de comparaciones en rendimiento con otros sistemas
- Realización de un control de calidad rutinario

El acceso a algún tipo de estos simuladores es posible a través de varias empresas que se dedican a su comercialización. Aunque en las últimas décadas el desarrollo de estos simuladores ha sido bastante considerable, el uso de no está muy extendido debido a que existía cierta dificultad a la hora de obtener simuladores con las propiedades geométricas y ópticas necesarias.

En este capítulo se realiza un resumen de los diferentes tipos de simuladores de tejido biológico mostrando sus características como geometría, duración, propiedades ópticas y aplicaciones principales.

3.2. Composición de los phantoms

A la hora del diseño de un *phantom* es importante conocer cuál es la estructura [5] típica de estos simuladores. Dispondrá principalmente de una estructura como la siguiente:

- **Matriz:** La matriz o base se trata de la base del simulador, es decir, es la parte sobre la que se comienza el desarrollo del *phantom*. La matriz se encarga de asegurar la estabilidad requerida al *phantom* y sobre ella es donde se introducen el resto de componentes. Ejemplos: agua, sangre, resinas, etc.

Material Matriz Phantom	Permanente	Sólido/Líquido	¿Se puede ajustar la Absorción?	¿Se puede ajustar el Scattering?	Índice de refracción medio
Agua	No	Líquido	Sí	Sí	1.34
Matriz de gelatina/Agar	No	Flexible	Sí	Sí	1.35
Resina Epoxy	Sí	Sólido	Sí	Sí	1.54
Resina Poliuretano	Sí	Sólido	Sí	Sí	1.50
Silicona	Si	Flexible	Sí	Sí	1.4

Figura 3.1. Diferentes opciones para la composición de la matriz y características. [5]

- **Esparcidores o *catterers*:** los *scatterers* se tratan de los materiales que introducen, por las características de sus partículas, esparcimiento en el *phantom*. Se añaden sobre la denominada matriz. Algunos ejemplos son intralipid (en agar-agar o agua) o micro-esferas de óxido de alúmina o titanio (en resina y silicona).
- **Absorbentes o *bsorbers*:** se trata del caso análogo a los *scatterers* pero su misión es aumentar la absorción total del phantom. Se trata de los materiales que disponen de cromóforos, es decir, materiales capaces de absorber energía radiante. Algunos ejemplos son diferentes tipos de tintas, sangre e incluso agua.
- **Otros.** Dependiendo de la base o matriz que se utilice en el *phantom*, se pueden necesitar diferentes tipos de materiales adicionales. Por ejemplo, podemos utilizar en la matriz un material que necesite un endurecedor que permita obtener una estabilidad y durabilidad de sus características o, por ejemplo, fungicidas para que sus características se mantengan el mayor tiempo posible, etc.

3.3. Scattering en phantoms

A la hora de querer introducir esparcimiento o *scattering* en un *phantom*, se introduce normalmente como un agente separado de la matriz que compone la base del *phantom*. El material que introduce el esparcimiento suele ser típicamente de un porcentaje inferior al 50% del total del material que compone el *phantom*.

Típicamente se utilizan tres materiales como “*scatterers*”: lípidos, micro-partículas y dióxido de titanio/óxido de aluminio [5]:

- Los *phantoms* basados en lípidos son biológicamente muy similares a las partículas que producen el *scattering* en los diferentes tejidos.
- Los *phantoms* en los que se introducen micro-partículas permiten mantener un control sobre el tamaño, geometría y el valor del índice de refracción.
- Los que emplean dióxido de titanio u óxido de aluminio son indicados si su propósito es introducir grandes coeficientes de *scattering*.

Cada una de estas opciones se utiliza no sólo dependiendo de las propiedades que queramos introducir al simulador, sino también del material del que esté compuesta la matriz. Los basados en lípidos en su estado natural se encuentran de forma líquida por lo que su aplicación está indicada para *phantoms* con base en líquido como agua. Por otro lado, los basados en dióxido de titanio son más indicados para utilizar en bases desarrolladas en resina o materiales gelatinosos. En la figura 2.8 se muestran algunas de las características de estos materiales.

Material <i>scatterer</i>	Permanente	Tamaño de Partícula	Uso recomendado	Índice medio de refracción
Lípidos	No	100 a 500 nm	Intralipid, Leche	1.45
TiO ₂ /Al ₂ O ₃	No	50 nm hasta 100 µm	<i>phantoms</i> gelatina/agar y silicona	2.4 hasta 2.9
Micro-esferas de polímero	Sí	20 hasta 70 nm	Se utiliza en <i>phantoms</i> líquidos y silicona	1.59
Micro-esferas de cuarzo	Sí	250 nm	<i>phantoms</i> de resina	-

Figura 3.2. Tabla en la que se muestran las diferentes opciones de materiales que introducen *scattering*/esparcimiento. [5]

3.4. Materiales y propiedades

Como sabemos, en el cuerpo humano existe una gran diversidad de tejidos todos ellos con propiedades, composición y estructuras muy diversas. A la hora de desarrollar simuladores de tejido esta diversidad también se mantiene por lo que existe una gran variedad de *phantoms*. En este apartado, se realizará una clasificación de ellos según los materiales de los que están compuestos y se citarán algunas de sus propiedades. Los *phantoms* de tejidos pueden dividirse en dos clases principalmente [5], líquidos y sólidos.

- Los ***phantoms* líquidos** donde los agentes esparcidos y los absorbentes son mezclados con un diluyente (se entiende como base en un líquido) son más fáciles de preparar. Estos *phantoms* se utilizan principalmente en el modelado de medios infinitos o semi-infinitos con absorción, *scattering* e incluso fluorescencia.
- En los ***phantoms* sólidos** la base se trata de un material sólido sobre la que se introducen aditivos que modifican sus propiedades. Algunos de estos materiales son polímeros y geles basados en agua. La habilidad de estos materiales para conseguir la forma deseada proporciona la posibilidad de crear *phantoms* geoméricamente complejos. De esta forma, se pueden simular las formas de órganos y realizar simulaciones totalmente reales sobre ellos como cortes, modificaciones de forma, etc. Una de las grandes ventajas de utilizar medios sólidos es que la agregación y la sedimentación de partículas de dispersión, que es un problema común en *phantoms* de líquido, es mucho más sencilla ya que la dureza del material de la base no permite el movimiento de las partículas de dispersión.

3.4.1 *Phantoms* basados en agua

Los *phantoms* basados en agua pueden emplear [6] los tres *scatterers* principales mencionados en el apartado anterior. La absorción de estos *phantoms* es debida, en su mayor parte, a que en el régimen visible del espectro electromagnético la absorción del agua se encuentra en sus máximos valores. A longitudes de onda menores de 700 nanómetros este efecto puede ser despreciado y en este caso puede ser necesaria la introducción de absorbentes para emular la absorción del tejido a simular. Típicamente, en estos *phantoms* se introducen eritrocitos, hemoglobina de la sangre para introducir gran absorción) o la sangre propiamente dicha. Este tipo de *phantom* es el que se empleará a lo largo de este trabajo.

A la hora de trabajar con este tipo de *phantoms* hay que tener especialmente cuidado [6] con el mantenimiento de sus propiedades con el tiempo. Algunos *phantoms* como en los que se introducen lípidos suelen ser utilizados por periodos de días o semanas y después son desechados ya que mantienen sus propiedades un tiempo menor que otras

composiciones. La utilización de TiO_2 suele ser la norma para introducir el *scattering* en los *phantoms* si queremos alargar su duración en el tiempo.

3.4.2 *Phantoms* basados en gelatinas

Las sustancias que en su interior incluyen agua de forma que ésta permanece sin poder salir de ella limitando su movimiento son clasificadas dentro de la categoría de “hydrogel” o gelatina. Algunos ejemplos son la gelatina [6] o el agar-agar y todas sus variaciones posibles. El agar-agar y las gelatinas son dos de los materiales fundamentales en la historia del desarrollo de *phantoms*. El agar-agar era utilizado en *phantoms* para resonancia magnética o MRI (*Magnetic Resonance Imaging*), ultrasonidos y más tarde fueron adaptados para técnicas ópticas aplicadas a tejidos. Ambos materiales permiten la inclusión de moléculas orgánicas y composiciones celulares obteniendo así *phantoms* con constitución sólida que pueden tener gran variedad de formas diferentes.

En cuanto a los *scatterers* que se usan en estos *phantoms*, y tal y como se refleja en la Fig. 3.3, se utilizan dióxido de titanio u óxido de aluminio. El uso de estos dos tipos de *scatterers* está cada vez más extendido ya que además de ser más barato, es fácil de introducir en el *phantom* con matriz de gelatina o en solución de agar-agar.

El factor más importante a tener en cuenta a la hora de la producción de estos *phantoms* es el nivel de detalle y el proceso utilizado para ello. Por ejemplo, si como esparcidor se emplea TiO_2 , al introducirlo en el *phantom* se precipita hacia el fondo del recipiente siendo necesario removerlo cada poco tiempo ya que de otra manera se pierde la homogeneidad de la mezcla. El TiO_2 modifica sus propiedades a lo largo del tiempo por lo que el índice de *scattering* de *phantoms* con la misma mezcla puede variar significativamente entre ellos. Además pueden ser añadidas diferentes sustancias que permiten modificar características de estos para mejorarlas o conseguir nuevas propiedades como: aumentar la duración de sus propiedades en el tiempo, eliminar bacterias, modificar su espectro para que sea más parecido al de un tejido real, evitar su degradación, etc. En la figura 3.3 se pueden ver algunas de estas sustancias que pueden añadirse a *phantoms* basados en gelatina o agar-agar.

Aditivos	Función	Limitaciones	Estabilidad
Sangre	Proveer de un espectro de tejidos reales	Depende altamente de la hemoglobina es difícil modificar su nivel	Días
Tinta	Proveer de efectos de absorción	No es muy estable por lo que es difícil mantenerlo durante el tiempo	días
Moléculas Orgánicas	Aumentar la composición orgánica	Difícil mantener sus características en el tiempo	Días

Figura 3.3. Resumen de los aditivos que pueden ser usados en *phantoms* de gelatina y agar-agar. También se pueden utilizar en *phantoms* de agua. [5]

3.4.3 *Phantoms* basados en resinas

La construcción de estos *phantoms* [6] requiere una mezcla de resina y un endurecedor para crear una resina sólida que es transparente. Esta mezcla se mantiene a temperatura ambiente unos cuantos días o a una temperatura elevada unas horas para que se endurezca. En ellos se utilizan como *scatterers* tanto TiO_2 como esferas de poliestireno. En la figura 3.4 se muestran algunos de los aditivos que se pueden incluir en este tipo de *phantoms*.

La mezcla exacta con la cantidad de endurecedor requerida para cada tipo de resina es muy importante a la hora de obtener un volumen homogéneo y a su vez que el proceso de “curación” sea lo más rápido posible. A la hora del proceso en el que se mezclan ambos se genera calor y cierta expulsión de gases. La expulsión de estos gases del *phantom* es esencial para que no se generen burbujas que modifiquen las propiedades.

Las resinas caracterizan a los *phantoms* enfocados a la calibración y validación de las medidas de sistemas como OCT. Se tratan de *phantoms* que no se degradan, es decir, sus propiedades son continuas en el tiempo con larga duración de incluso años. Esto es muy importante ya que así nos permite realizar por ejemplo comparaciones entre diferentes sistemas a lo largo del tiempo.

Aditivos	Función	Limitaciones	Estabilidad
TiO ₂	Proveer de <i>scattering</i> estable y calibrado	No representa espectralmente a los tejidos	Años
Tinta	Proveer de efectos de absorción	No es muy estable por lo que es difícil mantenerlo durante el tiempo	Años
Micro-esferas	Proveer de un valor de <i>scattering</i> determinado	Más costoso que otras técnicas	Años

Figura 3.4. Aditivos que pueden ser usados en *phantoms* basados en resinas. [5]

3.4.4 Phantoms comerciales especializados en calibración y caracterización de equipos OCT

Existen múltiples empresas [7] que han comercializado *phantoms* indicados especialmente a la caracterización de sistemas OCT. Con estos, es posible calibrar las medidas que se realizan con el sistema midiendo diferentes parámetros como puede ser la PSF (*Point Spread Function*), la sensibilidad, resolución, distorsión etc.

Estos *phantoms* están formados por una matriz de resina epoxi (Araldite DBF) y un endurecedor necesario en este tipo de simuladores (Araldite HY951), son dopados con esferas de baja densidad. La resina epoxi caracteriza a los enfocados a la calibración y validación de las medidas de sistemas como OCT, como se observó en el apartado anterior.

Un ejemplo de *phantom* comercial utilizado en calibración, se trata del fabricado por Arden Photonics [7]. Este *phantom* está compuesto de diferentes patrones que son ‘escaneados’ por el OCT como se puede ver en la figura 3.5.

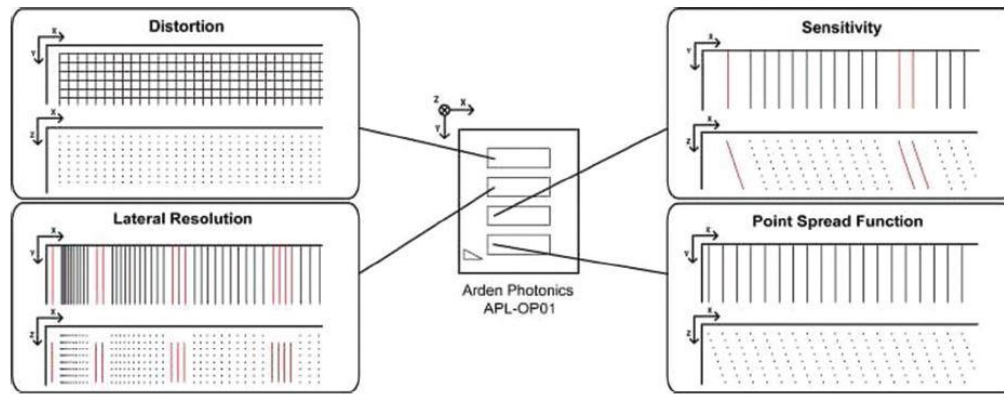


Figura 3.5. Ejemplo de los patrones de un *phantom* de Arden Photonics dependiendo del parámetro a calibrar [7]

Capítulo 4. Tomografía de coherencia óptica. OCT y Modelado.

4.1. Introducción

La tomografía de coherencia óptica OCT (*Optical Coherence Tomography*) se trata de una técnica de imagen no invasiva que permite obtener imágenes de tejidos en alta resolución que comenzó su desarrollo en la década de los 90 [8]. La técnica OCT se basa en interferometría de baja coherencia. Su funcionamiento se basa en la iluminación del material o tejido y la posterior medida del “eco óptico” que produce la muestra o el objeto iluminado. Al llegar la radiación a la muestra la luz, ésta se esparce por el interior de esta y se retro-esparce hacia la superficie. Cuando la radiación sale del material, capturada y a partir de su medida se obtendrá información morfológica del mismo.

Esta técnica permite resoluciones mucho mayores que otras técnicas muy utilizadas como el ultrasonido, rayos X o resonancia magnética, obteniendo capturas de imagen a profundidades de en torno a 2-3 milímetros [9]. En la figura 4.1 se puede observar una comparación con las técnicas de resoluciones milimétricas utilizadas en la actualidad.

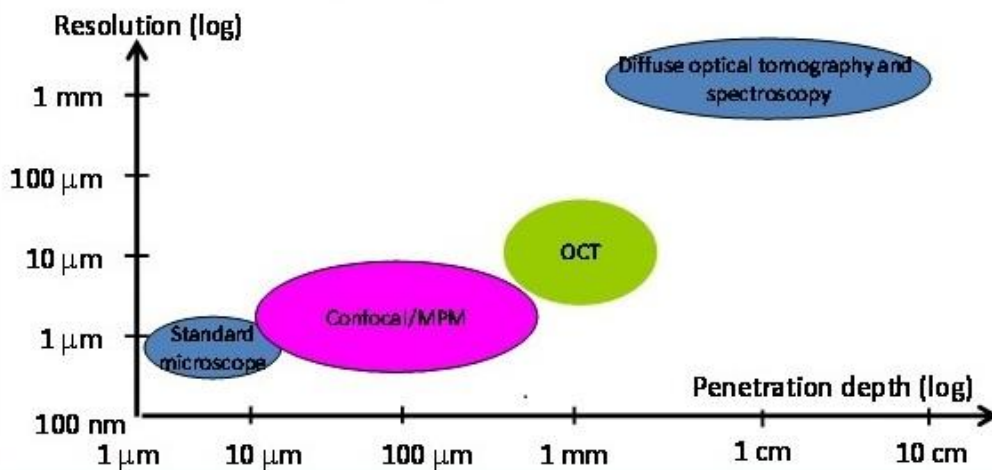


Figura 4.1. Comparativa entre diferentes técnicas de obtención de imagen según resolución y penetración. [9]

El funcionamiento básico de esta técnica de imagen consiste en medir el eco de luz recibido con el objetivo de caracterizar la muestra. Su funcionamiento es similar a la técnica de ultrasonidos (Ecografía o US) ya que el fundamento de la técnica con ultrasonidos se trata también de captar el “eco” recibido pero a una frecuencia mucho menor.

La ventaja de OCT frente a los ultrasonidos es que al utilizar la luz, la velocidad de propagación es mucho mayor, lo que permite medidas más rápidas y además aporta una resolución mayor. La figura 4.2 muestra una comparativa entre la resolución obtenida con OCT, ultrasonidos y MRI pudiéndose observar la mejora en resolución que aporta la primera.

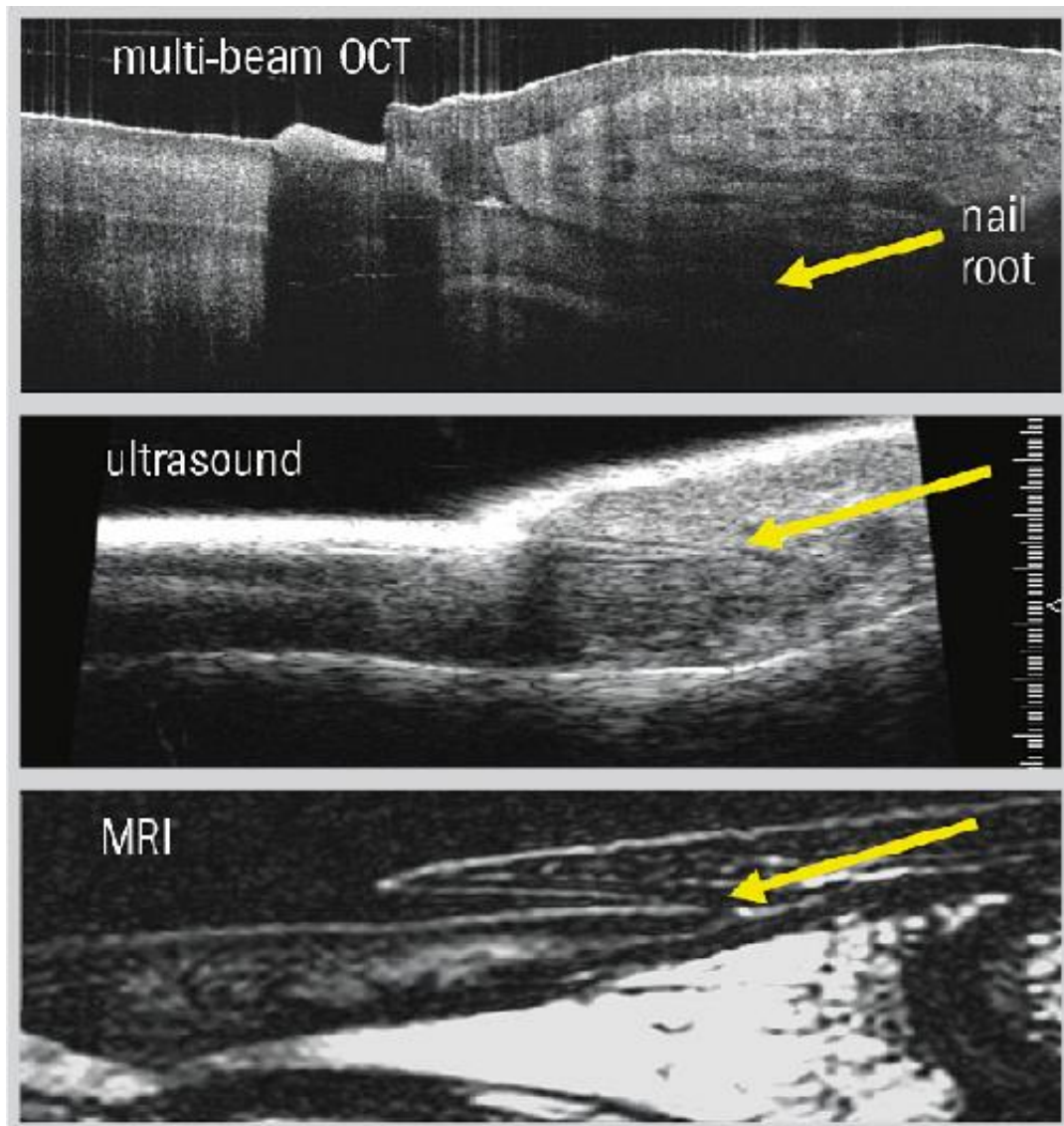


Figura 4.2. “Corte” transversal del dedo de un humano mediante OCT, ultrasonido de alta resolución y resonancia magnética (MRI). [9]

OCT y el resto de técnicas de tomografías son indicadas para visualizaciones internas del tejido por eso permiten visualizaciones de unas pequeñas micras frente a otro tipo de técnicas como la resonancia magnética (MRI) que están más enfocadas a la visualización a nivel de órgano externo.

4.2. Coherencia

La coherencia es el parámetro que indica que dos ondas de cualquier tipo presentan idéntica fase. Cuando en una onda dos puntos tienen la fase constante se dice que se trata de dos puntos “coherentes”. Esto permite predecir la fase en otro punto conociendo la fase de un punto de la misma onda en un instante determinado. En la figura 4.3 es posible ver una representación gráfica de los dos tipos de coherencia existentes.

Existen dos tipos de coherencia:

- **Coherencia temporal:** la coherencia temporal muestra el parecido de un punto de la onda consigo mismo en el transcurso de un tiempo, es decir, hasta cuando es predecible el valor de fase en ese punto a partir de un momento conocido. Esto da un valor de tiempo de coherencia. Según esta definición, una fuente de luz con alta coherencia consiste en una fuente en la cual su fase es predecible en el tiempo. Esto es lo que ocurre en una fuente monocromática. Aunque es algo “irreal” ya que una fuente monocromática debería ser ideal para poder ser una fuente de luz totalmente coherente. Una fuente no ideal tendrá un tiempo de coherencia que aumentará si aumenta su coherencia.
- **Coherencia espacial:** Se refiere a la diferencia de fase entre dos puntos de una onda. Dos puntos de una onda son coherentes si su diferencia de fase es constante, es decir, cuando conocida la fase de la onda en un punto es posible conocer la del otro punto. Una fuente con un gran frente de emisión tendrá una coherencia espacial baja al contrario que una fuente con un frente de emisión pequeño.

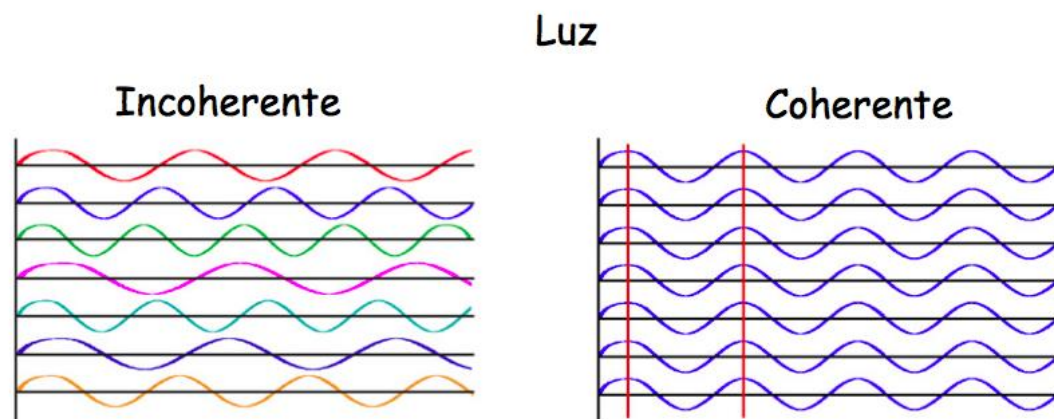


Figura 4.3. Ejemplo a la izquierda de luz incoherente y a la derecha de luz coherente

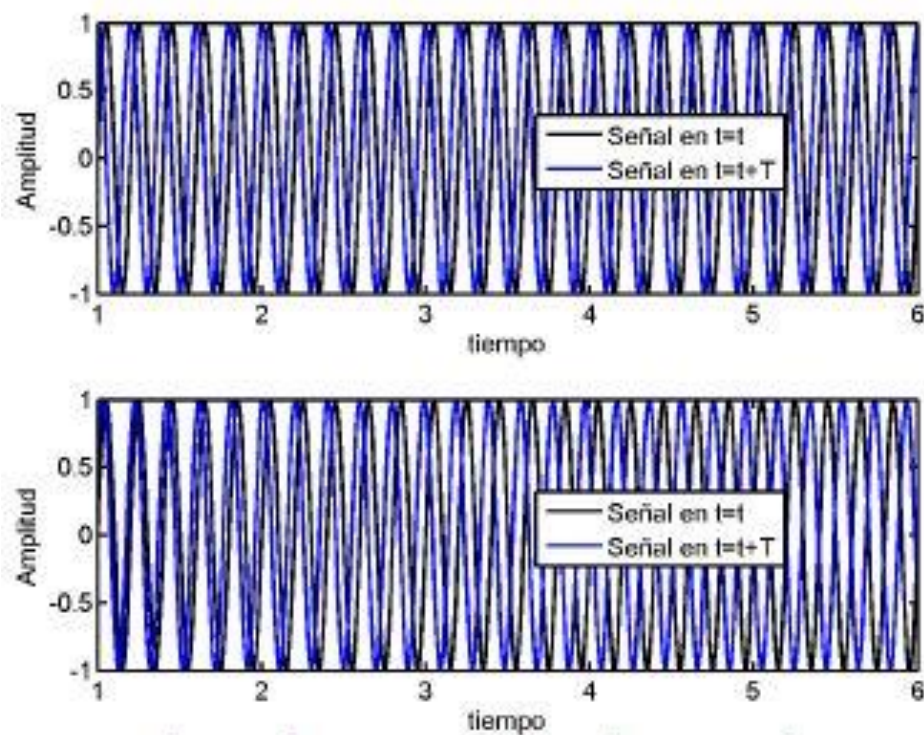


Figura 4.4. Ejemplo de dos ondas. Onda coherente (superior) e incoherente (Inferior).

Se muestra una onda en color negro y, superpuesta, una azul con un desfase de tiempo de T segundos. En el primer caso la fase es constante para T y para el instante $t+T$. En el segundo caso, la fase es distinta para los distintos instantes de tiempo. [10]

4.3. Interferometría

La interferometría se basa en la interferencia entre varias ondas. Se trata de realizar la medida de la interferencia entre ondas tras su suma siendo destructiva o constructiva en función de los desfases que existan entre ellas. Por lo tanto, el factor de la fase es muy importante en el resultado de la interferencia entre ellas. Las señales que sean monocromáticas obtendrán como resultado patrones de interferencia de mayor o menor intensidad a esa frecuencia. En el caso de fuente policromática, al patrón se le denominará “patrón de interferencia coloreado” ya que las ondas se pueden anular unas a las otras.

Esta técnica de interferometría es la utilizada por OCT. En este caso, se trata de hallar el resultado de la interferencia de una señal consigo misma al entrar en contacto con el tejido o muestra a medir.

Cuando se trate de una señal monocromática, es decir, “uni-frecuencial” y coherente, se modifica su amplitud y su fase al entrar en contacto con la muestra pero la fase entre dos puntos se mantiene por lo que la señal seguirá siendo monocromática y coherente.

Entonces, esta onda interfiere con la onda incidente produciéndose la interferencia que como resultado tendrá una onda con amplitud constante y una sola fase. Si la señal no es monocromática (varias frecuencias) las diferentes componentes frecuenciales tendrán cada una fase y amplitud determinadas. Esto producirá que el conjunto de todas ella sea de baja coherencia. Al llegar a la muestra las amplitudes y las fases de cada una de las componentes frecuenciales se modifican por lo que la señal resultante de la interferencia será una señal más irregular que en el caso monocromático.

El interferómetro que utilizan típicamente las técnicas de OCT se denomina Interferómetro de Michelson.

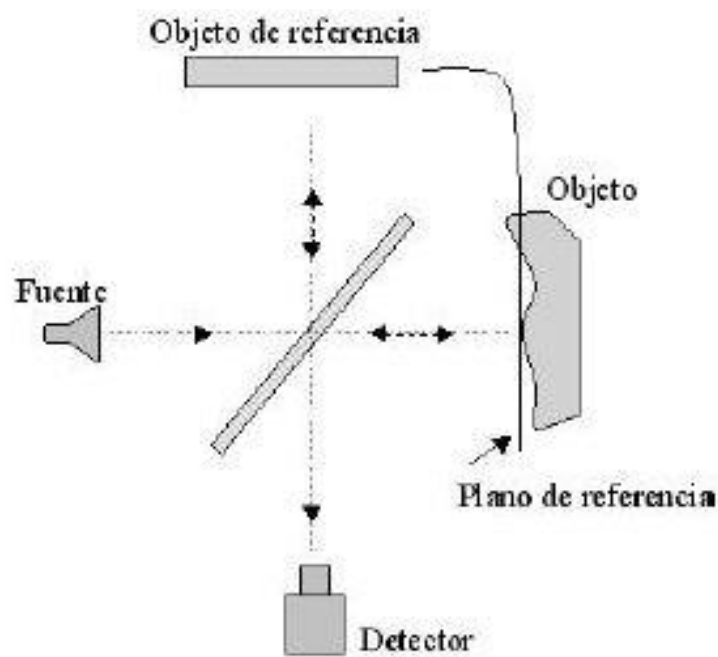


Figura 4.5. Interferómetro de Michelson que se utiliza en un sistema OCT.

Como se observa en la figura 4.5, el interferómetro consta de cuatro brazos: fuente, detector, objeto (donde se encuentra la muestra) y referencia. La interferencia se produce entre la luz del brazo de referencia y el brazo de muestra.

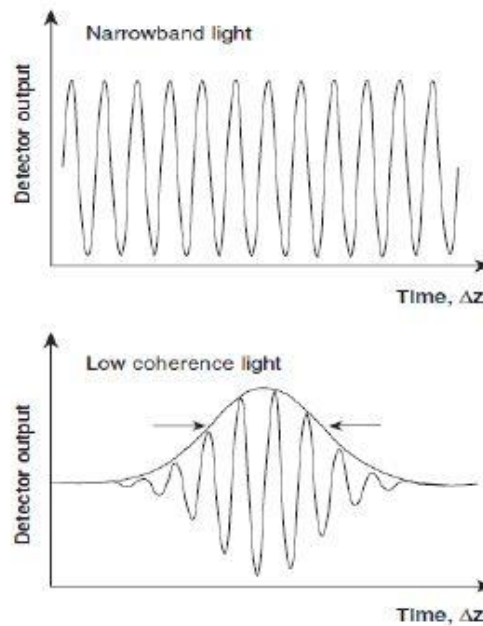


Figura 4.6. Señales resultado de la interferencia en el detector. La primera se trata del resultado de una fuente coherente, la de la parte inferior corresponde a una sinusoidal con envolvente gaussiana resultado de una fuente incoherente. [10]

El resultado de la interferencia es determinado por la fase con la que sumen las señales de los brazos de referencia y de muestra. Cuando la luz es monocromática, como se ve en la figura 4.6, el resultado se trata de una sinusoidal. Si la luz es coloreada, la interferencia se trata también de una sinusoide pero su amplitud fluctúa formando una envolvente gaussiana. El máximo de esta gaussiana viene determinado por el punto donde coincidan las distancias de los brazos de objeto de referencia y muestra.

4.4. Técnicas OCT

Existen diversas técnicas OCT que dependen principalmente del dominio en el que trabajen: temporal o frecuencial. El funcionamiento es similar en los dos dominios, el OCT se compone del interferómetro que combina ambas señales provenientes de la referencia y de la muestra y se crea una interferencia que es detectada.

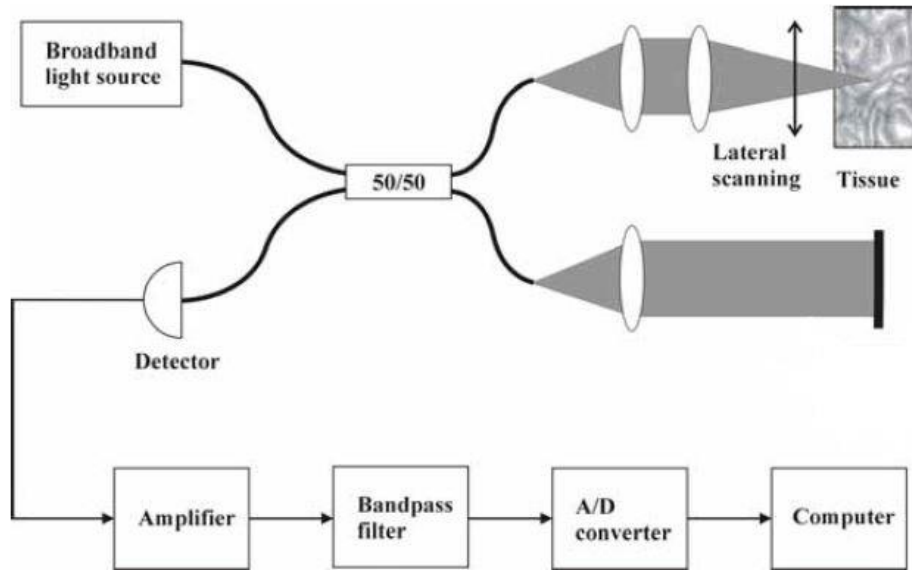


Figura 4.7. Sistema OCT básico, en el dominio temporal y que está construido con fibra. Debido a que utiliza esta tecnología, las señales se combinan con un acoplador de fibra. Dispone de 4 brazos, uno donde se encuentra la muestra, el de referencia, la fuente de luz y el detector. [11]

Los caminos ópticos serán “barridos” para penetrar a lo largo de la profundidad de toda la muestra. La fuente de luz es diferente en cada una de las técnicas, pero todas tienen en común la utilización de fuentes de baja coherencia con gran ancho espectral.

Cada medida [12] que se obtiene del sistema OCT se le denomina A-scan. Se obtiene al focalizar con la lente del sistema en un punto fijo del objeto a escanear. Al final del proceso que se produce en el interferómetro se obtiene como resultado un perfil de intensidad de la luz retro-esparcida a lo largo de la profundidad de la muestra. La continuación del proceso consiste en ir focalizando la lente en puntos espacialmente contiguos para, tras obtener sus A-scan, formar un B-scan. Dos ejemplos de B-scan son las Fig. 4.8 y 4.9, agrupa varios A-scan para formar una imagen que representa la distribución de la intensidad de luz retroesparcida a lo largo de la profundidad del tejido y de una sección espacial del mismo.

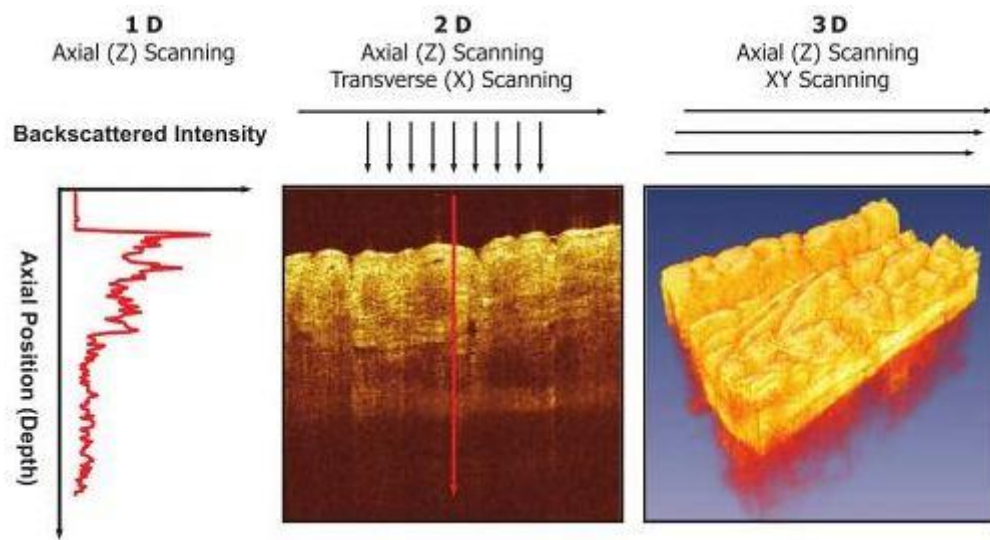


Figura 4.8 Medidas OCT: (izqda) A-scan, luz retro-esparcida en función de la profundidad del tejido; (centro) B-scan, radiación retro-esparcida a lo largo de una sección transversal del tejido; (dcha) C-scan, imagen 3D de la radiación retro-esparcida.[13]

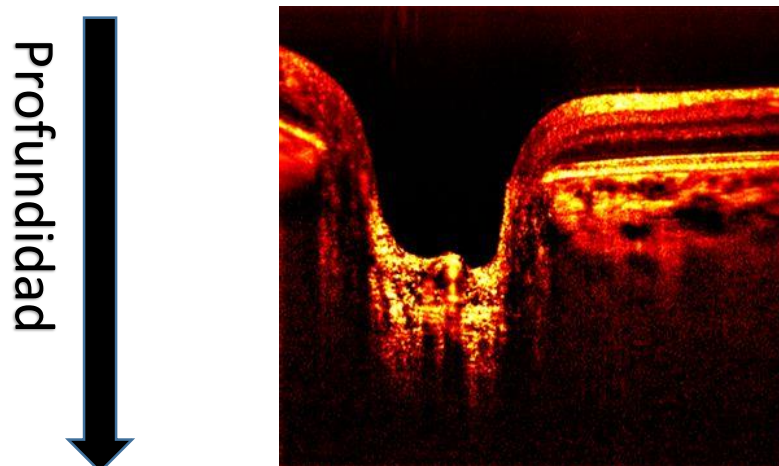


Figura 4.9 B-scan de una retina de ojo humano. [14]

4.4.1 Características de un sistema OCT

Las características más importantes de un sistema OCT son [15]:

- **Resolución axial:** también llamada resolución en profundidad, viene determinada por la longitud de coherencia de la fuente utilizada. Al interferir la señal consigo misma, dicha interferencia representa la autocorrelación de dicha señal. La anchura espacial de esta autocorrelación se denomina longitud de coherencia, l_c , la cual establece la resolución axial máxima Δz y es inversamente proporcional al ancho del espectro en potencia

$$\Delta z = l_c = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \left\{ \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \right\} \approx 0.44 \left\{ \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \right\} \quad (10)$$

Donde:

- Δz es la anchura a mitad del máximo de la función de autocorrelación.
- $\Delta \lambda$ es la anchura espectral de la fuente.
- λ_0 es la longitud de onda central de la fuente de luz.

Atendiendo a esto, se puede concluir que se requieren fuentes de luz con un ancho de banda amplio para conseguir una resolución axial elevada ya que la resolución axial es inversamente proporcional al ancho de banda de la fuente de luz.

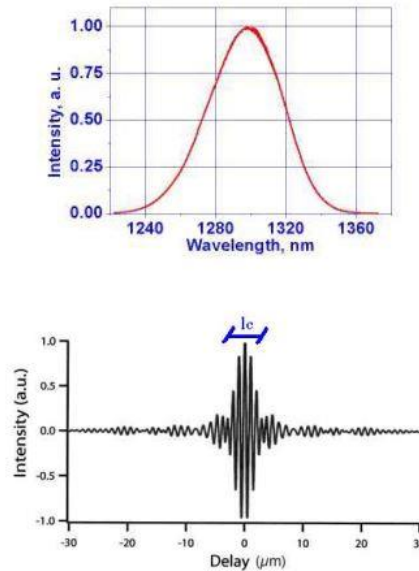


Figura 4.10. Muestra del espectro y señal de la interferencia de baja coherencia de un diodo, donde se puede observar las franjas que se observan dentro de la longitud de coherencia del mismo. [15]

- **Resolución Lateral:** la resolución transversal que se puede conseguir con imágenes OCT está determinada por el tamaño del punto de enfoque de un haz óptico, dado por:

$$\Delta x = \frac{4\lambda}{\pi} \left\{ \frac{f}{d} \right\} \quad (11)$$

donde d es el diámetro del haz gaussiano en la lente de enfoque y f es la longitud focal de la misma lente. Así pues, se puede conseguir una gran resolución transversal empleando una gran apertura numérica para disminuir el tamaño del punto en el plano focal de la lente. Sin embargo, un incremento de la resolución transversal produce una reducción de la profundidad del foco, b , que es dos veces la longitud de Rayleigh. Así, se define el parámetro confocal b o profundidad de enfoque como [referencia]:

$$b = 2Z_r = \frac{\pi \Delta x^2}{2\lambda} \quad (12)$$

donde:

- λ es la longitud de onda principal
- Δx es la resolución transversal.

- **SNR (relación señal a ruido):** la relación señal-ruido (SNR, *Signal to Noise Ratio*) de detección se puede calcular usando las técnicas estándar para comunicaciones ópticas, por ejemplo con la siguiente expresión.

$$SNR = 10 \log \left(\frac{\eta P}{2h_\nu NEB} \right) \quad (13)$$

donde:

- η es la eficiencia cuántica del detector
- P es la potencia de la señal
- h_ν es la energía del foton
- NEB (*Noise Equivalent Bandwidth*) es el ancho de banda equivalente de ruido del filtro utilizado para la demodulación de la señal.

- **Máxima penetración posible:** El factor de profundidad se trata de una característica muy importante aunque depende mucho de la aplicación y de las características y tipo de material o tejido a analizar.

Se ha comentado la existencia de dos versiones de OCT en los dominios frecuencial y temporal. Es importante recalcar que estas características son comunes a ambas variantes, eso sí, existen diferencias entre ambas que se describirán en los siguientes apartados.

4.4.2 OCT en el dominio temporal (TD-OCT)

En este apartado se describirá la técnica OCT desde el punto de vista del dominio temporal. La diferencia principal con el otro tipo de OCT reside en el método de barrido en profundidad para obtener cada A-scan. También existen otras diferencias como los requerimientos SNR, la velocidad de adquisición, el propio interferómetro, etc.

El dominio temporal [15] se caracteriza por la necesidad de realizar dos barridos, uno para recorrer la muestra y otro para seleccionar la profundidad. Básicamente, existen dos técnicas de interferometría de baja coherencia (LCI, *Low Coherence Interferometry*) en el dominio del tiempo y ambas emplean interferometría con dos haces de luz: la reflectometría OCT y OCT de haz dual.

4.4.2.1 Reflectometría OCT

Se trata de la técnica tradicional de implementación de OCT y está basada en el principio de reflectometría [15] (Danielson and Whittenberg 1987). Esta técnica emplea, en la mayoría de los casos, un interferómetro de Michelson situando en uno de los brazos la muestra y en el otro brazo un espejo de referencia que se desplaza longitudinalmente a lo largo del eje del haz de luz como se aprecia en la figura 4.11. La detección se hace con un detector de envolvente, y el barrido moviendo el espejo del brazo de referencia. Este es justamente el principal inconveniente de esta técnica, hay que mover el espejo punto a punto para llegar a toda la profundidad del tejido lo que alarga el tiempo de captura para cada medida.

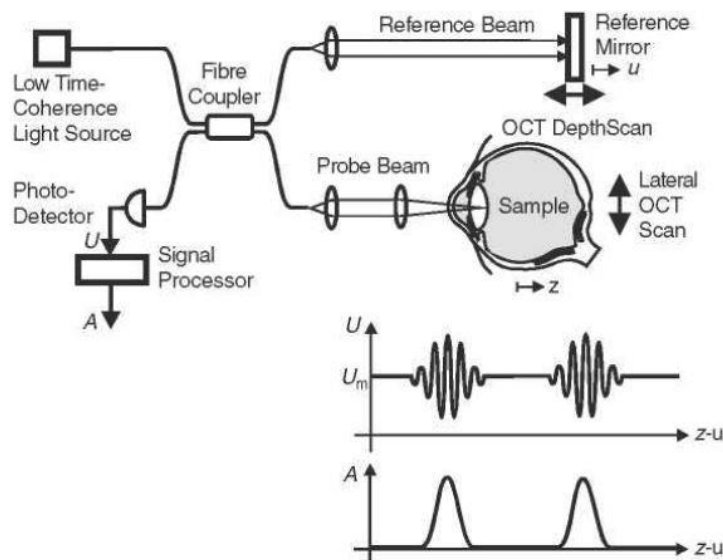


Figura 4.11. Esquema de funcionamiento de un sistema TD-OCT. Se puede observar como el brazo de referencia se debe mover longitudinalmente. [16]

El funcionamiento de TD-OCT se basa en la siguiente expresión:

$$I_E(\tau) = I_S(t) + I_R(t) + 2\text{Re}\{S_R(\tau)\} \quad (14)$$

$$2\text{Re}\{S_R(\tau)\} = G_{SR}(\tau) = 2\sqrt{\langle I_S I_R \rangle} |\gamma_{SR}| \cos[\alpha_R - \delta_{SR}(\tau)] \quad (15)$$

Donde:

- I_S es la intensidad en la fuente,
- I_R es la intensidad reflejada en el brazo de referencia y en cada elemento que refleja de la muestra.

El tercer elemento de la ecuación 15 representa la correlación cruzada entre las señales y depende del instante temporal.

- $|\gamma_{SR}|$ se trata del grado de coherencia de la fuente que estamos utilizando, que corresponde a la autocorrelación del campo:

$$\gamma(\tau) = \frac{\langle E^*(t)E(t+\tau) \rangle}{\sqrt{I_0 R_R + I_0 R_S}} \quad (16)$$

- R_S y R_R son los coeficientes de reflexión en la muestra y en el brazo de referencia respectivamente.

Para finalizar con el dominio del tiempo se describirá la relación señal a ruido. Para caracterizar la SNR de este sistema es necesario conocer el ruido que se produce en todo el sistema. La fuente introduce cierto ruido, en el detector se introduce ruido de tipo “shot” y el ruido térmico presente en todos los sistemas. Según [15], la potencia de ruido sería:

$$N = 2qSR_rW \quad (17)$$

La potencia de señal entonces es la siguiente:

$$I = rR_S R_r S \quad (18)$$

Donde:

- q es la carga del electrón
- S potencia de señal media de entrada al receptor
- W ancho de banda de la señal eléctrica medida
- r se trata de la responsividad del receptor

Por lo tanto, el resultado final sería:

$$SNR = \frac{I}{N} = \frac{rR_S R_r S}{2qSR_rW} = \frac{rR_S}{2qW} \quad (19)$$

4.4.2.2 OCT de Haz Dual

En la técnica de haz dual la muestra se ilumina por dos haces de luz que se combinan a la salida del interferómetro. El OCT de haz dual [16] se implementó inicialmente, con un interferómetro de Fabry-Perot para obtener la imagen tomográfica del fondo del ojo (Fercher en 1993). Más tarde, se implementó una configuración con un interferómetro de Michelson para generar imágenes tomográficas de diferentes casos clínicos como glaucomas, retinopatía diabética, etc. La interferencia se observa si la diferencia de caminos en el interferómetro coincide con la diferencia de caminos entre el haz de luz dual y la muestra. En la figura 4.12 se puede observar un esquema de la técnica.

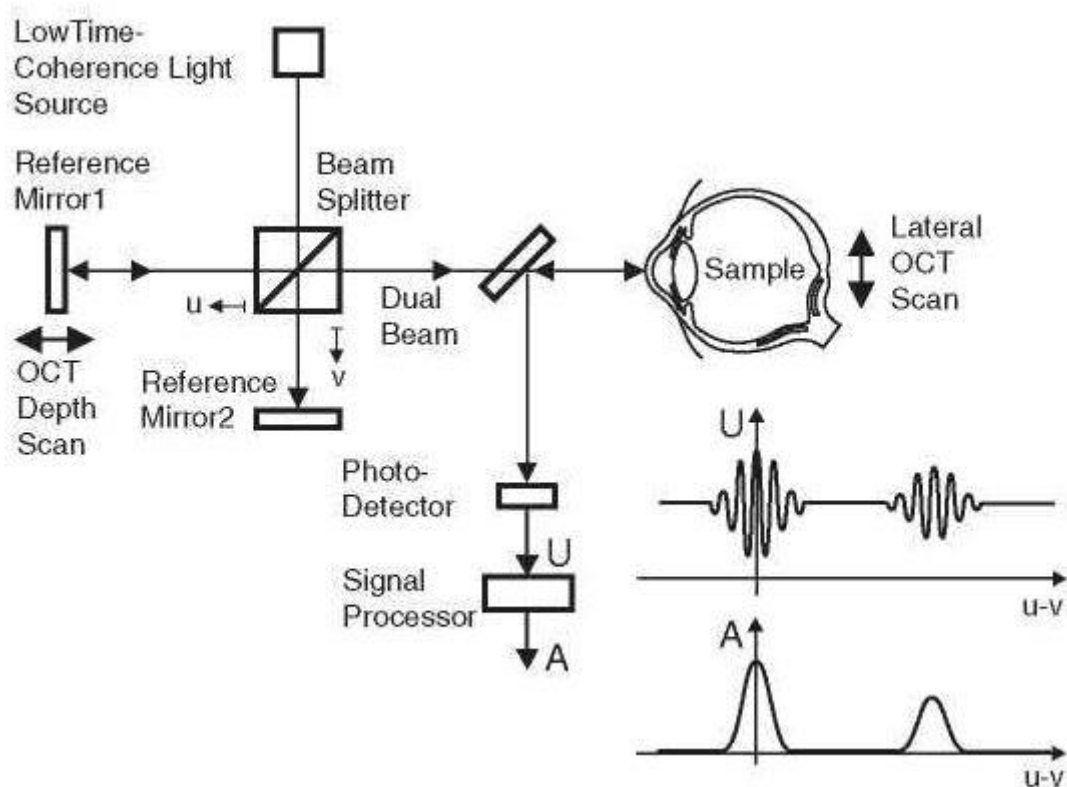


Figura 4.12. Esquema básico de la técnica OCT de haz dual [16].

La señal del detector es una señal de autocorrelación y sólo proporciona una imagen sin ambigüedad si predomina una de las interfaces de la muestra.

4.4.3 OCT en el dominio de Fourier

La principal diferencia de esta técnica con la técnica en el dominio del tiempo se trata de que aquí sólo es necesario realizar un barrido espacial para obtener la imagen OCT frente al doble barrido necesario en la técnica temporal.

El perfil de profundidad proviene de realizar la transformada inversa de Fourier de la luz retro-esparcida. Existen dos formas de obtener el perfil y amplitud de esta luz retro-esparcida en el dominio de Fourier: por interferometría espectral (SD-OCT, Spectral Domain-OCT) [16] y mediante técnicas de longitud de onda sintonizable (fuentes sintonizables SS-OCT, Swept Source-OCT) [17]. En el caso de SS-OCT, que se puede observar en la figura 4.14, el detector es un único fotodiodo, pero la fuente barre las longitudes de onda del espectro, de forma que tras la captura se puede reconstruir el espectro. El sistema SD-OCT que se puede observar en la figura 4.13 utiliza una fuente de ancho espectro y un espectrómetro que separa las longitudes de onda en un elemento receptor CCD.

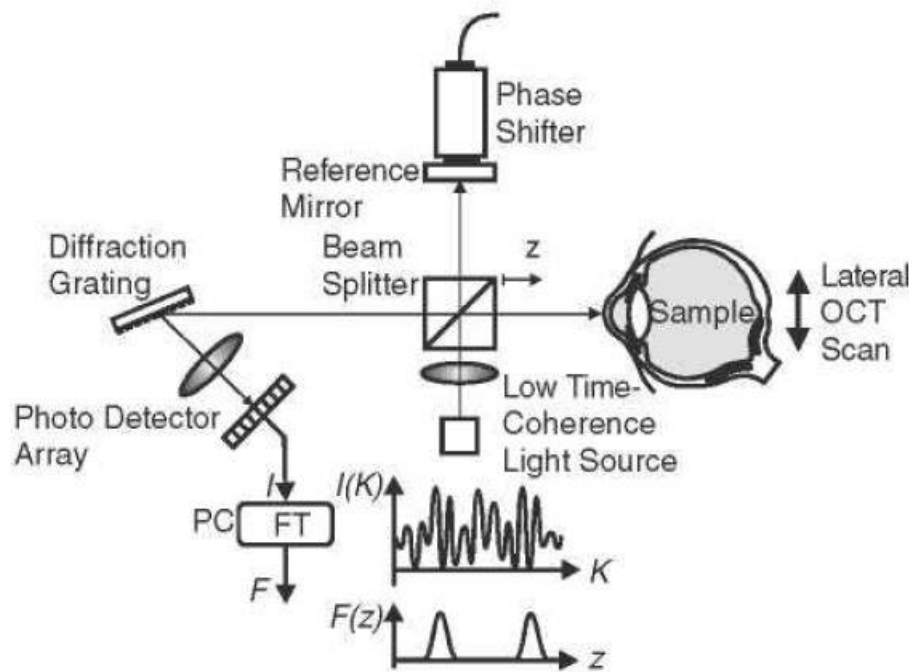


Figura 4.13. Esquema OCT de la técnica de interferometría espectral (SD-OCT). [16]

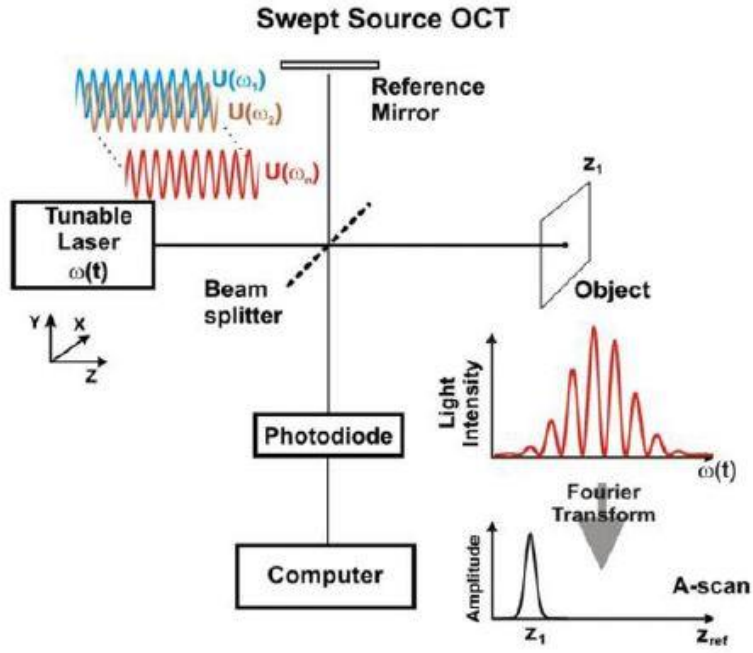


Figura 4.14. Esquema de la técnica con fuente sintonizable SS-OCT. [17]

Con estas configuraciones se captura el espectro correspondiente a la interferencia. Aplicando la transformada inversa de Fourier se puede pasar del dominio frecuencial al dominio temporal, obteniendo así un perfil de reflexiones similar al del caso temporal. El proceso correspondiente a la interferencia se realiza en el dominio frecuencial por lo que la formulación matemática quedaría [16]:

$$X(\omega) = S(\omega) R_r + S(\omega) \sum_n R S_n + 2S(\omega) \sum_n \sqrt{R R S_n} \cos(\omega \tau_n) + 2S(\omega) \sum_{n \neq m} \sqrt{R S_m R S_n} \cos(\omega \tau_{nm}) \quad (20)$$

Donde $S(\omega)$ es el espectro de la fuente y se encuentra también un término debido a la correlación existente entre las reflexiones de cada uno de los elementos que componen el objeto o muestra. En el anterior caso no aparecían ya que eran anulados debido a que la fuente era de baja coherencia. La transformada del espectro de la fuente se trata de la autocorrelación en el tiempo, $\gamma(\tau)$ en el caso anterior. Si se aplica la transformada a toda la expresión se obtendría:

$$S(\omega) \rightarrow R(\tau) = \langle E^*(t) E(t + \tau) \rangle \quad (21)$$

$$I(\tau) = \Gamma(\tau) R_r + \Gamma(\tau) \sum_n R S_n + \sum_n \sqrt{R R S_n} [\Gamma(\tau) \otimes (\tau \pm \tau_n)] + \sum_{n \neq m} \sqrt{R S_m R S_n} [\Gamma(\tau) \otimes (\tau \pm \tau_{nm})] \quad (22)$$

Las reflexiones dentro de la muestra producen unos términos de autocorrelación, que forman el denominado ruido de coherencia. Al realizar la transformada de Fourier se sitúan en torno a la profundidad cero. También aparece un término constante en la profundidad cero debido a la diferencia de longitudes entre los brazos porque en esta técnica no se modifica la longitud del brazo de referencia.

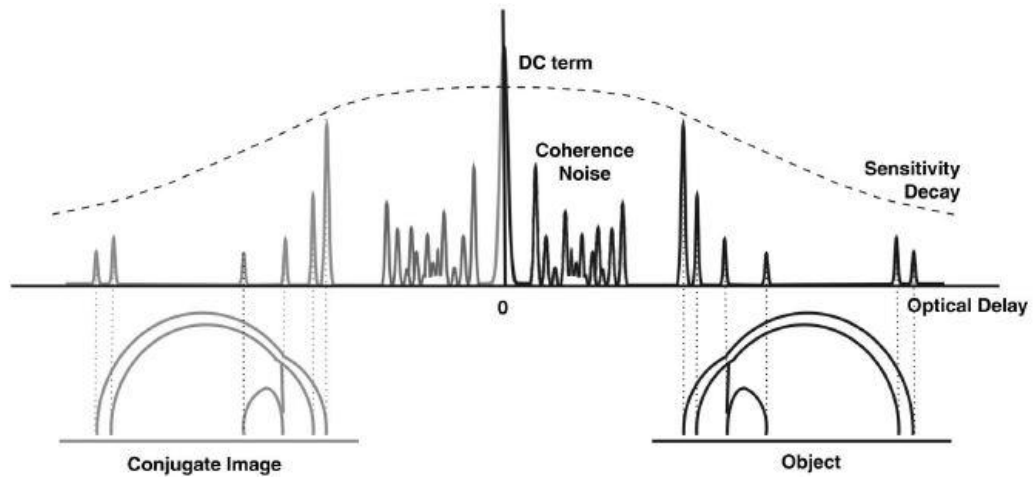


Figura 4.15. Muestra de un A-scan tras haber aplicado la transformada inversa de Fourier a la interferencia. [17]

Una de las ventajas que se deben destacar de SS-OCT es que se pueden utilizar fuentes con pequeño ancho de banda como fuentes láser ya que el ancho de banda necesario se consigue a través del barrido que se realiza. Esto permite utilizar mayor potencia y por lo tanto mejorar la SNR.

En cuanto a la cuantificación del ruido en el dominio frecuencial, éste se ve reducido con respecto a TD-OCT. La expresión para el cálculo de la SNR sería:

$$SNR = SNR_{tiempo} \frac{N}{2} \quad (23)$$

Donde N se trata de un factor que depende de la potencia de cada una de las longitudes de onda.

4.5. Equipo OCT utilizado

En este trabajo se utiliza un equipo OCT comercial de Thorlabs, el modelo OCS1300SS [18]. El equipo está formado por dos módulos (módulo de imagen y fuente), se trata de un equipo de fuente sintonizable (SS-OCT). Dispone de un módulo para realizar medidas de la intensidad de la reflexión y otro para el de polarización PS-OCT. En la figura 4.16 se muestran algunas de las características principales del sistema:

System Specifications		Imaging Specifications	
Optical		2D Cross-Sectional OCT Imaging Capability	
Center Wavelength	1325 nm	Imaging Speed (512 Lines per Frame)	25 fps
Spectral Bandwidth (FWHM)	>100 nm	Maximum Imaging Size	4,000 x 512 Pixels
Axial Scan Rate	16 kHz	Maximum Imaging Width	10 mm
Coherence Length	6.0 mm	Maximum Imaging Depth	3.0 mm
Average Output Power	10 mW	Transverse Resolution	25 μ m
Sensitivity	100 dB	Axial Resolution	12/9 μ m (air/water)
Data Acquisition		3D Volumetric Imaging Capability	
Analog/Digital Conversion Rate	100 MS/s	Maximum Volume Size (L x W x D)	10 x 10 x 3 mm
Analog/Digital Resolution	14 Bit	Maximum Sampling Resolution (L x W x D)	1024 x 1024 x 512 Pixels
Analog/Digital Channels	2	Imaging Time	Approx. 30 sec
Analog Output Rate	1 MS/s	Video Imaging Capability	
Analog Output Resolution	16 Bit	CMOS Sensor	5.78 x 4.19 mm
Analog Output Channels	4	Maximum Resolution	510 x 492 Pixels
		Imaging Speed	20 fps

Figura 4.16. Características del equipo empleado. [18]

Dispone de una resolución transversal de 25 μ m, una resolución axial 12 μ m en aire que sería necesario dividir entre el coeficiente de refracción del medio que se vaya a medir para conocer la resolución real. Trabaja a una longitud de onda de 1325 nm [18] y dispone de una penetración en profundidad de hasta 3 mm. Con este equipo se obtienen capturas B-scan (imágenes en 2 dimensiones) con una configuración de 512x1024 pixeles [18] por imagen (profundidad x lateral) como máximo.

El equipo dispone de una fuente láser sintonizable (SS) utilizando un interferómetro Mach-Zehnder como referencia. Utiliza varios detectores con una configuración balanceada. La Fig 4.17 muestra un sistema basado en fibra que utiliza un acoplador donde se produce la interferencia. Después aparece un DAQ encargado de digitalizar la señal y transferirla al ordenador donde será procesada para después continuar con la siguiente muestra.

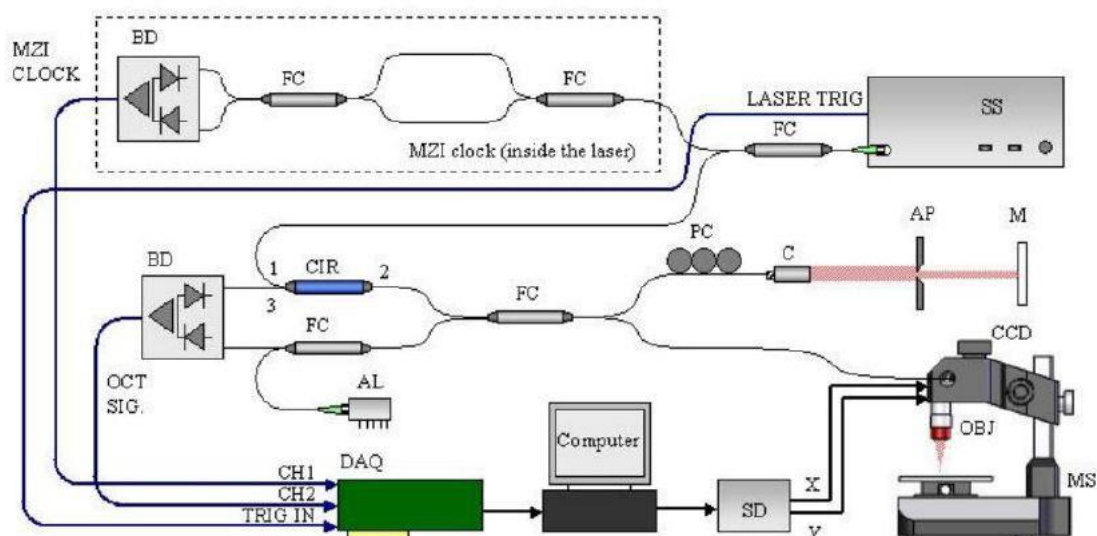


Figura 4.17. Esquema general del equipo OCS1300SS. [18]

4.6. PSF

Una característica importante en los sistemas ópticos se trata del parámetro PSF (*Point Spread Function*). Es necesario tener caracterizado este parámetro para tener un correcto modelado del fenómeno de retroesparcimiento obtenido con un sistema OCT. Para caracterizar la calidad óptica de un sistema se puede tomar como criterio determinar cuán borrosa se vuelve la imagen de un objeto luminoso casi puntual cuando se adquiere con él. Este grado de "emborronamiento" de un simple punto es una medida de la calidad del dispositivo óptico. La imagen tridimensional que se registra de tal fuente puntual se llama función de dispersión del punto (PSF). Un término más general para la PSF es la respuesta del sistema impulsivo, siendo la respuesta impulsiva de un sistema óptico enfocado.

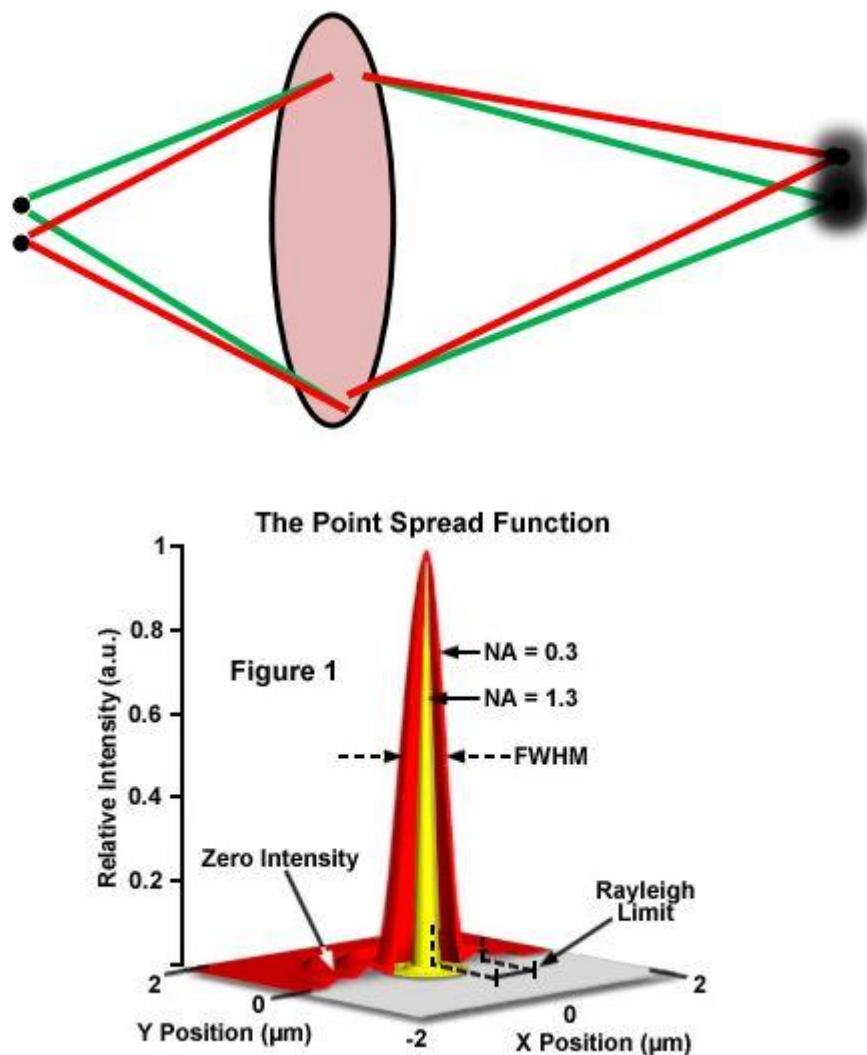


Figura 4.20. El gráfico de arriba muestra el efecto que produce la PSF en dos puntos. Siendo el círculo central la óptica. Se observa como la lente no centra la luz emitida en un sólo punto. La segunda figura muestra una representación 3D de una PSF. [19]

Las ondas de luz convergen e interfieren en el punto focal para producir un patrón de difracción de anillos concéntricos de luz que rodean un disco brillante central, observándolo en el plano xy . El radio del disco es determinado por la NA (apertura numérica de la lente o fibra utilizada, según el caso), por lo tanto el poder de resolución de una lente se puede evaluar midiendo el tamaño del disco Airy (nombre con el que se conoce la distribución de discos). La porción central brillante del disco de Airy y los anillos concéntricos de luz corresponden a picos de intensidad en la distribución.

Es importante destacar la longitud de *Rayleigh* o rango *Rayleigh* (Z_R) que se trata de la distancia a lo largo de la dirección de propagación de un haz desde la cintura hasta el lugar donde se duplica el área de la sección transversal de la óptica. Un parámetro relacionado es el parámetro confocal, b , que es dos veces la longitud de *Rayleigh*.

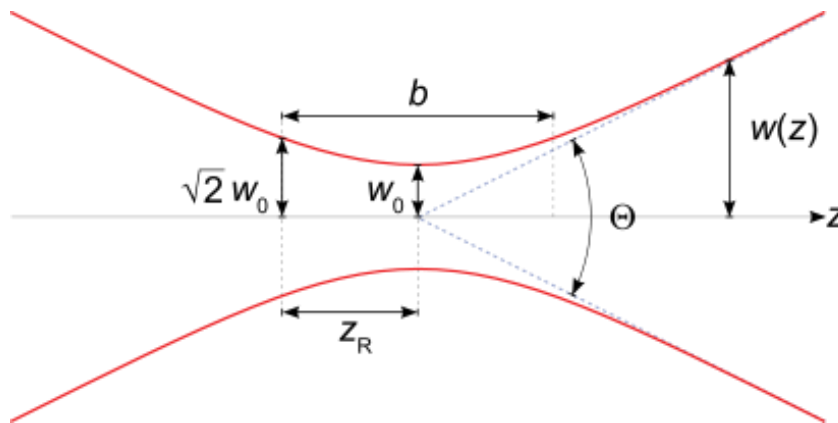


Figura 4.21. Imagen de una lente donde se observa la longitud de Rayleigh Z_R y el parámetro confocal b . [19]

4.7. Preparación de las muestras

Los *phantoms* desarrollados en este trabajo son de tipo matriz líquida por lo que para su preparación se utiliza un recipiente cerrado en su parte superior con una tapa de cristal que permite en gran medida conservar las propiedades de la muestra durante, al menos, el tiempo que dure la medida mediante el sistema OCT.

Para el desarrollo de estas muestras se utilizan cubetas, Fig. 4.22, de tan sólo 0.5 mm de profundidad. Estos 0.5 mm de profundidad permiten obtener las medidas acordes a las propiedades del sistema OCT utilizado (resolución, propiedades ópticas, etc). Se fabrican *phantoms* de tipo líquido:

- Disoluciones de intralipid con agua
- Leche
- Sangre
- Distintos tipos de tintas

La razón por la que se han desarrollado *phantoms* de tipo líquido es porque se utiliza como base el agua ya que es el compuesto químico más común para todos y que se encuentra en la totalidad de los tejidos de los seres vivos.

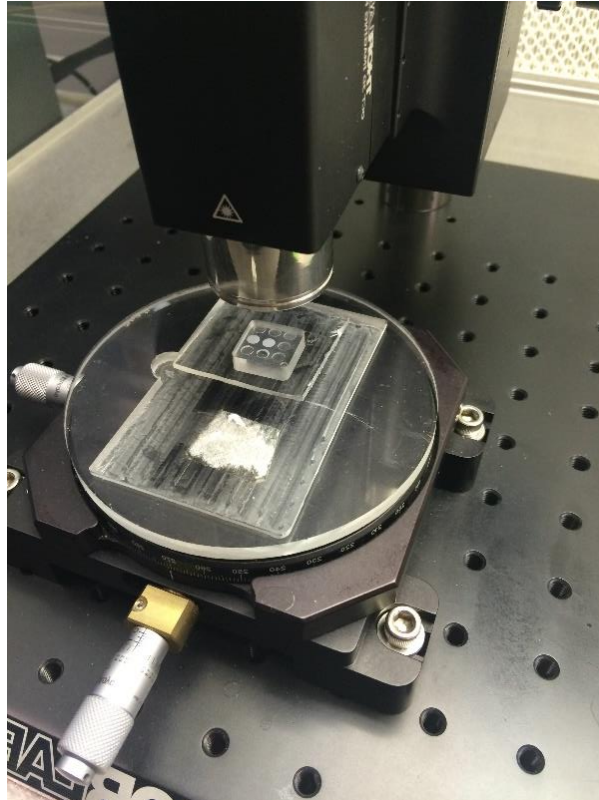


Figura 4.22. Montaje en el momento de medida en el que se observan las cubetas y el cristal que se utilizó como tapa.

El primer tipo de muestras a desarrollar se tratan de muestras de sangre y tintes con el objetivo de realizar medidas de absorción. Después se realizan *phantoms* con base de agua a los que se les introduce intralipid [20], Fig. 4.23, realizando de esta forma mezclas con diferentes concentraciones.

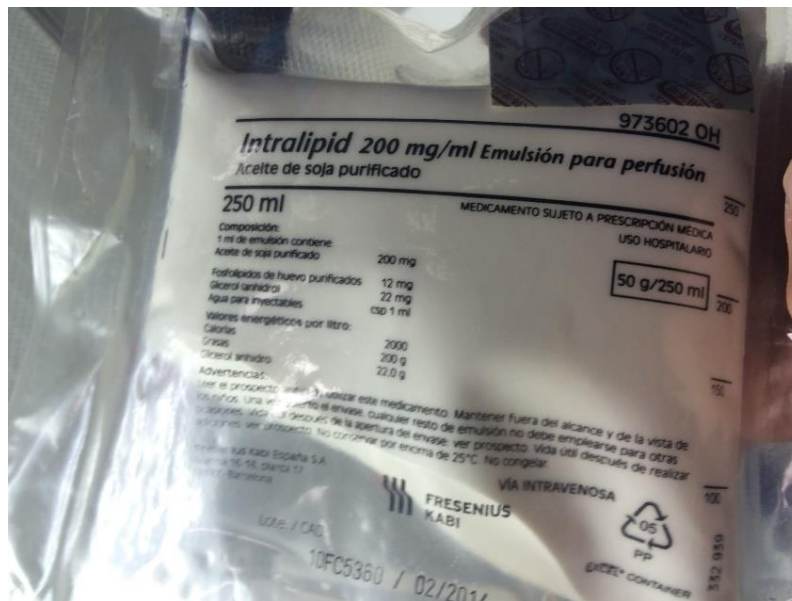


Figura 4.23. Fotografía en la que se observa el intralipid utilizado para las disoluciones. En él, podemos observar su concentración y la composición total de la mezcla.

El *intralipid* [20] se trata de una sustancia (aceite de soja) utilizada en pacientes que necesitan nutrición intravenosa para el aporte de energía y de ácidos grasos esenciales y que no pueden obtenerlos de forma oral. Por lo que se deduce que la gran mayoría de la composición de esta sustancia son ácidos grasos. Como ya se comentó en capítulos anteriores, los materiales grasos introducen efectos de *scattering* sobre la luz por lo que la utilización de este compuesto presupone un valor elevado del coeficiente de atenuación debido a su componente de *scattering* o esparcimiento.

Las concentraciones en las que se realizan medidas son 1.25%, 2.5%, 5%, 10%, 20%. El motivo por el que se han realizado medidas en estas concentraciones es que a partir de aproximadamente el 20% de *intralipid* la medida del coeficiente de atenuación se estabiliza, satura, mostrando diferencias entre cada porcentaje de concentración poco significativas [21].

El segundo tipo de muestras desarrolladas en este trabajo son muestras en las que también utilizamos como base agua pero en este caso se añade leche. En primer lugar se han desarrollado muestras en las que se realizan mezclas con diferentes concentraciones de leche entera como en el caso del *intralipid*. También se han desarrollado muestras en las que la leche supone el 100% de la muestra pero de diferentes tipos de leche (entera, semidesnatada y desnatada) y así, de esta forma cuantificar la cantidad de grasas existentes en estas muestras. La leche utilizada en las medidas se trata de leche de la marca El Buen Pastor.

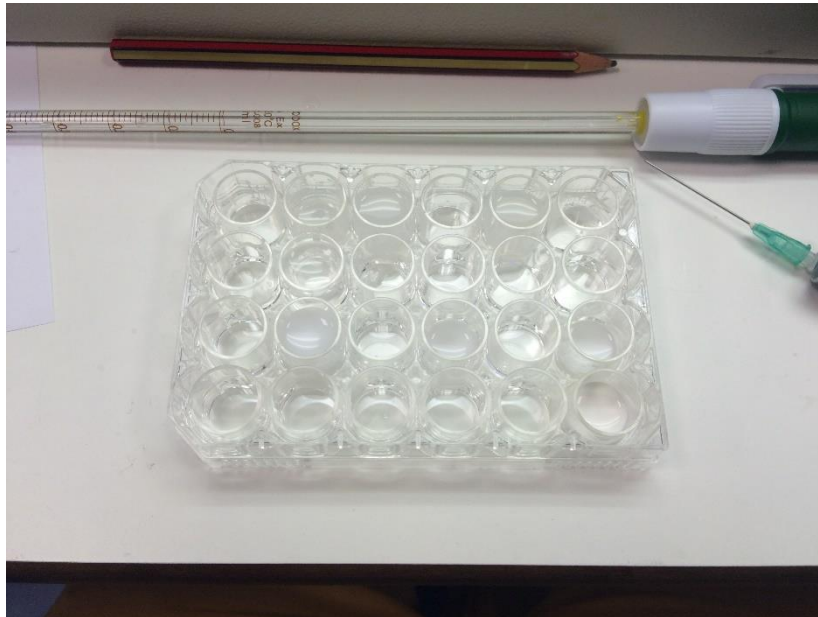


Figura 4.24. Banco de medidas en el que previamente a tomar la medida con OCT se realizaban cada una de las mezclas.

Para cada una de las medidas a realizar a lo largo de todo el trabajo se realizaron 20 mezclas diferentes de la medida requerida. Por ejemplo, si se realiza una medida de *intralipid* al 5%, pues se realiza de forma total 20 veces. De esta forma, es posible analizar posteriormente de forma más clara todos los resultados obtenidos.

4.8. Modelado del retro-esparcimiento

Existen múltiples modelos para explicar el comportamiento de la luz a lo largo de un material o tejidos. Para modelar el camino de la luz a través de las muestras que se desarrollan se utilizarán dos modelados [22]: la ley de Beer-Lambert y el mismo modelo pero modificado por un término que tiene en cuenta el efecto de dispersión que produce la óptica en la salida de la luz debido a la PSF.

4.8.1 Ley de Beer-Lambert

La ley de Beer-Lambert establece que la luz decae de forma exponencial respecto a la distancia. La ley se define mediante la siguiente expresión [22]:

$$I(z) = I_0 e^{-\mu z} \quad (24)$$

Como la técnica OCT recoge la luz reflejada hacia “atrás” o retro-esparcida, *backscattering*, la expresión se puede aproximar por:

$$I(z) = RI_0 e^{-2\mu_t z} \quad (25)$$

donde “*R*” es la reflectividad a lo largo del camino que sigue la luz. Para *phantoms* homogéneos se supone que es espacialmente constante.

Conocido el coeficiente de atenuación total, se podría desglosar el coeficiente de *scattering* y el coeficiente de absorción.

$$\mu_t = \mu_s + \mu_a \quad (26)$$

4.8.2 Modelo Beer-Lambert con corrección de PSF

El segundo modelo que se utiliza para modelar el retro-esparcimiento de la luz parte del mismo modelo anterior aplicándole una corrección que tiene en cuenta el efecto de la PSF del sistema óptico. El modelo se basa en la siguiente expresión [22]:

$$I(z) = R \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{z}{Z_r}\right)^2 + 1}} e^{-\mu_t z} \quad (27)$$

donde Z_r (rango de Rayleigh aparente o longitud de Rayleigh) [19] se trata de una constante conocida según las características del sistema utilizado, se calcula con la siguiente expresión:

$$Z_r = \frac{\alpha \pi n w_0^2}{\lambda} \quad (28)$$

- donde α se trata de una constante que determina el medio utilizado, el valor tomado para los medios líquidos utilizado es de 2;
- w_0^2 es la resolución de la lente que emplea el sistema que se obtiene de la hoja de características fabricante [18] y su valor es de 29 μm y n es el índice de refracción del medio tomando como valor ‘medio’ el del agua.

Una vez introducidos estos valores en la ecuación 28, se obtiene que el valor de Z_r para el sistema OCT empleado es **5.3584**. Este valor de Z_r será el utilizado para el modelado y caracterización de todas las medidas realizadas.

4.9. Técnicas de Procesado

Tras haber realizado la medida con el sistema OCT se obtiene una imagen B-Scan que muestra en el eje vertical la intensidad de las reflexiones en profundidad de la muestra. La medida de A-scan se puede observar en la figura fig. 4.25, representa medidas de intensidad de luz recibida en una dimensión, la dimensión de profundidad. Cuando la luz penetra en un material, la atenuación que sufre sigue una caída exponencial dependiente de dicho material según la ley de Beer-Lambert citada en el anterior apartado y que depende de las características de atenuación de material. Puesto que las muestras presentan diferencias en su estructura y composición, estas diferencias se hacen patentes en el perfil de penetración en cada tipo de muestra.

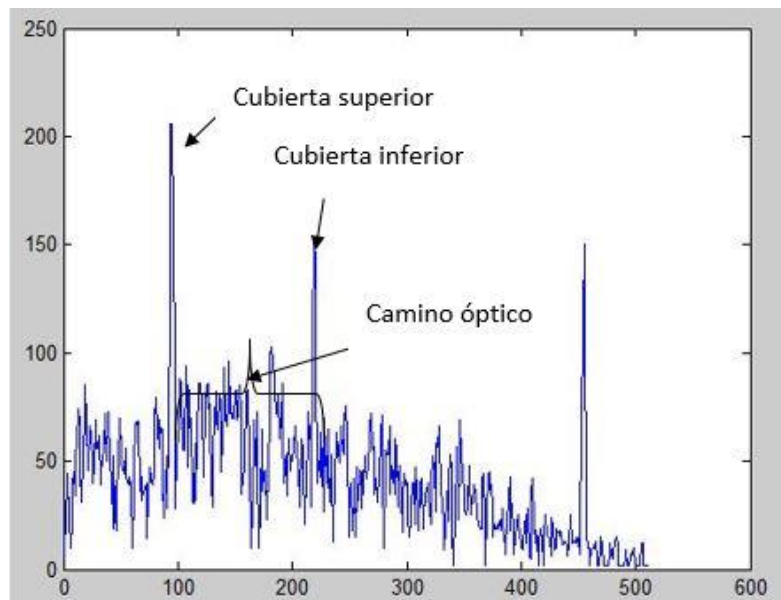


Figura 4.25 Ejemplo de un A-scan de leche entera, en la imagen se puede ver que sobre la cubierta superior del recipiente empleado se produce una gran reflexión al utilizar una tapa y como al final se produce otra gran reflexión relacionada con la superficie inferior del recipiente.

La imagen denominada B-Scan, Fig. 4.26, obtenida con OCT está formada por el conjunto de A-Scans de toda la muestra. Se trata de una imagen con una resolución de 1024x512 píxeles. Para realizar el ajuste se emplea MATLAB y su herramienta CFTOOL [23]. Al introducir la imagen B-scan en MATLAB se obtiene una matriz en la que cada uno de los elementos es una representación del valor de la intensidad de reflexión en los puntos correspondientes a cada uno de los píxeles.

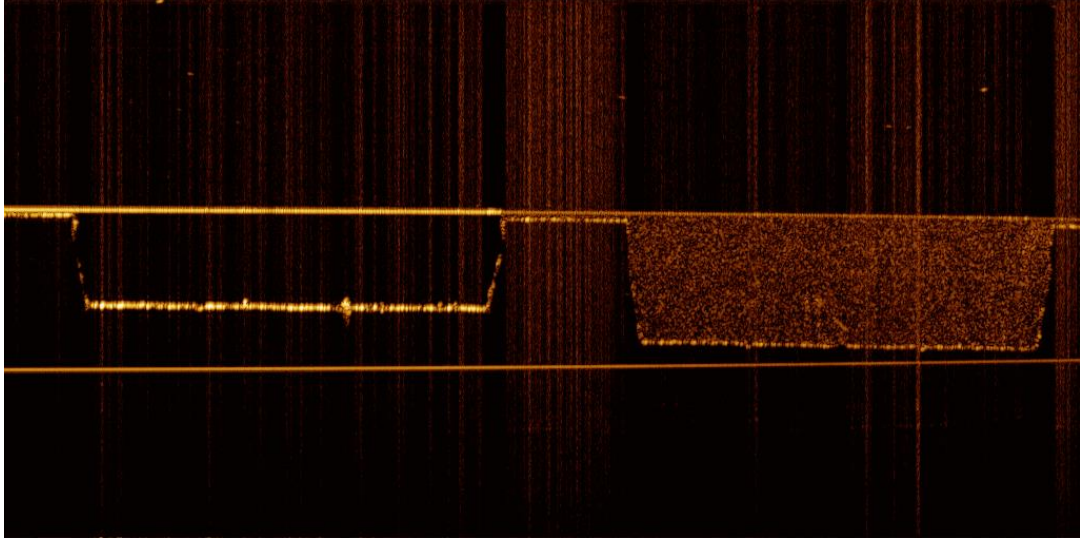


Figura 4.26. Ejemplo de B-Scan de dos cubetas. La cubeta de la izquierda está rellena sólo de aire y la cubeta de la derecha, de la misma profundidad, se trata de una disolución de intralipid con agua al 5%.

Se realizan dos ajustes para cada una de las muestras. La expresión utilizada para los ajustes son las expresiones de los modelos anteriormente citados [22]:

- Ley de Beer-Lambert

$$I(Z) = Ae^{-2Bz} \quad (29)$$

Donde A se trata del parámetro que indica la potencia reflejada que recibe el sistema OCT y B el coeficiente de atenuación total ($\mu_t = \mu_s + \mu_a$) de la luz a lo largo de la muestra.

- Ley Beer-Lambert con corrección de PSF

$$I(z) = A \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{z}{Z_r}\right)^2 + 1}} e^{-Bz} \quad (30)$$

Al igual que en el otro modelo, A se trata del parámetro que indica la potencia reflejada que recibe el sistema OCT y B el coeficiente de atenuación total de la luz a lo largo de la muestra.

Para realizar el ajuste correctamente y obtener el coeficiente de atenuación en milímetros (mm), el eje de profundidad (eje X en nuestro caso) debe tener dimensiones de mm^{-1} . Para ello, se debe conocer a cuántos mm corresponde cada uno de los pixeles de la imagen. Para obtener la resolución que permite obtener el eje de profundidad en mm^{-1} se utiliza la expresión (31):

$$\Delta = \frac{\text{Profundidad_muestra}}{\text{Número_pixeles}} \quad (31)$$

A la hora de aplicar el ajuste, éste se aplica sólo sobre una zona determinada de la imagen B-Scan, que es la zona donde se encuentra la muestra en estudio. Por lo tanto, es importante realizar la selección de esta zona con la mayor precisión posible.

En el código desarrollado se comenzó seleccionando de forma manual cual es la zona en la que se encuentra la cubeta que se tomará como referencia (normalmente se toma como referencia la cubeta situada a la izquierda) y después se selecciona la zona en la que se encuentra la muestra de interés (cubeta de la derecha). En la figura 4.27 se puede observar la selección que se realiza.

Con la selección manual ya realizada se tiene una zona amplia en la que no toda la selección se trata de la muestra que nos interesa, por lo que hay que realizar a continuación otra selección más precisa.

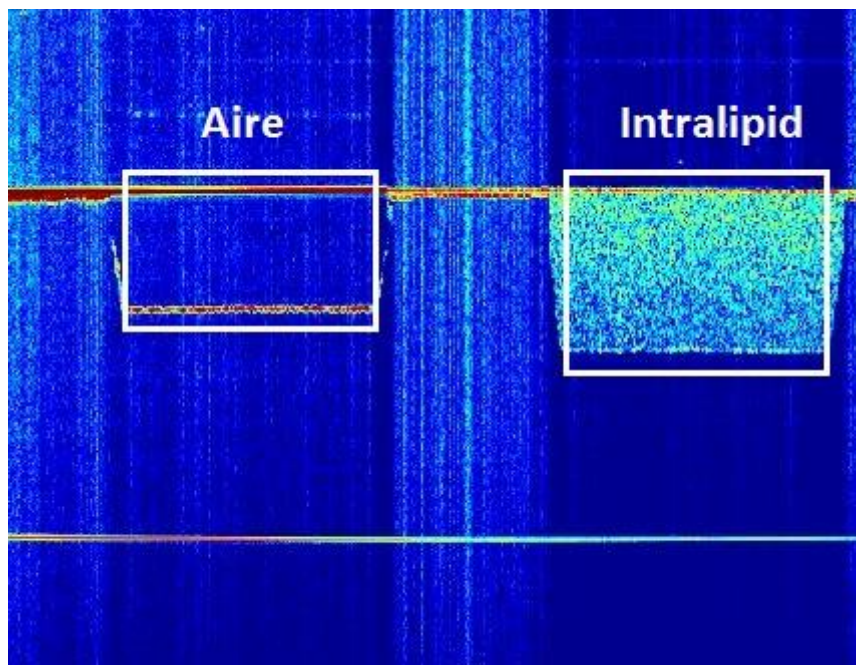


Figura 4.27. Selección manual de la zona del material en cada una de las cubetas

La selección 'horizontal' (ancho de la cubeta) ya está realizada, con la segunda selección se realiza la selección vertical que debe ser muy exacta para introducir el menor error

posible a la hora de realizar el modelado de la radiación retro-esparcida. Para realizar la selección en profundidad de la cubeta de la forma más precisa posible se seleccionan uno por uno cada uno de los A-scan y se mide la longitud (en píxeles) de cada uno de ellos midiendo esta longitud entre los dos “picos” que se pueden observar en la figura 4.28 correspondientes a las reflexiones superiores e inferiores. Pero antes de poder realizar lo anteriormente explicado se tienen que haber detectado estos dos picos de reflexión en las medidas.

Para realizar la detección de picos de la Fig. 4.28, de cada A-scan se utiliza la función ‘Peakdet’ obtenida de la comunidad Mathworks [24]. A esta función se le introduce el A-scan y ella devuelve cuales son los máximos y los mínimos de la función según un umbral que también hay que introducirle. Esta función devuelve todos los picos o ‘crestas’ por encima de umbral dado, por lo tanto, se ajusta el umbral para detectar los dos que nos interesan. Para conocer cuál será este umbral se realizan varias pruebas, por ejemplo, utilizar la media del A-scan como umbral. Con la media se observa que se detectan picos incluso con valores muy bajos por lo que, en principio, habría que buscar otro umbral, se prueba con la desviación estándar. Con la desviación estándar el número de picos detectados es muy inferior aunque todavía alejado de dos. Para obtener cuales serán estos dos máximos se puede eliminar parte del A-scan que no será utilizado para calcular la longitud de estos por lo que se elimina un 30% de píxeles de la zona no utilizable. De esta forma nos aseguramos de tener seleccionada una zona más precisa.

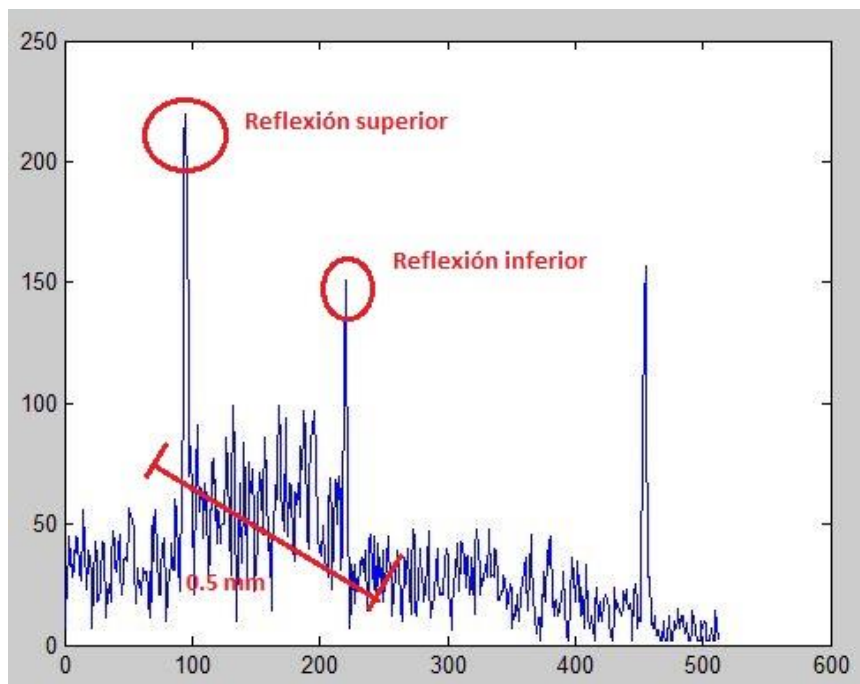


Figura 4.28. Ejemplo de A-scan en el que se indican los picos a detectar para conocer la profundidad exacta de la cubeta.

Con este nuevo A-scan ‘reducido’ será más sencilla la detección de los máximos y una forma de suavizar los picos es realizar la derivada en los puntos seleccionados como se puede observar en la figura 4.29.

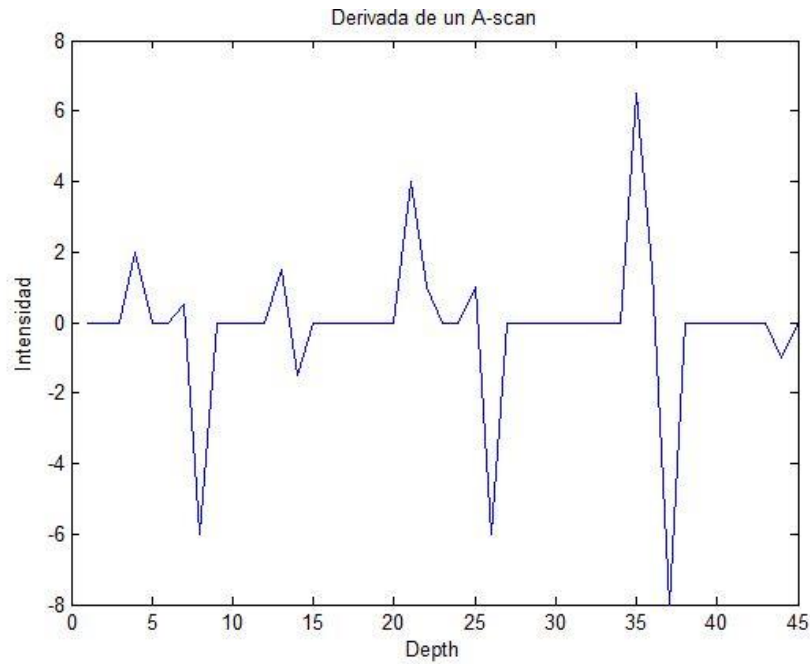


Figura 4.29. Derivada de un A-scan tomando de una muestra de intralipid.

Un vez calculadas las longitudes existentes entre cada uno de los dos picos se realiza un promediado de estas longitudes dando lugar a una longitud en profundidad media que será la utilizada a partir de ahora como referencia para esa muestra.

La profundidad de la muestra observada en el B-scan está relacionada con el índice de refracción, por lo que conocer la profundidad de ésta permitirá conocer también el índice de refracción del medio del que está compuesta la muestra. El procedimiento utilizado, Fig. 4.30, para conocer el índice de refracción de las muestras se basa en la diferencia de profundidad que se produce en el B-scan entre la cubeta de referencia y la cubeta de la muestra debido a la diferencia en la penetración de la luz por el índice de refracción de cada uno de los medios. Se realiza la medida en profundidad de píxeles de las dos y con la siguiente relación se obtendría el índice de refracción de la muestra de interés.

$$n(\text{índice_refracción}) = \frac{\text{Profundidad_muestra}}{\text{Profundidad_referencia}} \quad (32)$$

Donde el índice de refracción calculado se trata del índice de refracción de la muestra de interés. Es importante calcular el índice de refracción ya que el camino óptico de la muestra es diferente según el medio.

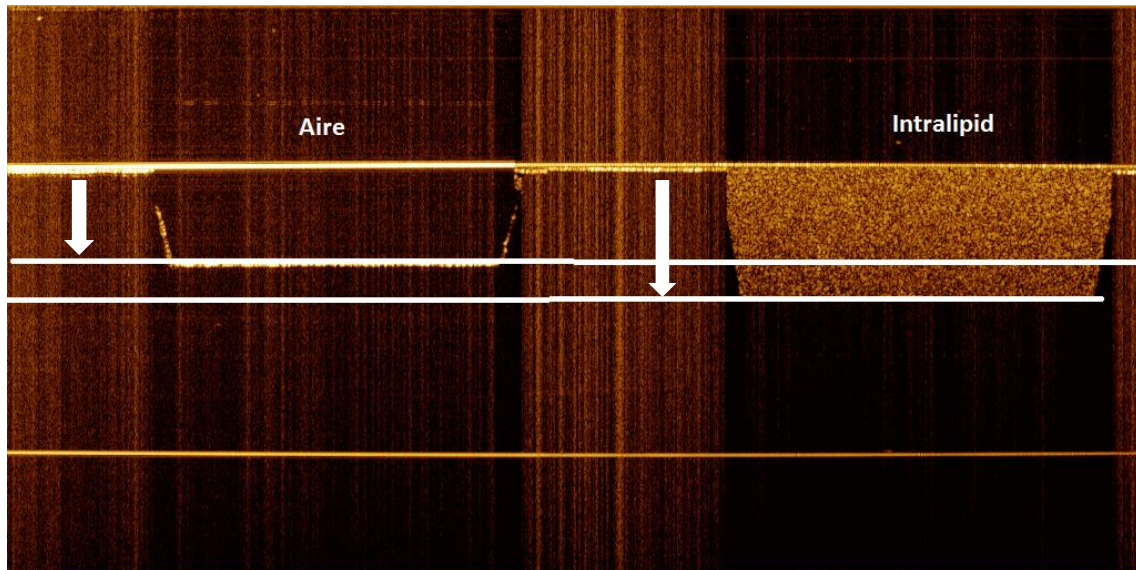


Figura 4.30. B-Scan en el que se observa la diferencia de profundidad que da muestra del índice de refracción.

Para finalizar el procesamiento se realiza un promedio del valor de cada una de las filas, Fig. 4.31, de la matriz procedente de la imagen del B-Scan, obteniendo así un perfil total promedio que se puede observar en la figura 4.32, de la intensidad de las reflexiones de la muestra en profundidad. A esta curva obtenida se le realiza un ajuste a uno de los modelos citados anteriormente y de esta forma se obtienen los valores de A (intensidad de las reflexiones) y del parámetro B (coeficiente de atenuación total) que se corresponde con la pendiente de la curva.

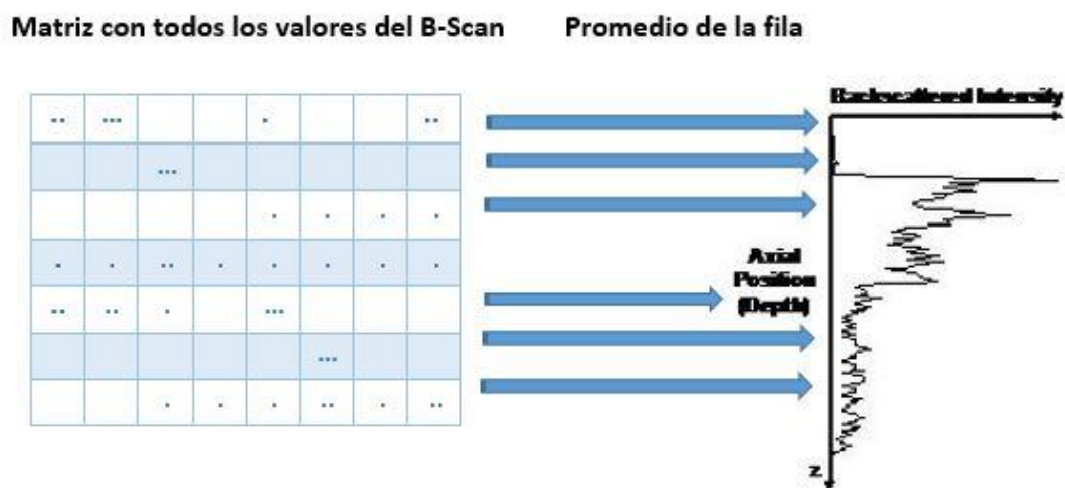


Figura 4.31. En la que se observa la matriz de A-scans que forman un B-scan y cómo se realiza el promedio de cada una de las filas para obtener un perfil promediado.

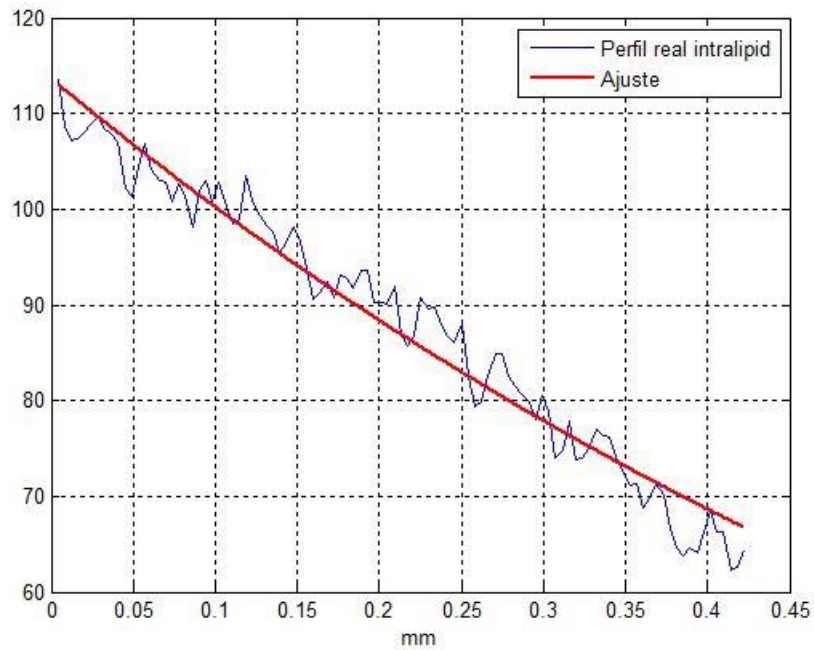


Figura 4.32. Gráfica en la que se muestra el perfil (curva azul) obtenido por el promediado de sus filas al cual se le aplica un ajuste (curva roja) al modelo de Beer-Lambert.

4.10. Simulador de *Scattering* de Mie

La calculadora o simulador del *scattering* de Mie [25] se trata de una aplicación web que se utilizará para realizar de forma aproximada los cálculos teóricos del coeficiente de atenuación para cada una de las medidas que se realizan. Esta aplicación web está basada en un código de Matlab que permite simular las condiciones ópticas que se darían en los diferentes medios introduciéndole unos sencillos datos. Este simulador implementa la teoría de Mie modelando las pequeñas partículas como si fuesen esferas totalmente homogéneas.

Una vez obtenidos los resultados prácticos, se introducen de manera aproximada los datos en esta calculadora obteniendo de esa forma un coeficiente de atenuación que permite saber si los resultados obtenidos se aproximan a lo esperado y, de esa forma, conocer si será necesaria la calibración del sistema.

Mie Scattering Calculator

by [Scott Prah](#)

Just what you've been waiting for! Web based Mie scattering calculations!

Sphere diameter	<input type="text" value="1.0"/>	microns
Wavelength in Vacuum	<input type="text" value="0.6328"/>	microns
Index of Refraction in Medium	<input type="text" value="1.0"/>	
Real Index of Sphere	<input type="text" value="1.5"/>	
Imag Index of Refraction (negative!)	<input type="text" value="0"/>	
Number of angles	<input type="text" value="100"/>	
Concentration	<input type="text" value="0.1"/>	spheres per cubic micron

Calculate

© 2012 [Scott Prah](#)

Figura 4.32. Interfaz de la aplicación web. [25]

Capítulo 5. Resultados

5.1. Introducción

Se desarrolló un algoritmo en MATLAB que implementa todo el procesado de cada una de las muestras de forma totalmente automática y que por lo tanto permite de mejor forma el manejo del número de muestras totales ya que para cada una de las disoluciones se toman 20 medidas.

Las cubetas utilizadas en el proceso de medida son cubetas de 0.5 mm de profundidad junto a las que se ha utilizado una tapa de cristal que permite el paso de la luz y además evita modificar las propiedades de la muestra desarrollada.

Se han realizado varios tipos de medidas:

- Sangre
- Tinta china/tinta tóner
- Tintes textiles
- Disolución de intralipid con agua
- Disolución de leche entera con agua
- Distintos tipos de leches al 100%

Para cada una de las medidas realizadas se ha calculado su coeficiente de atenuación, la potencia de la luz retro-esparcida que obtiene el OCT y el índice de refracción. Las medidas se han realizado en diferentes porcentajes de mezcla y repitiendo para cada porcentaje el proceso de medida completamente.

Con este trabajo se pretende dar medida a las propiedades ópticas de los *phantoms* fabricados y posteriormente se realiza el cálculo teórico de estos para validar las medidas realizadas con el sistema OCT.

5.2. Medidas de Absorción

Para ‘simular’ el efecto de la absorción en los tejidos es necesario construir *phantoms* cuyas propiedades ópticas sean debidas mayoritariamente a fenómenos de absorción. Para ello se fabricaron *phantoms* con materiales que, a priori, tuvieran altos niveles de absorción.

- Medidas de sangre
- Medidas con tinta
- Medidas con tintes textiles

5.2.1 Medidas de Sangre

En las primeras medidas realizadas en el trabajo se utiliza sangre procedente de vacuno. A priori se sabe, Fig. 5.1, que los cromóforos de la sangre son los que producen gran parte de la absorción de los tejidos. Con el procedimiento descrito en el capítulo anterior se calcula el coeficiente de atenuación total formado por los efectos de *scattering* y los efectos que provienen de la absorción pero, al utilizar la sangre sabemos que a priori la mayor parte de este coeficiente provendrá de la absorción.

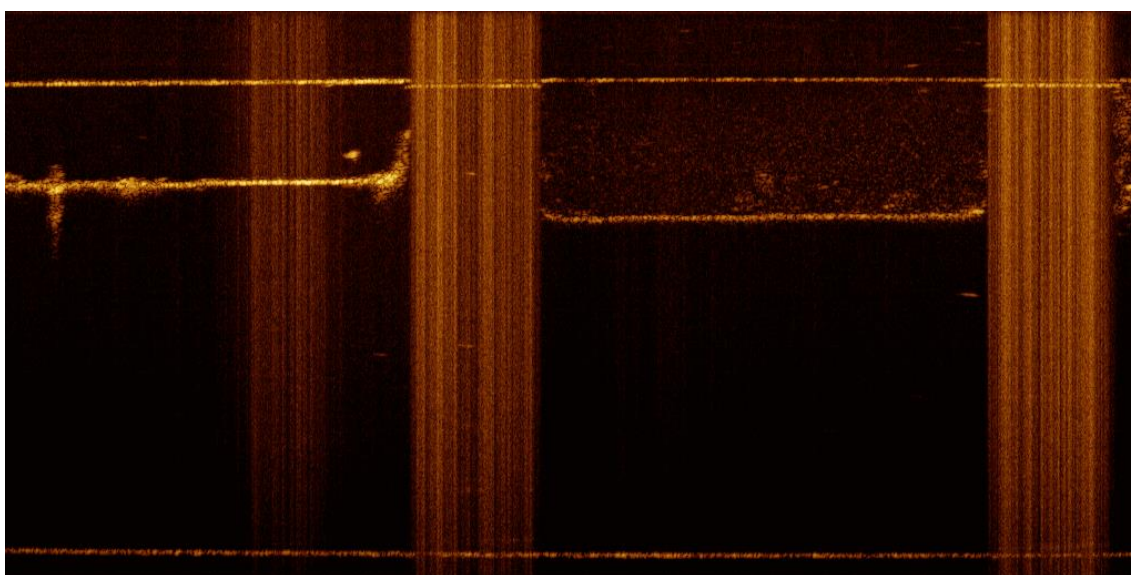


Figura. 5.1. B-Scan de sangre de vacuno. Se observa a simple vista como los valores de intensidad de la imagen de la cubeta de la derecha, donde se encuentra la sangre, son muy bajos.

En la cubeta de la derecha del B-scan de la figura 5.1, que es donde se encuentra la sangre, la intensidad capturada es muy baja. Se realizan más medidas en las que se diluye la sangre en agua y obtenemos de nuevo sus medidas B-scan, Fig. 5.2.

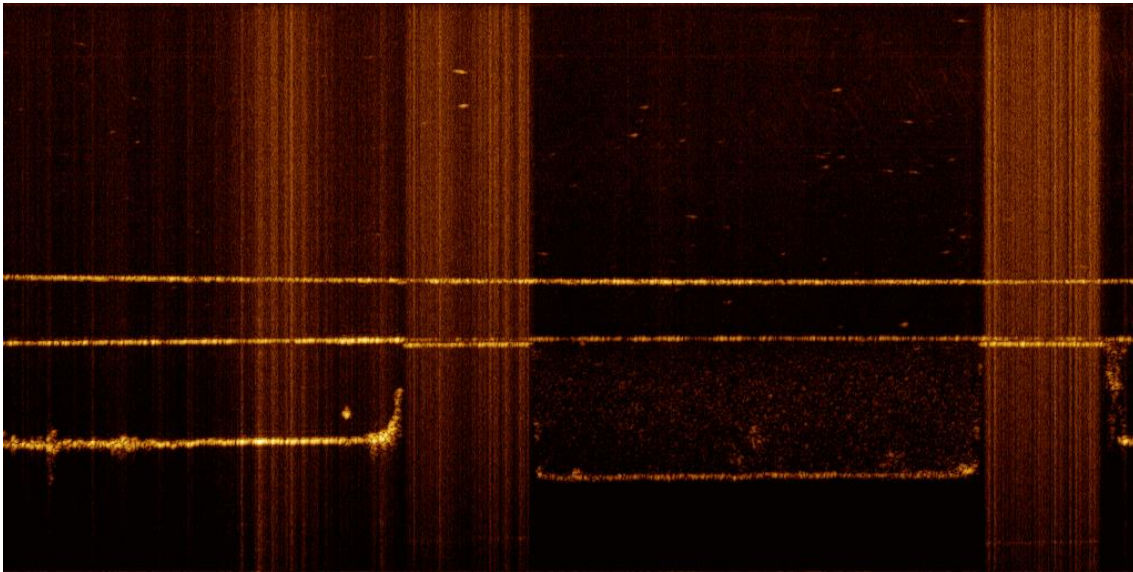


Figura 5.2. B-Scan sangre diluida en agua al 50%.

En este segundo caso, Fig. 5.2, de sangre diluida en agua los valores de intensidad todavía son más inferiores. Se analizan los resultados mediante el modelo Beer-Lambert que se utiliza a lo largo del todo trabajo y se obtiene que su coeficiente de atenuación para el primer caso es de tan solo 0.1591 mm^{-1} y para el caso de la sangre diluida en agua toma valores de 0.1 mm^{-1} . Con estos resultados se llega a la conclusión de que la absorción que se esperaba de la sangre no es tal, probablemente debido a la longitud de onda en la que trabaja el sistema OCT empleado centrada en 1325 nm . En la figura 5.3 se puede ver el régimen espectral del coeficiente de absorción. El sistema OCT trabaja a 1325 nm por lo que se encuentra fuera del rango visible donde sí que existen picos de absorción pero debidos al agua y a la hemoglobina. La absorción de la sangre que se produce en el visible es debida en su mayoría a la hemoglobina [26].

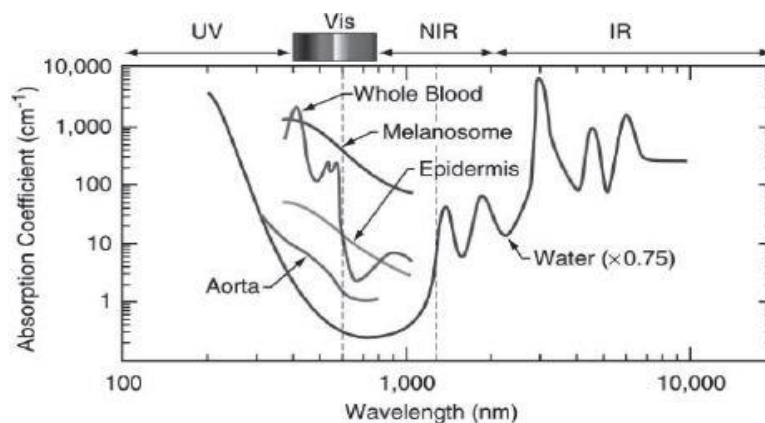


Figura 5.3. El coeficiente de absorción para diferentes componentes biológicos a lo largo del espectro [3].

Se calcula utilizando la relación de la ecuación 32 el índice de refracción de las muestras. El índice de refracción medio para la Sangre al 100% es de $n_{sangre} = 1.394$ y para las muestras diluidas es de $n_{sangre\ diluida} = 1.3848$.

5.2.2 Medidas de Tinta China

En segundo lugar, y como intento adicional para realizar medidas del coeficiente de absorción se utiliza tinta china de la marca Pelikan. Según se comentó en el tercer capítulo, la tinta introduce partículas que a priori producen absorción. Esta tinta se mide tanto al 100% (es decir, el total del *phantom* es tinta china) y en diferentes disoluciones con agua.

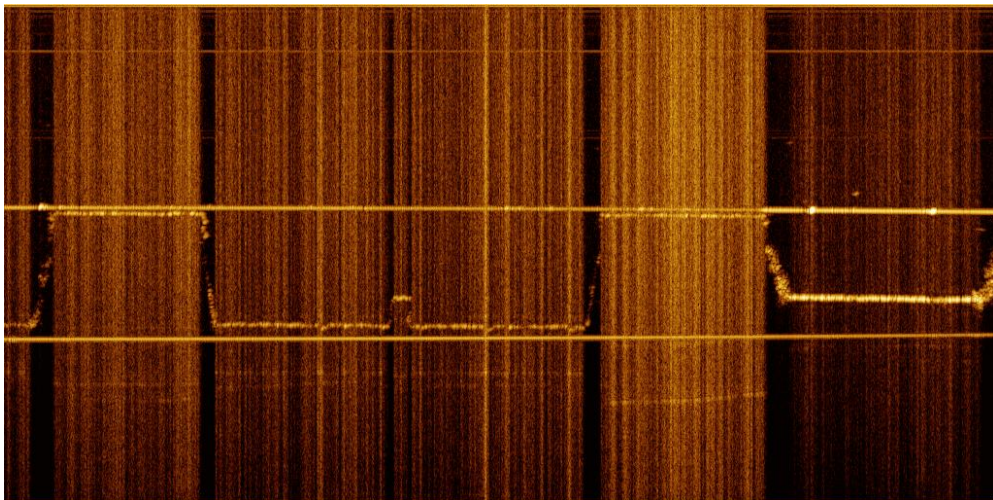


Figura 5.4. B-scan de tinta china Pelikan al 100%.

En la figura 5.4 se observa en la cubeta central como la tinta china es no transparente para nuestro sistema, no deja ningún tipo de ‘huella’ en el B-scan. Para el caso de disoluciones de tinta con agua ocurre exactamente lo mismo como se observa en la figura 5.5.

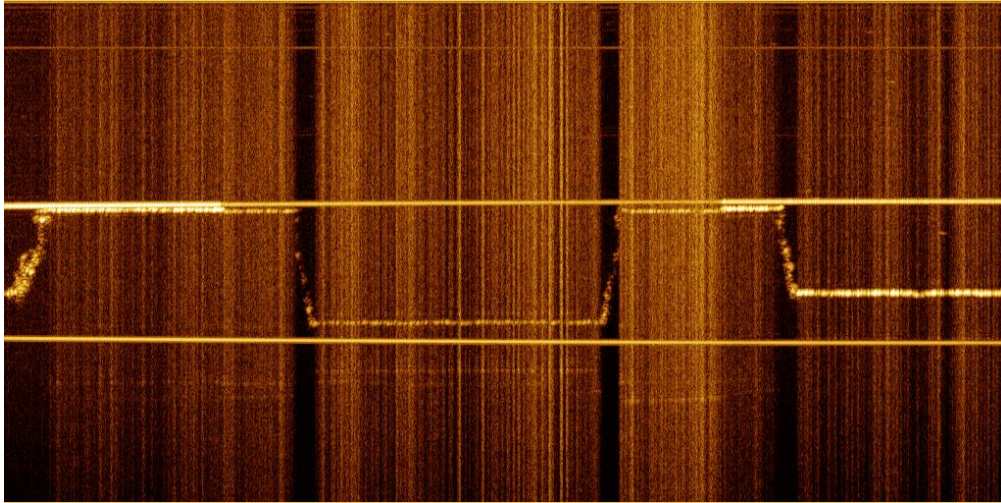


Figura 5.5. B-scan de tinta china en una proporción de 0.1/10 ml.

También se empleó tinta tóner con el que introducir procesos de absorción debido a su composición de cromóforos que son los átomos de las moléculas responsables del color.

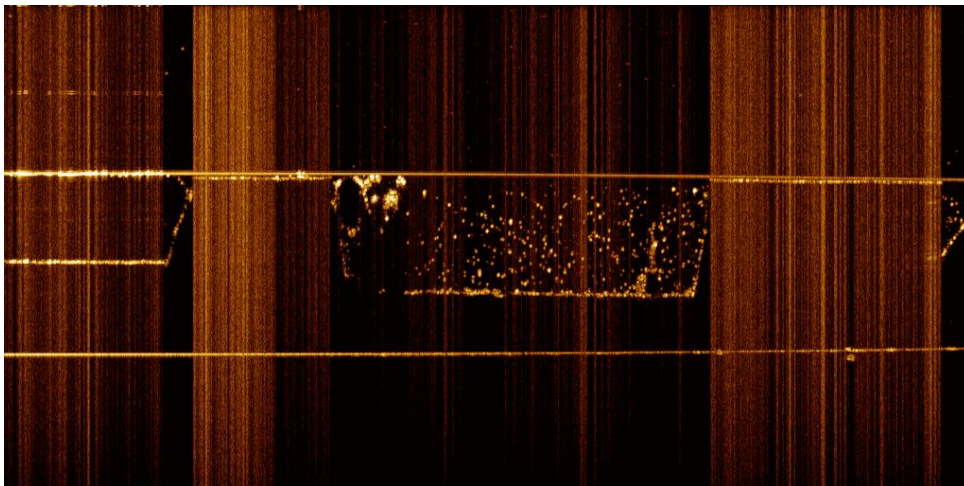


Figura 5.6. Tinta de tóner en una proporción del 100% de la cubeta.

En el caso de la tinta tóner se puede observar en la figura 5.6 como las partículas que componen la tinta decaen rápidamente hacia el fondo de la cubeta por lo que el cálculo del coeficiente de atenuación en esta muestra es inviable debido a que las partículas no se encuentran de forma homogénea a lo largo de la muestra.

5.2.3 Medidas con tintes textiles

Se desarrollan también disoluciones de tintes textiles con agua. Se utiliza tintes textiles comercializados por Textil Santanderina. Los tintes utilizados [27] son de tipo Remazol y son utilizados en tintados de sustratos celulósicos.



Figura 5.7. Muestra del tinte utilizado durante su medida en la báscula.

Se utiliza como disolvente el agua como en los anteriores apartados. Se realizan las medidas con diferentes concentraciones como 0.1/10 ml, 0.2/10 ml, 0.7/10, etc. En la figura 5.8 se puede observar el B-scan obtenido en una muestra de 0.9/10 ml.

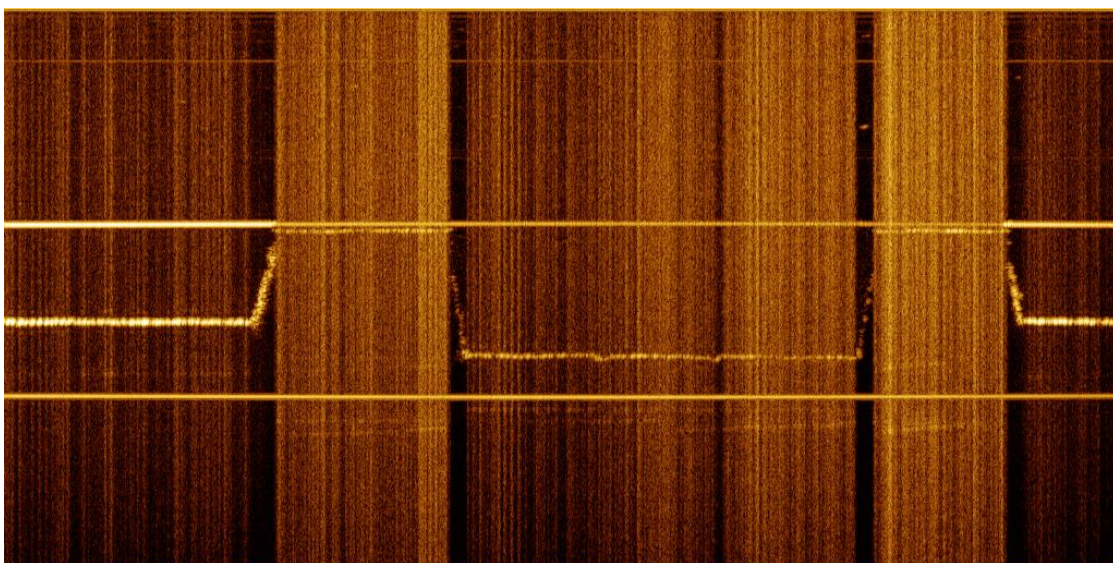


Figura 5.8. Tinte textil en disolución con agua en proporción 0.9/1 ml.

A simple vista se observa en la figura 5.8 cómo, para el sistema OCT utilizado, el tinte no es visible como en el caso de la tinta china.

A modo de conclusión podemos decir que el sistema OCT, debido a su longitud de onda de referencia, es “transparente” para el modelado y caracterización de elementos absorbentes ya que en el caso de la sangre el coeficiente de atenuación calculado es de un valor pequeño y este, es debido a las partículas que se encuentran en suspensión en ella produciendo cierto esparcimiento, y en el caso de las tintas y los tintes textiles para OCT son totalmente transparentes.

5.3. Medidas de *Scattering* o Esparcimiento

5.3.1 Disoluciones de Intralipid en agua

El intralipid se trata de una mezcla utilizada en medicina para pacientes con problemas como falta o problemas en la metabolización de ciertos ácidos grasos. Intralipid se trata del nombre comercial del producto, principalmente el intralipid se trata de aceite de soja y por consiguiente dispondrá de altos niveles de ácidos grasos. A continuación se muestra la composición por ml del intralipid 200 mg utilizado.

- 200 mg de aceite de soja purificado
- 12 de fosfolípidos de huevo
- 22 mg de glicerol
- agua

El proceso de mezcla para fabricar el phantom comienza introduciendo agua como base y añadiendo intralipid hasta tener una mezcla en la que el intralipid fuese el 20%. A partir de esta mezcla se va añadiendo agua para realizar la medida al resto de concentraciones. Se obtiene un B-scan para cada una de las medidas a la que se le realiza todo el proceso explicado en el capítulo anterior. Como se realizan 20 medidas para cada una de las concentraciones (1.25%, 2.5%, 5%, 10%, 20%) se han generado 100 B-Scan para su caracterización.

5.3.1.1 Resultados con Beer-Lambert

En primer lugar se analizan las medidas de intralipid sin utilizar la corrección de PSF a la hora de realizar el ajuste. Se representa el coeficiente de atenuación total para cada una de las concentraciones.

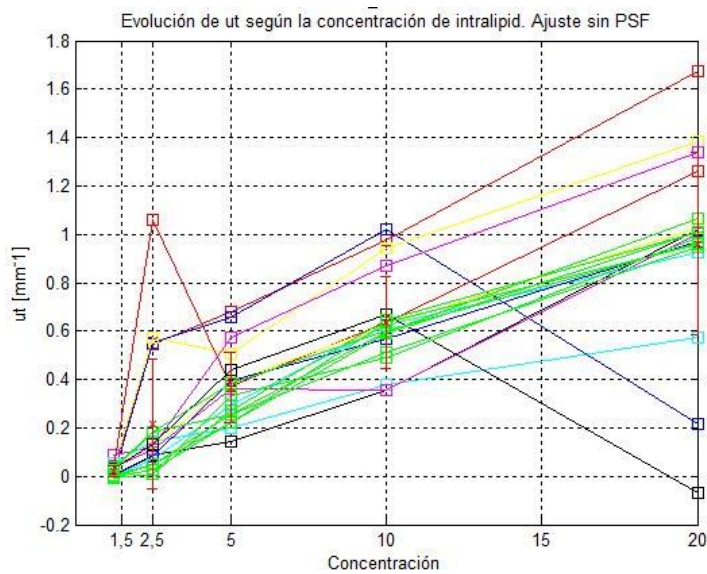


Figura 5.9. Medidas del coeficiente de atenuación del intralipid diluido en agua. Cada curva se corresponde a cada una de las 20 medidas realizadas.

Para poder analizar de una forma más conveniente se calcula la media y la desviación estándar de cada una de las medidas y se representan. Se puede observar en la figura 5.10 cómo el valor del coeficiente de atenuación total (μ_t) evoluciona de una forma muy lineal frente el valor de concentración. Los valores medios obtenidos para la disolución utilizando el ajuste sin corrección de PSF son los siguientes:

- Para 1.25% -> 0.02 mm^{-1}
- Para 2.5% -> 0.24 mm^{-1}
- Para 5% -> 0.37 mm^{-1}
- Para 10% -> 0.63 mm^{-1}
- Para 20% -> 0.97 mm^{-1}

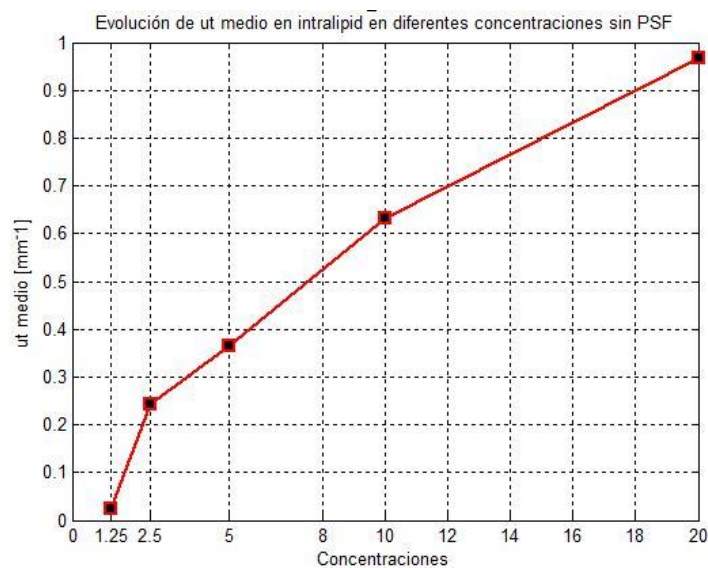


Figura 5.10. Gráfica en la que se muestra el valor medio del coeficiente de atenuación total para cada concentración

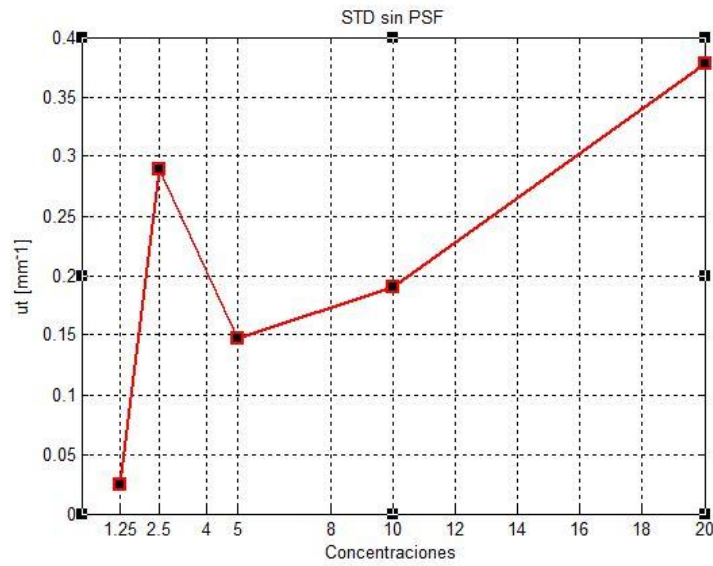


Figura 5.11. Desviación estándar de las medidas de intralipid+agua a diferentes concentraciones.

5.3.1.2 Resultados con PSF

En segundo lugar se analizan los resultados teniendo en cuenta la corrección de la PSF de la óptica del sistema OCT.

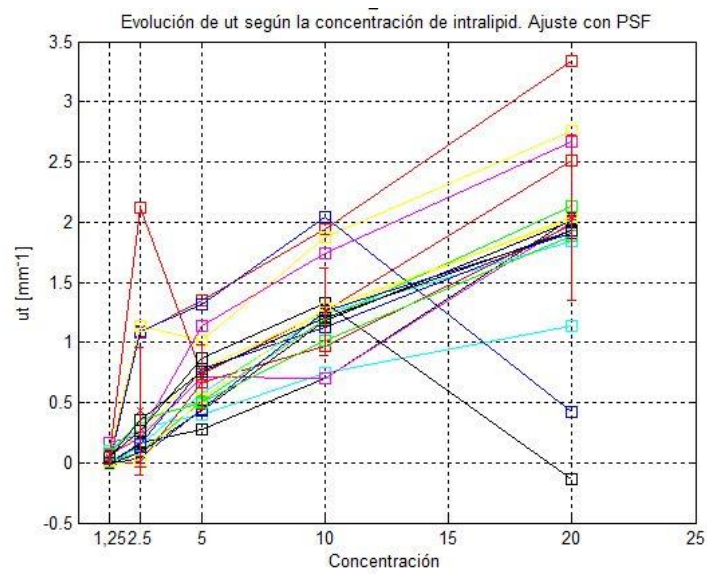


Figura 5.12. Medidas del coeficiente de atenuación del intralipid diluido en agua empleando la corrección de la PSF en el modelado del retro-esparcimiento.

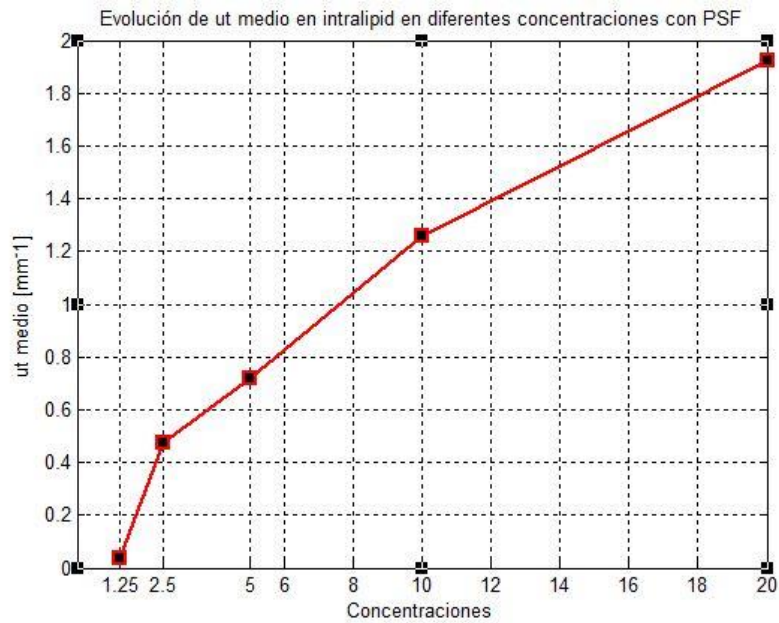


Figura 5.13. Media de los coeficientes de atenuación para diferentes concentraciones con el ajuste de corrección PSF.

Los valores medios obtenidos para intralipid+agua utilizando el modelo de ajuste de PSF son los siguientes:

- Para 1.25% -> 0.039 mm^{-1}
- Para 2.5% -> 0.48 mm^{-1}
- Para 5% -> 0.7205 mm^{-1}
- Para 10% -> 1.259 mm^{-1}
- Para 20% -> 1.927 mm^{-1}

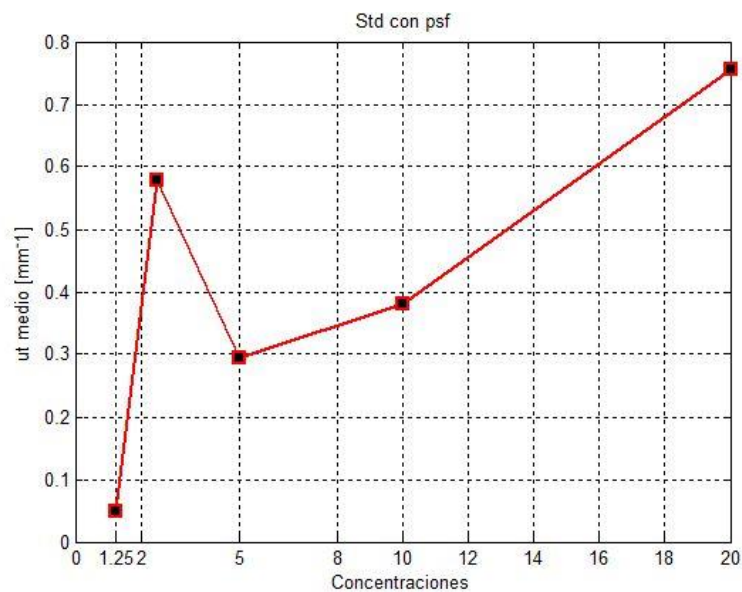


Figura 5.14. Desviación estándar de los valores medidos con el segundo modelo.

Al introducir el ajuste con la corrección de PSF los valores aumentan por un factor cercano a dos para todas las medidas. Para poder obtener una visión más concreta de la diferencia entre los dos modelos utilizados para el ajuste se representan en la figura 5.15 de forma conjunta las dos curvas del coeficiente de atenuación total medio de cada una de las medidas.

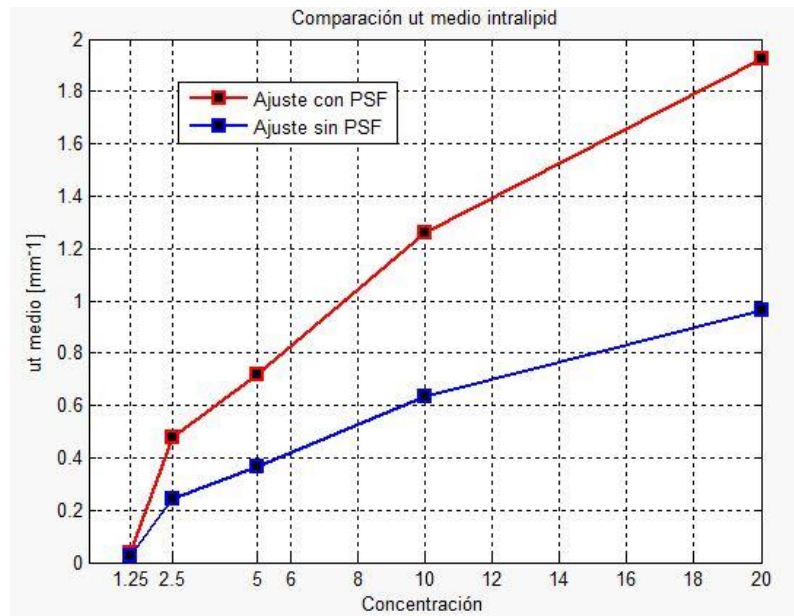


Figura 5.15. Representación de las dos curvas de coeficiente de atenuación medio.

Como era de esperar, el intralipid está constituido de ácidos grasos que hacen que exista *scattering*, al diluirlo en agua esta cantidad de grasas es más reducida. La relación de materiales grasos (coeficiente de atenuación)-concentración se observa que es casi lineal al menos para porcentajes inferiores al 20%.

5.3.1.3 Índice de refracción medio

Además del coeficiente de atenuación total también es posible medir el índice de refracción de cada una de las muestras. Para realizar este cálculo se utiliza la relación 32. Se representa también el valor medio de índice de refracción para cada una de las concentraciones de las que se han realizado medidas.

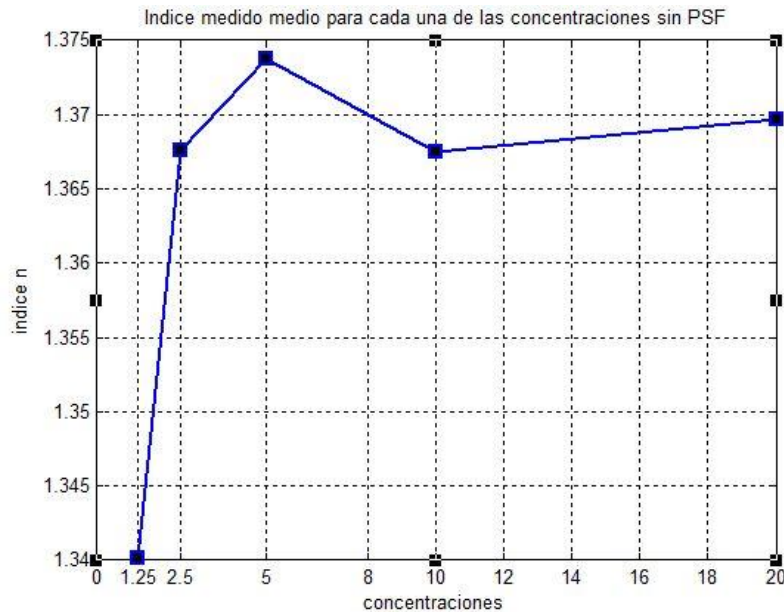


Figura 5.16. Gráfica que muestra la media del índice de refracción para cada concentración.

La variación existente en la media de los índices medidos es como máximo de 0.3725, los índices medidos varían entre 1.34 para la concentración de 1.25 y 1.37 para 20%.

5.3.1.4 Comparación y validación con el Simulador de Mie

Se utiliza el simulador de Mie como modo de comprobación de que los resultados obtenidos se encuentran en un rango 'teórico de medida' y para conocer a priori la calibración necesaria en un sistema OCT. El simulador utilizado se trata también de una aproximación ya que utiliza una teoría basada en esferas homogéneas para el cálculo del coeficiente de atenuación por lo que estos cálculos son algo 'ideales'.

Los datos necesarios para utilizar esta herramienta son:

1. Diámetro de las partículas que componen el material utilizado como *scatterer* (se modelan como esferas), en nuestro caso el intralipid.
2. Longitud de onda fuera de la muestra.
3. Índice de refracción en el medio, en nuestro caso agua.
4. Parte real e imaginaria del índice de las partículas del *scatterer* (esfera)
5. Concentración de *scatterer* vs medio. En el caso del trabajo es la concentración de intralipid vs agua medido en $\text{esferas}/\mu\text{m}^3$

Se calcula el coeficiente de *scattering* para cada una de las concentraciones, es decir, para 1.25%, 2.5%, 5%, 10% y 20%. Por lo que el parámetro que modificamos es el de la concentración de scatterer vs medio. En el capítulo 3 se describen los materiales que se pueden utilizar como *scatterers* en *phantoms* en el caso de estudio es el intralípid por lo que el efecto del esparcimiento es mucho mayor al de absorción por lo que se considera la absorción como despreciable.

$$\mu_t \cong \mu_s \quad (33)$$

En primer lugar es necesario conocer cuál es el diámetro de las partículas de intralípid. Este se compone en su gran mayoría de aceite de soja, según [28] el valor medio del diámetro de las partículas de este componente es de 400 nm a 600 nm. Para el campo de la concentración, se calcula el volumen de una de las esferas y dividiendo el volumen total de disolución en la cubeta entre el volumen de cada esfera es posible calcular el número de esferas por μm^3 . Tomamos como valor medio de diámetro 500 nm y así podemos conocer el volumen medio de la esfera. Como valor del índice del medio se toma el índice de refracción del agua (1.35) y de las esferas se toma como índice medio 1.37.

El resultado obtenido de la calculadora de *scattering* se trata de un informe en el que se muestra la longitud de onda del medio, la eficiencia de *scattering*, la sección de *scattering*, el coeficiente de *scattering* y el coeficiente de atenuación total que en el caso de estudio será aproximadamente el mismo que el coeficiente de *scattering*. Este simulador no tiene en cuenta el efecto de dispersión que se produce por la óptica por lo que los resultados se comparan con los modelados sin corrección de PSF.

Se muestran los resultados comparándolos con los obtenidos en el trabajo con OCT:

Concentración [%]	μt OCT [mm^{-1}]	μt simulador [mm^{-1}]
1.25 %	0.02	0.12
2.5 %	0.24	0.36
5 %	0.37	0.48
10 %	0.63	0.87
20 %	0.97	1.1

Figura 5.17. Tabla que muestra las diferencias entre los valores obtenidos con OCT y los obtenidos con el simulador.

Se representan en la figura 5.18 los valores obtenidos con el OCT ajustados tanto con corrección como sin corrección PSF y las medidas obtenidas mediante el simulador de *scattering* de Mie.

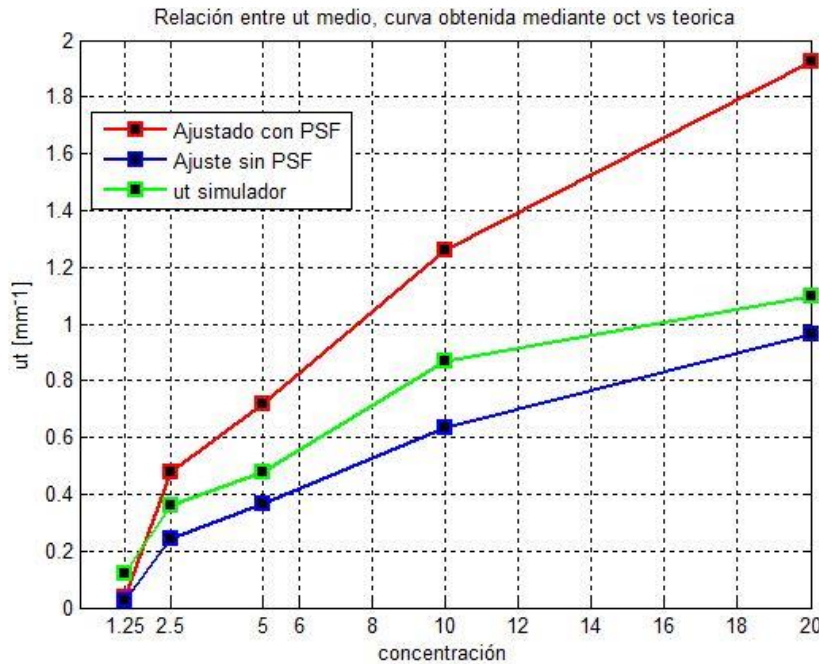


Figura 5.18. Coeficiente de espesamiento en intralipid diluido en agua: (rojo) curva del coeficiente de atenuación con el ajuste con corrección de PSF; (azul) sin corrección; (verde) valores esperados procedentes del simulador.

En el caso de los valores procedentes de la simulación no se tratan del coeficiente de atenuación total como tal ya que con esta simulación calculamos solo el coeficiente de *scattering* por lo que faltaría la componente de absorción que no hemos podido cuantificar a 1325 nm y que como se puede observar introduce una variación entre las medidas y el valor esperado, además de la propia variación que introduce el sistema de medida.

5.3.2 Disoluciones de Leche+Agua

La utilización de la leche entera es debido a que está es la que dispone de más partículas grasas por lo que es un buen modelo para simular efectos de espesamiento. La marca de leche utilizada para las medidas se trata de 'El Buen Pastor'.

Para ello se comienza la mezcla con leche entera a la que se le añade agua obteniendo mezclas con diferentes concentraciones. Las concentraciones utilizadas son 20%, 10%, 5%, 2.5% y 1.25% al igual que en caso del intralipid. Como se realizan 20 medidas para cada una de las concentraciones (1.25%, 2.5%, 5%, 10%, 20%) obtenemos 100 B-Scan para analizar.

5.3.2.1 Resultados con Beer-Lambert

En primer lugar se ajustan las medidas al modelo que no realiza la corrección del efecto de dispersión (PSF). A continuación se muestran el total de curvas correspondientes a cada una de las curvas.

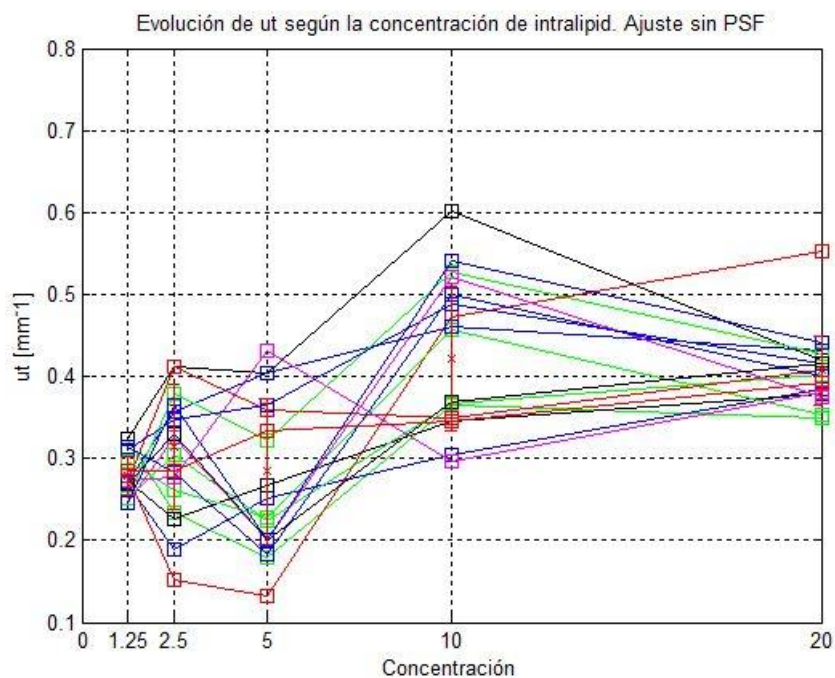


Figura 5.19. Coeficiente de esparcimiento de leche entera en distintas disoluciones en agua.

A continuación se calcula la media y la desviación de todas estas medidas y de esta forma poder obtener un análisis de los resultados de forma más clara.

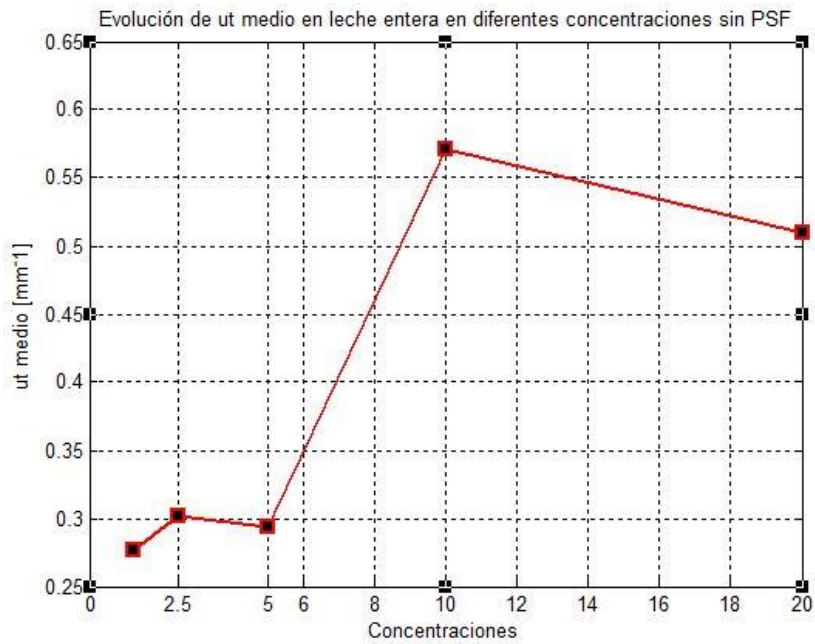


Figura 5.20. Coeficiente de atenuación medio para cada concentración de leche.

Los valores obtenidos para cada concentración son los siguientes:

- Para 1.25% -> 0.2768 mm^{-1}
- Para 2.5% -> 0.3022 mm^{-1}
- Para 5% -> 0.2935 mm^{-1}
- Para 10% -> 0.57 mm^{-1}
- Para 20% -> 0.5097 mm^{-1}

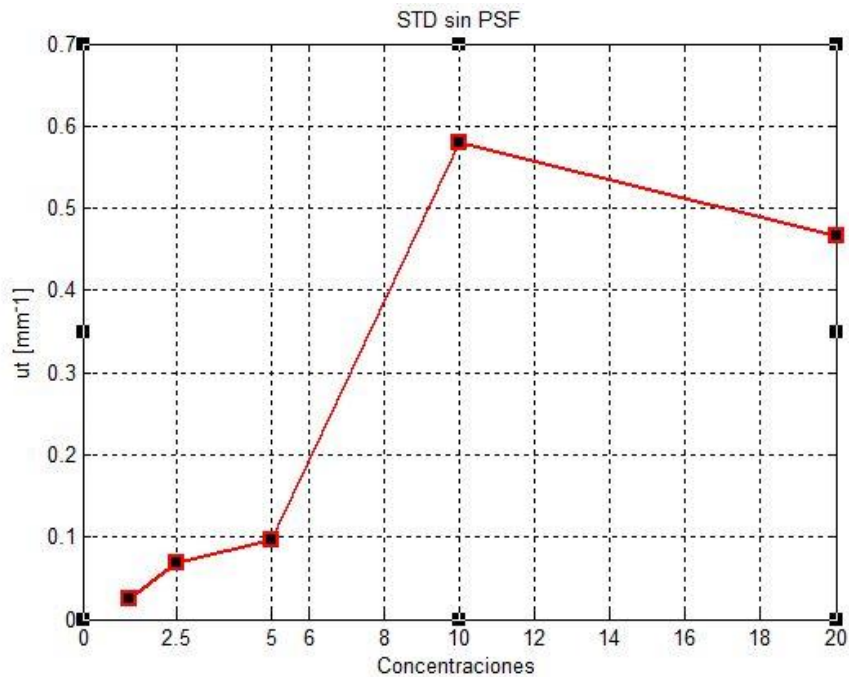


Figura 5.21. Desviación estándar con el modelo sin PSF.

5.3.2.2 Resultados con PSF

En segundo lugar se analizan los resultados realizando la corrección del efecto introducido por la PSF:

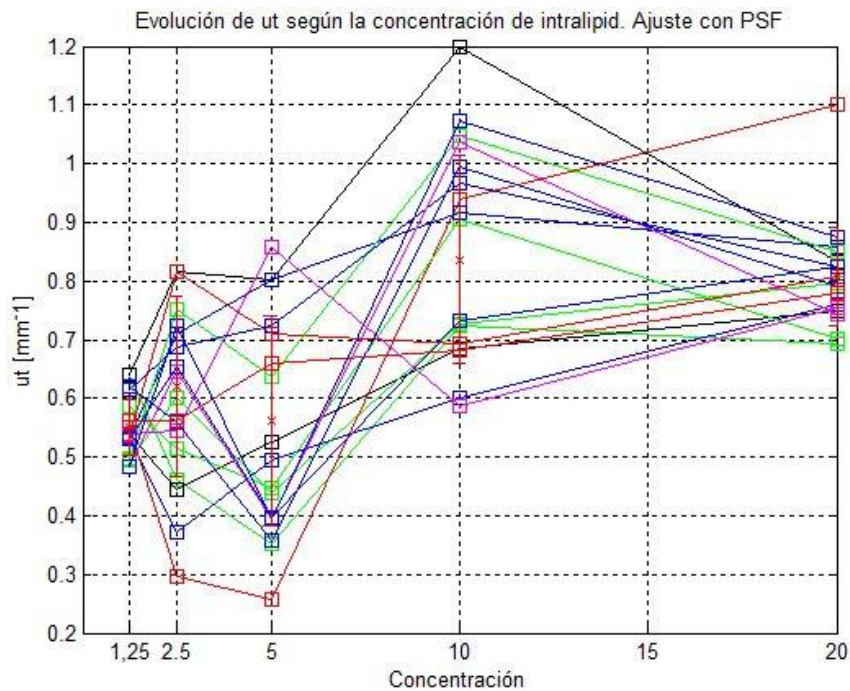


Figura 5.22. Coeficiente de espacimiento de leche entera en distintas disoluciones en agua considerando el efecto de la óptica a través de la PSF.

También para este caso se realiza el cálculo de la media y de la desviación estándar de las medidas. Los resultados medios del coeficiente de atenuación son los siguientes

- Para 1.25% -> 0.5464 mm^{-1}
- Para 2.5% -> 0.5973 mm^{-1}
- Para 5% -> 0.58 mm^{-1}
- Para 10% -> 1.134 mm^{-1}
- Para 20% -> 1.013 mm^{-1}

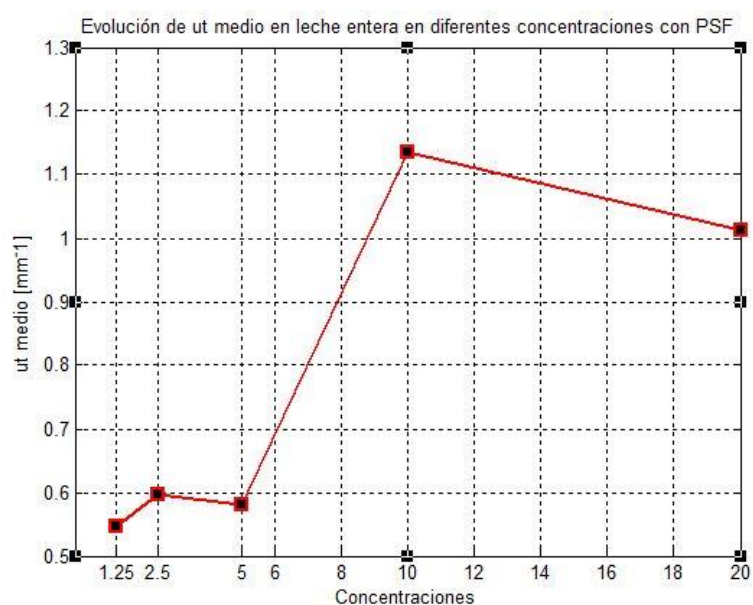


Figura 5.23. Media del coeficiente de atenuación con el modelo con PSF.

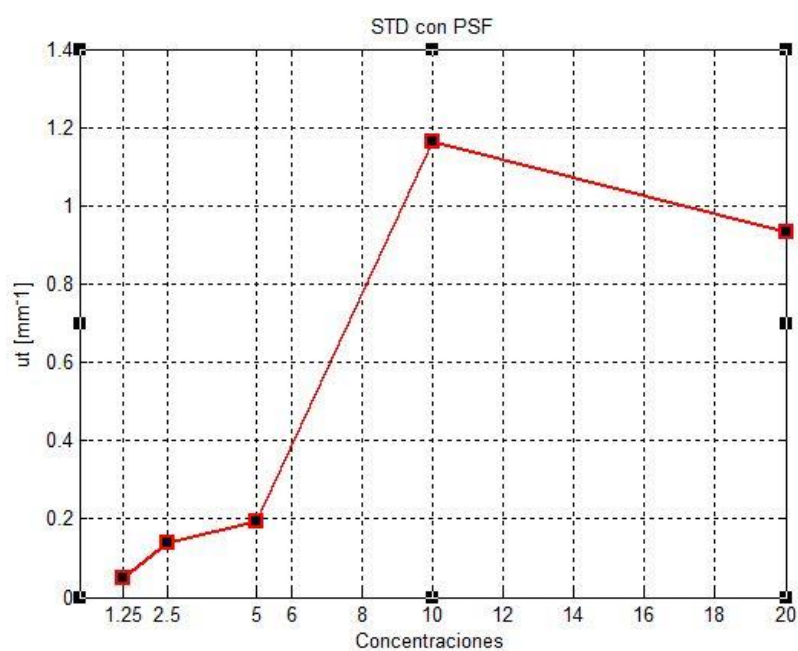


Figura 5.24. Desviación estándar de los datos con el segundo modelo.

Al introducir el ajuste con el modelo con corrección de la PSF los valores aumentan por un factor cercano a dos para todas las medidas. Para poder obtener una visión más concreta de la diferencia entre los dos modelos utilizados para el ajuste se representan en la siguiente figura de forma conjunta las dos curvas del coeficiente de atenuación total medio de cada una de las medidas.

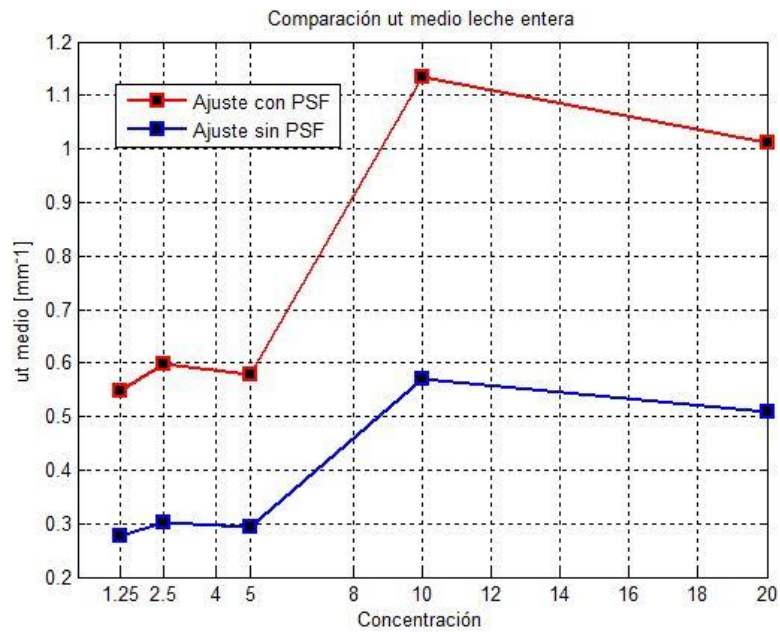


Figura 5.25. Coeficiente de atenuación medio con corrección de PSF y sin ella. Se observa como Z_R introduce un factor cercano al doble.

5.3.2.3 Índice de refracción medio

Se representa en la siguiente figura también el valor medio de índice de refracción para cada una de las concentraciones de las que se han realizado medidas.

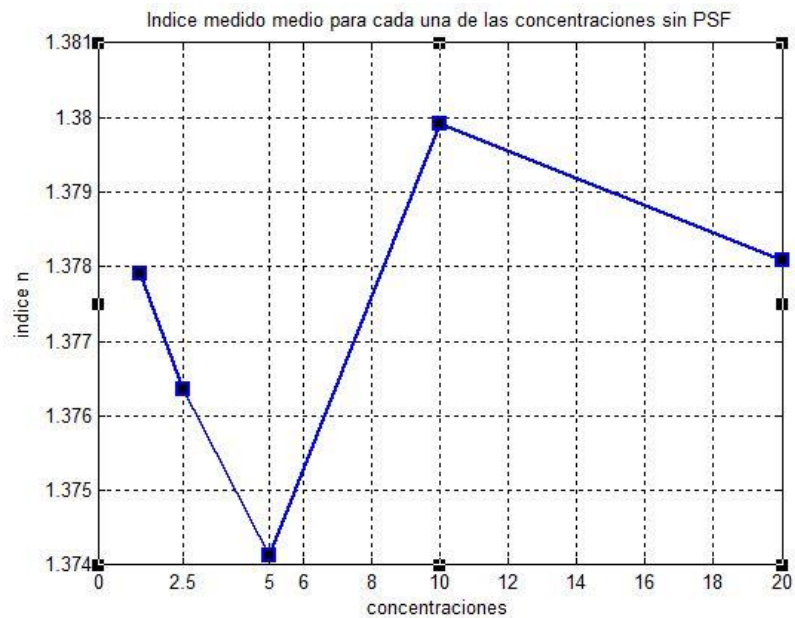


Figura 5.26. Gráfica en la que se observa la media del índice de refracción según la concentración.

Los valores del coeficiente de atenuación fluctúan en 0.004. El valor mínimo es de 1.374 y el máximo de 1.379.

5.4. Medidas de diferentes tipos de leche al 100%

En este apartado se realiza la medida del coeficiente de atenuación y del índice de refracción de muestras leche entera, semidesnatada y desnatada.

5.4.1 Modelo Beer-Lambert

Estos resultados se ajustan al primer modelo explicado en el que no se tiene en cuenta la dispersión (PSF). Se realiza en primer lugar el cálculo del coeficiente de atenuación total de 20 medidas para cada tipo de leche. En la figura 5.27 se han dibujado boxplot para cada tipo de leche que muestra su mediana y el rango en el que se encuentran las medidas.

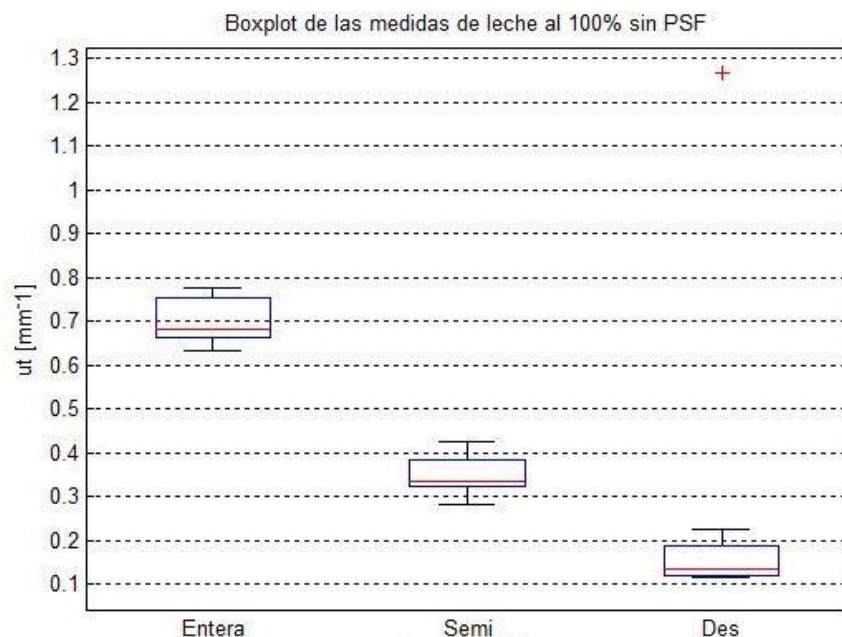


Figura 5.27. Representación de los valores que toma el coeficiente de atenuación total para cada una de los tipos de leche. Se ha utilizado como representación los *boxplot*. Estos se tratan de una representación en cajas que representan los estadísticos de cada parámetro.

Se ha utilizado como representación los *boxplot*, son una representación en cajas de los estadísticos de cada uno de los tipos de leche. Estos suministran información sobre los

valores mínimo y máximo, los cuartiles, mediana y sobre la existencia de valores atípicos y la simetría de la distribución. El valor en rojo representa la mediana, la franja negra superior e inferior representan sus valores máximos/minimos y en azul el 25% y 75% de las medidas.

A priori, la leche desnatada dispone de menos sustancias grasas por lo que la concentración de elementos que producen efectos de scattering será inferior. Como se observa en la figura 5.27 el coeficiente de atenuación disminuye correspondiendo según el tipo de leche.

Sus valores medios son los siguientes:

- Leche entera $\rightarrow 0.72 \text{ mm}^{-1}$
- Leche semidesnatada $\rightarrow 0.356 \text{ mm}^{-1}$
- Leche desnatada $\rightarrow 0.173 \text{ mm}^{-1}$

5.4.2 Con corrección de PSF

Estos resultados se ajustan al modelo teniendo en cuenta la corrección de la PSF.

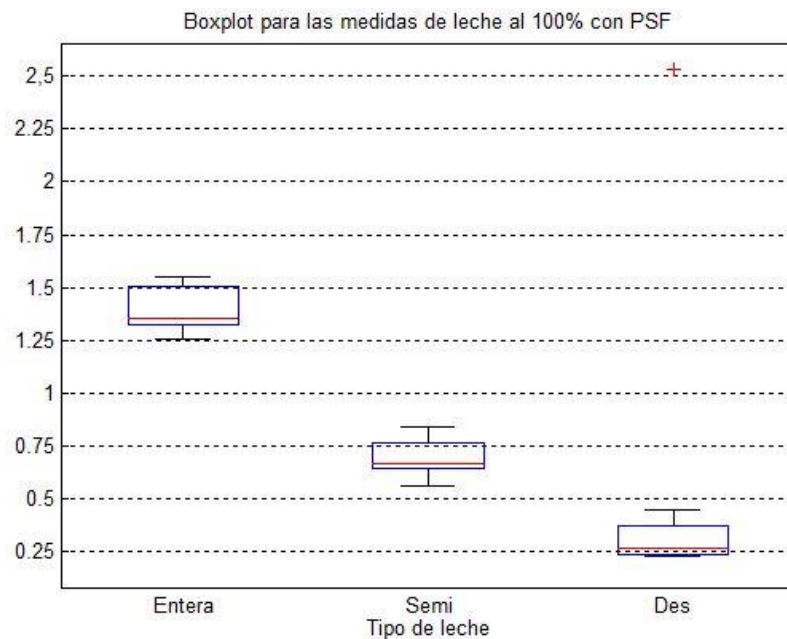


Figura 5.28. Representación de los valores de coeficiente de atenuación utilizando el modelo corregido. Se ha utilizado como representación los *boxplot*.

También se han calculado sus valores medios, obteniendo:

- *Leche entera* -> 1.42 mm^{-1}
- *Leche semidesnatada* -> 0.71 mm^{-1}
- *Leche desnatada* -> 0.267 mm^{-1}

Como se puede observar en la figura 5.28, existe la misma relación que en las medidas del intralipid en las que los valores de coeficiente de atenuación total son el doble que los calculados sin corrección de PSF.

Se calcula también como en el resto de las medidas el índice de refracción de cada una de ellas y se calcula su media para cada tipo de leche. Obteniendo:

- *Leche entera* -> $n = 1.377$
- *Leche semidesnatada* -> $n = 1.3828$
- *Leche desnatada* -> $n = 1.4119$

Estas medidas obtenidas muestran que esto podría aplicarse no sólo en identificación de diferentes tipos de leches sino también de otros materiales.

Capítulo 6. Conclusiones y Líneas futuras

6.1. Conclusiones

La principal conclusión de este trabajo coincide con el objetivo marcado en él y no es más que la demostración de que mediante la técnica de OCT es posible realizar la caracterización de *phantoms* y por tanto, también de tejidos biológicos. La importancia de este trabajo es que se ha realizado un estudio de los materiales con los que se pueden desarrollar los simuladores y que con materiales tan comunes como puede ser intralipid en un hospital o leche de la que disponemos todos diariamente en casa podemos simular la mayoría de los efectos ópticos que intervienen en la interacción con las partículas de los tejidos.

Se ha desarrollado un algoritmo en MATLAB que de forma sencilla permite determinar automáticamente dónde se encuentra la muestra dentro del B-Scan y calcular cuál es su coeficiente de atenuación total, que es el parámetro más característico de todo el trabajo. En el B-scan se toma siempre la imagen de dos cubetas, una a la izquierda que se toma como referencia y una a la derecha que es la muestra de interés. La diferencia de medios existente entre las dos cubetas hace que la profundidad de las cubetas vista en el B-scan sea diferente y tomando la relación entre las dos nos permite calcular también el índice de refracción.

El coeficiente de atenuación total está formado por los efectos de esparcimiento y por los efectos de absorción que crean las partículas. A lo largo de todo el trabajo se ha calculado el coeficiente de atenuación total en el cual no es posible discernir entre coeficiente de absorción o de *scattering* y para ello lo que se ha utilizado son componentes que teóricamente dispongan de partículas absorbentes y que no produzcan esparcimiento y viceversa. Se utilizó para caracterizar efectos absorbentes sangre y tinta china pero ha resultado que para nuestro sistema la absorción producida por la sangre no era la esperada, era casi inexistente en comparación a lo referenciado por la bibliografía y que para la tinta china la 'huella' capturada en el B-scan era casi imperceptible por lo que el cálculo del coeficiente de atenuación en este caso con el algoritmo era inviable. Realizando una búsqueda bibliográfica [26] se observó cómo estos componentes son absorbentes pero las medidas que provienen de la bibliografía normalmente se realizan en el rango del 'visible' (500-800 nm) por lo que en este caso como conclusión podemos tomar que para nuestro sistema que trabaja a una longitud de onda de 1325 nm los materiales a priori absorbentes son "transparentes".

Se han desarrollado también *phantoms* de Intralipid y de leche entera con el objetivo de simular los procesos de esparcimiento en los tejidos y capturar su coeficiente de

atenuación. Estos *phantoms* han sido utilizados en disoluciones con agua ya que este es el componente principal de los tejidos de todos los seres vivos.

En principio, según la clasificación realizada en el tercer capítulo, los lípidos son uno de los mejores *scatterers* posibles a utilizar en los simuladores de tipo líquido debido a la gran cantidad de ácidos grasos de los que están compuestos. Se ha demostrado en el trabajo como estos dos materiales introducen efectos de *scattering*, en mayor medida en intralipid que en leche.

También se han desarrollado *phantoms* en los que la leche suponía el 100% de la medida, es decir, se introducía una cantidad total en la cubeta de distintos tipos de leche (entera, semidesnatada y desnatada). El objetivo por el cual se realizaron estas medidas era demostrar también la posibilidad de caracterización que permite el OCT diferenciando entre los tres tipos de leche. Se realizaron medidas de cada uno de los tipos de leche observando como la diferencia de composición entre los tres tipos se plasmaba en el coeficiente de atenuación total.

Como parte del objetivo inicial utilizando la herramienta del simulador de scattering se determinan los valores teóricos procedentes de la resolución de las ecuaciones de la teoría de Mie y se comparan con los obtenidos en el trabajo pudiendo de esta forma conocer cuál puede ser el rango de calibración necesario en el sistema utilizado.

6.2. Líneas futuras

Este trabajo tiene como objetivo probar la viabilidad de la aplicación de OCT para la caracterización de simuladores de tejido biológicos. Los resultados obtenidos se pueden considerar satisfactorios por lo que una de las líneas de futuro puede ser el desarrollo de una metodología que permita mediante el sistema OCT discernir entre el coeficiente de absorción y el coeficiente de *scattering* ya que en el modelado utilizado en el presente trabajo se realiza el cálculo del coeficiente de atenuación total que está compuesto por la suma de los dos y no es posible diferenciarlos tras su cálculo. En el presente trabajo lo que se ha utilizado son materiales de los que ya se sabe con antelación cuales eran sus propiedades ópticas y si por ejemplo, se quiere simular el efecto de esparcimiento se introducían en los *phantoms* materiales que producen *scattering* y en el caso contrario pues se introducen *absorbers*.

Otras posibles líneas de futuro que surgen de este trabajo son la búsqueda de componentes absorbentes que sean totalmente visibles para el sistema OCT utilizado en el trabajo. En el presente trabajo los materiales indicados como *absorbers* en los

phantoms de tipo líquido no eran visibles en el B-Scan del *phantom* por lo que no era viable la aplicación del algoritmo desarrollado.

En la actualidad se están empezando a emplear componentes birrefringentes en los simuladores. Estos materiales son capaces de desdoblar un rayo de luz incidente en dos rayos linealmente polarizados de manera perpendicular entre sí como si el material tuviera dos índices de refracción distintos.

Referencias bibliográficas

- [1] Tuan Vo Dinh. 2003. Biomedical Photonics HANDBOOK. Oak Ridge, Tennessee: CRC
- [2] Rich Watkins and Joe Vallandingham. 2008. Rowan University. *"Rayleigh Scattering". Optics-Spring.*
- [3] Maklel H. Nienz. 2007. *"Lasser-Tissue Interactions. Fundamentals and applications"*.
- [4] Steven L Jacques. 2013. *"Optical properties of biological tissues: a review"*. Oregon Health Science University. Febrero. pp R39-R40.
- [5] Brian W. Pogue. 2006. *"Review of Tissue Phantoms for optical Spectrometry, Imaging and Dosimetry"*. Journal of biomedical optics. Julio/Agosto Vol. 11. pp 1-10.
- [6] Guy Lamouche, Brendan F. Kennedy, Kelsey M. Kennedy, Charles-Etienne Bisailon, Andrea Curatolo, Gord Campbell, Valérie Pazos y David Sampson. 2012. *"Review of Tissue simulating Phantoms with controllable optical, mechanical and structural properties for use in OCT"*. Biomedical optics express. Marzo. pp 5-8.
- [7] Commercial OCT phantom. Arden Photonics. Especificaciones a 21/10/2015 consultadas en: <http://opticalcoherencetomography.net/the-arden-photonics-oct-validation-phantom/>
- [8] Huong D., Swason E. 1991. *"Optical Coherence Tomography"*. pp 1-5.
- [9] University of Illinois. *Elastography*. Biophotonics Imaging Laboratory. OCT.
- [10] Eusebio Real Peña. 2013. *"Tomografía de coherencia óptica aplicada al diagnóstico de aneurismas de aorta torácica"*. Trabajo fin de Master. Universidad de Cantabria. pp 21-22.
- [11] Jhon Holmes. 2014. *OCT lines up for dermatology*. Medical physical web. Junio.

[12] Levitz. 2004. *“Determining tissue properties with optical coherence tomography”*. Master Thesis. Lund University. June. pp 7-8.

[13] University of Illinois. *Optical low-coherence Interferometric. Technics for applications*. Techniques for Applications in Bio-imaging.

[14] *Ophthalmic & Medical OCT 2012*. Exalos. Consultado a 21/10/2015 en: <http://www.exalos.com/ophthalmic-medical-oct/>

[15] David Lopez Quiroga. 2007. *“Realización de un Tomógrafo Óptico Coherente”*. Proyecto final de Carrera. Universidad de Alcalá. Mayo. pp 12-20.

[16] Wojtkowshi, M. 2010. *“High speed Optical Coherence Tomography. Basic and applications”*. Applied optics. pp 30-35.

[17] Af. Fercher, W. Drexler, Khiitzenberger and T. Lasser. 2003. *“Optical coherence tomography. Principles and aplications”*. Enero. pp 267-268.

[18] OCT OCS1300SS Thorlabs Manual. Consultado a 21/10/2015 en: <http://www.thorlabs.de/thorcat/18100/OCS1300SS-Manual.pdf>

[19] J.A. Izatt and M.A. Choma. 2008 *“Theory of Optical Coherence Tomography”*. pp 47-272.

[20] *Prospecto Intralipid 200 Mg/Ml. Emulsión para perfusión*. AEMPS. Consultado a 21/10/2015 en http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/p/43165/P_43165.pdf

[21] V. M. Kodach, J. Kalkman, D. J. Faber y T. G. van Leeuwen. 2010. *“Quantitative comparision of the OCT imaging depth at 1300 nm and 1600 nm”*. Vol1, fig 3.

[22] T. H. Chow, James C. Y. Kah, K.M. Tan, B. K. Ng, Razul S. Gulam, Colin. J. R. Sheppard. *“Absorption effects in OCT Modeling”*. School of Electrical and Electronic Engineering, Nanyang Technological University,

[23] Polynomial curve fitting – MATLAB. En *The Mathworks Inc [Manual]*. Disponible a 21/10/2015 en: <http://es.mathworks.com/help/curvefit/curvefitting-app.html>

[24] Peakdet function - MATLAB. En The Mathworks Inc [Manual]. Disponible a 21/10/2015 en: <http://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/47264-peakdet>

[25] Scott Prahl. Calculadora scattering de Mie. Consultado a 21/10/2015 en: <http://omlc.org/software/mie/>

[26] Alfred C. Redfield. "*Biological Bulletin*" The Absorption spectra of some bloods and solutions Vol. 58, no. 2

[27] M^a Gema Cuevas Calleja. "*Caracterización espectral de la absorción y el esparcimiento de muestras líquidas*". Trabajo fin de Carrera. Universidad de Cantabria.

[28] University of Michigan Health System. 2008. "*Nanoemulsion vaccines show increasing promise*". Eurekalert Public News List. Consultado a 21 /10/2015 en http://www.eurekalert.org/pub_releases/2008-02/uomh-nvs022608.php