

CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.

TOMOGRAFÍA ÓPTICA DIFUSA POR TRANSLUMINACIÓN



DOCTOR EN CIENCIAS (ÓPTICA)

Asesor: Dr. Gonzalo Páez Padilla

Estudiante: Luis Francisco Corral Martínez

Versión definitiva. Incluye cambios sugeridos por revisores

*Septiembre de 2015
León, Guanajuato, México*

Dedicatoria

A Laura Patricia, por estar siempre a mi lado.

A Johana y Natalia, son mi inspiración para crear un mundo mejor.

*A Rosa María, Margarita, Ana María y María del Carmen, entre mayor es la distancia,
más fuerte es la unión.*

A Luis Gumaro[†] y María de Jesús[†], con ellos todo comenzó.

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Gonzalo Páez por permitirme formar parte de su grupo de trabajo en el laboratorio de IR y brindarme la oportunidad de crecer profesionalmente bajo su tutela. A la Dra. Marija Strojnik por ser fuente inagotable de conocimiento, darme sabios consejos y ser ejemplo de vida. A los doctores Alejandro Cornejo, Zacarías Malacara y Alejandro Téllez por tomarse el tiempo de revisar esta tesis y con sus recomendaciones contribuir a elevar la calidad de la misma.

A todos mis compañeros de grupo de IR, por compartirme sus conocimientos, criticarme mis errores y acompañarme a través de esta experiencia. A mis compañeros de generación por brindarme su amistad y confianza. A todo el personal del Centro de Investigaciones en Óptica por facilitar mi paso por esa gran institución.

A todos mis compañeros, personal y directivos del Instituto Tecnológico de Chihuahua, por todas sus muestras de apoyo, en especial a Gerardo Trujillo quien me impulsó de principio a fin y a Saúl Almazán por hospedarme en la ciudad de León durante toda mi estancia.

Al Instituto Tecnológico de Chihuahua, por estimular la superación de su personal académico y darme la oportunidad de alcanzar esta gran meta. Finalmente, deseo agradecer al Convenio de Colaboración SES-ANUIES a través del su programa PROMEP por otorgarme la beca 2009011AC, sin la cual este proyecto de vida hubiera sido inimaginable.

Resumen

La tomografía óptica difusa es una técnica de monitoreo no invasivo para tejidos gruesos. Se ha estudiado y desarrollado esta técnica para obtener imágenes de tejido con grosores mayores a 1 cm, sin embargo en la actualidad su uso clínico es limitado. En los últimos años se ha presentado un importante desarrollo en las técnicas de diagnóstico biomédicas que generan imágenes a partir del principio de la interacción radiación-tejido. El objetivo de este trabajo de tesis es hacer una contribución en el campo de las técnicas de diagnóstico no invasivo. Como primer punto describimos los fenómenos de interacción de la radiación con el tejido a través de una muestra biológica y también describimos las técnicas de tomografía óptica difusa y fotopletomografía de imágenes. Después presentamos simulaciones de Montecarlo que permiten identificar la propagación tanto de fotones balísticos a través de una muestra como de fotones retroesparcidos al interior del tejido, en ambos casos las simulaciones nos permiten extraer de manera apropiada los parámetros ópticos de las muestras de tejido simuladas. Más adelante proponemos un método para medir las variaciones de densidad óptica en tejidos biológicos, presentamos el desarrollo matemático que lo sustenta y un procedimiento experimental basado en un interferómetro Mach-Zehnder. Luego presentamos un estudio sobre fotopletomografía de imágenes y su capacidad para obtener información sub-superficial de la piel con el fin de lograr mapas de perfusión sanguínea e incluso mapas de saturación de oxígeno. Finalmente presentamos las conclusiones generales del trabajo, demostrando la viabilidad de un sistema avanzado de diagnóstico óptico no invasivo.

Abstract

Diffuse optical tomography is a non-invasive monitoring technique for thick tissues. This technique has been studied and developed for imaging tissues with thicknesses greater than 1 cm. However, its present clinical use is limited. In recent years there has been an important development in biomedical diagnostic techniques that use radiation-tissue interactions to produce images. The objective of this thesis is to make a contribution in the field of non-invasive diagnostic techniques. Initially we describe the radiation-tissue interaction phenomena through biological samples and we also describe diffuse optical tomography and photoplethysmography imaging techniques. After that we present Monte Carlo simulations of ballistic photon propagation through tissue samples, we also present backscattered photon analysis. Simulations allow us to extract optical parameters of tissue samples. Then we propose a method for measuring optical density variations in biological tissues, we present the mathematical development and a proposed experimental procedure based on a Mach-Zehnder interferometer. In addition we present a study on photoplethysmography imaging and its ability to obtain sub-surface information from the skin to achieve blood perfusion maps and oxygen saturation maps. Finally we present the general conclusions of this work, demonstrating the feasibility of an advanced optical non-invasive diagnosis system.

Contenido

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
CONTENIDO	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	xi

CAPÍTULO 1 - INTERACCIÓN RADIACIÓN-TEJIDO

1.1 Introducción	1
1.2 Absorción	1
1.3 Esparcimiento	2
1.4 Fotones balísticos	4
1.5 Tomografía óptica difusa	5
1.6 Fotopletismografía de imágenes	7
1.7 Referencias del capítulo	8

CAPÍTULO 2 – TÉCNICA DE MONTECARLO

2.1 Introducción	11
2.2 Teoría de transporte de radiación	11
2.3 Simulación de Montecarlo	13
2.4 Modelo óptico de la piel	15
2.5 Simulación de Montecarlo para transiluminación	17
2.6 Simulación de Montecarlo para retroesparcimiento	19
2.7 Referencias del capítulo	22

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZACIÓN DE TEJIDO CON FOTONES BALÍSTICOS

3.1 Introducción	24
3.2 Modulación del haz balístico	25
3.2.1 Factor de esparcimiento β_s	26
3.2.2 Factor de absorción β_a	27
3.2.3 Tejido transiluminado con centros de absorción y esparcimiento	28
3.2.4 Patrones de interferencia formados por dos haces desiguales	28
3.2.4.1 Amplitud de potencia	31
3.2.4.2 Potencia promedio	31

3.3 Arreglo experimental	32
3.4 Calibración	36
3.4.1 Factor de esparcimiento β_s	36
3.4.2 Factor de absorción β_a	39
3.5 Referencias del capítulo	40
CAPÍTULO 4 – FOTOPLETISMOGRAFÍA DE IMÁGENES	
4.1 Introducción	44
4.2 Selección de longitudes de onda	45
4.3 Mejora computacional de la relación señal a ruido	49
4.4 Mejora óptica de la relación señal a ruido	52
4.5 Análisis de onda de pulso fotopletismográfica	54
4.6 Oximetría de pulso remota con imágenes	57
4.7 Referencias del capítulo	59
CAPÍTULO 5 – CONCLUSIONES	62
APÉNDICE A – MONTAJES DE LABORATORIO	65

Lista de figuras

CAPÍTULO 1 - INTERACCIÓN RADIACIÓN-TEJIDO

- 1.1. Espectro de coeficientes de absorción del agua, oxihemoglobina y coeficiente de esparcimiento reducido del tejido biológico. Se aprecia claramente la ventana terapéutica como la región en que el esparcimiento predomina sobre los principales centros de absorción del tejido. 2
- 1.2. Propagación de un pulso ultracorto de radiación a través de un medio con esparcimiento. El pulso transmitido contiene una componente balística (I_b) que es la primera en emerger, una componente en zigzag (I_z) que emerge inmediatamente después y una componente difusa (I_d) que presenta mayores retrasos. 4
- 1.3. Coeficientes de extinción molar para la hemoglobina y la oxihemoglobina. Es posible detectar la concentración de estos componentes en la sangre midiendo sus coeficientes de absorción en dos longitudes de onda, una a cada lado del punto isosbético. 5
- 1.4. Arreglo empleado en la técnica de tomografía óptica difusa en el modo de transmitancia y reflectancia, pueden existir varios puntos de inyección de radiación pero se activa uno solo a la vez. 6

CAPÍTULO 2 – TÉCNICA DE MONTECARLO

- 2.1. Diagrama de flujo para la simulación de Montecarlo. Un paquete de fotones con peso inicial w se propaga al interior del tejido, con cada interacción pierde peso y se desvía de su trayectoria anterior (absorción y esparcimiento) hasta que se extingue o logra emerger del tejido. 13
- 2.2. Modelo óptico de la piel de 5 capas. La capa exterior es la epidermis, debajo de ella se encuentra la dermis que contiene dos regiones vascularizadas que son: *plexus superficialis* y *plexus profundus*. 17

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZACIÓN DE TEJIDO CON FOTONES BALÍSTICOS

- 3.1. Fenómenos que se producen cuando un haz láser interactúa con el tejido. Se presenta absorción, esparcimiento y también paso directo de fotones. La radiación de paso directo o fotones balísticos son los primeros que emergen mientras que los fotones en zigzag logran retomar la trayectoria original pero presentan un retraso en relación con los fotones balísticos. 25
- 3.2. Esquema del arreglo experimental basado en un interferómetro de Mach-Zehnder que identifica los fotones balísticos. La muestra está formada por tejido biológico y las aberturas 2 y 3 impiden la propagación hacia el detector de los fotones esparcidos, lo cual permite la detección de los fotones balísticos. 30

3.3. Distribución de potencia correspondiente al volumen integrado de centros de esparcimiento en la muestra. Las áreas más iluminadas corresponden a una mayor transmisión en la muestra.	35
3.4. Potencia transmitida normalizada (semilogarítmica) como función de la concentración de partículas (de leche). La pendiente obtenida es $m_s = -6.03$ empleando el método de mínimos cuadrados.	37
3.5 Concentración integrada de centros de esparcimiento como función de las coordenadas transversales correspondientes a los niveles de gris de la figura 3.3.	38
3.6 Potencia transmitida normalizada (semilogarítmica) como función de la concentración del colorante azul. La pendiente obtenida es $m_a = -8.77$ empleando el método de mínimos cuadrados.	39

CAPÍTULO 4 – FOTOPLETISMOGRAFÍA DE IMÁGENES

4.1. Tres registros obtenidos del oxímetro de pulso, se observa que los tres registros presentan una frecuencia cardiaca promedio diferente y que en todos los registros existen variaciones de la frecuencia cardiaca.	47
4.2. Determinación de la longitud de onda óptima para estudio de fotopletismografía remota. La potencia máxima de la señal de pulso cardiaco con respecto a la potencia total recibida en el detector se obtiene entre los 500 y los 600 nm. El ruido máximo de la señal está al mismo nivel que la señal de pulso cardiaco entre los 600 y los 800 nm.	48
4.3. Gráfica de señal a ruido para fotopletismografía remota. Se observan dos bandas en las que la señal de frecuencia cardiaca es detectable sin necesidad de contar con una referencia externa. Las dos bandas en las que se produce esta elevada relación señal-ruido se encuentran en lados opuestos del punto isosbético de la sangre, lo cual hace factible la oximetría de pulso remota.	49
4.4. Primer cuadro de la secuencia de imágenes obtenida. La extracción de la señal fotopletismográfica se realiza promediando todos los pixeles de cada cuadro de la secuencia y sustrayendo la media temporal.	52
4.5. Señal fotopletismográfica obtenida al promediar todos los pixeles de la escena y eliminar la media temporal. Se observa claramente cada uno de los ciclos de la señal, que corresponden al ciclo cardiaco.	52
4.6. Niveles de señal fotopletismográfica y ruido contenidos en regiones de distintos tamaños. El ruido muestra un patrón de comportamiento decreciente al incrementar el tamaño de la región promediada.	52
4.7. Relación entre el ángulo relativo de los polarizadores y el tamaño del bloque a promediar para obtener una relación señal a ruido igual a 1.	54
4.8. Conjunto de ondas de pulso fotopletismográficas clasificadas por rangos de edad. Individuos jóvenes muestran en promedio ondas de pulso más complejas que los individuos de edad más avanzada.	55

- 4.9. Relación entre la saturación de oxígeno del tejido y la razón de razones obtenida por fotopletoisografía remota para longitudes de onda de 633 y 940 nm. La línea de tendencia se obtiene por regresión de mínimos cuadrados y puede emplearse para realizar la calibración del instrumento..

57

APÉNDICE A – MONTAJES DE LABORATORIO

- A.1. Montaje de laboratorio de un interferómetro Mach-Zehnder de brazos de intensidad desigual que identifica los fotones balísticos. LASER es la fuente de luz láser, FE es el filtro espacial, DH son divisores de haz 98/2, M es el espacio para colocar la muestra, E son espejos, FDN es el filtro de densidad neutra y CÁMARA es la cámara de alta sensibilidad.
- A.2. Montaje de laboratorio del sistema de reflectancia difusa. (a) muestra el arreglo completo en donde L es la fuente luminosa, RDI es la región de interés y SD es el sistema de detección. (b) muestra el detalle del sistema de detección, donde LF es la lente fotográfica, EI es una esfera integradora y E es el espectrómetro.

65

66

Lista de tablas

CAPÍTULO 1 - INTERACCIÓN RADIACIÓN-TEJIDO

- 1.1. Clasificación de la tomografía óptica difusa por su tipo de medición, tipo de arreglo de fuente-detector y tipo de algoritmo de reconstrucción. 7

CAPÍTULO 2 – TÉCNICA DE MONTECARLO

- 2.1. Parámetros ópticos empleados en la simulación de Montecarlo. 18
- 2.2. Resultados obtenidos en la simulación de Montecarlo. 19
- 2.3. Parámetros ópticos de la piel empleados en la simulación. Los parámetros son para la fase diastólica y saturación de oxígeno al 100%. 20
- 2.4. Cantidad promedio de paquetes de fotones reflejados. 20
- 2.5. Diferencia entre la cantidad de paquetes de fotones reflejados en las fases de diástole y sístole. 21

CAPÍTULO 4 – FOTOPLETISMOGRAFÍA DE IMÁGENES

- 4.1. Análisis de ruido del sistema fuente-detector para fotopletismografía remota. 51
- 4.2. Error relativo que se presenta en la reconstrucción de la onda de pulso en función de la cantidad de coeficientes empleados y el grupo de edad. 56

CAPÍTULO I

Interacción Radiación-Tejido

1.1 INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha presentado un importante desarrollo en las técnicas de diagnóstico biomédicas que generan imágenes a partir del principio de la interacción radiación-tejido, dichas técnicas aprovechan la penetración a niveles detectables que se produce cuando la radiación infrarroja cercana (*near-infrared, NIR*) con longitudes de onda comprendidas entre 600 y 1600 nm (ventana terapéutica) incide sobre el tejido biológico. Dentro de las técnicas biomédicas no invasivas que poseen la capacidad de generar imágenes sub-superficiales de tejidos se encuentran la tomografía óptica difusa¹⁻⁴ (*diffuse optical tomography, DOT*), la tomografía óptica coherente⁵⁻⁷ (*optical coherence tomography, OCT*) y la fotoplethysmografía de imágenes⁸⁻¹⁰ (*photoplethysmography imaging, PPGI*). Estas técnicas tienen como denominador común que cuantifican alguno de los fenómenos que se producen cuando la radiación infrarroja cercana incide en el tejido, estos son absorción, esparcimiento (frontal, lateral o retroesparcimiento) y paso directo de fotones. El fenómeno a cuantificar depende de la configuración empleada para el análisis de la muestra, la cual puede ser por reflexión o transmisión y también en ambos casos puede ser con un método de contacto o de no contacto. A continuación se describen los fenómenos de absorción, transmisión y fotones balísticos, así como las técnicas *DOT* y *PPGI*.

1.2 ABSORCIÓN

La absorción de la radiación en los tejidos biológicos se produce por la presencia de cromóforos en las células del tejido. Un cromóforo es una región de la molécula cuya diferencia de energía entre dos orbitales moleculares distintos se ubica dentro del espectro visible. La radiación que incide sobre el cromóforo puede excitar a un electrón, llevándolo a un estado energético superior, la energía absorbida por dicho electrón puede re-radiarse en forma de fluorescencia, convertirse en calor o producir reacciones fotobioquímicas.

El espectro de absorción de un tejido en específico depende del tipo de centros de absorción predominantes y del contenido de agua en el mismo. Los coeficientes de absorción para tejidos típicos toman valores absolutos de 10^{-3} a 10^3 mm^{-1} . En las regiones espectrales alejadas

de la ventana terapéutica la radiación es absorbida con tal facilidad en el tejido biológico que no se producen niveles detectables por transmisión ni por retroesparcimiento.

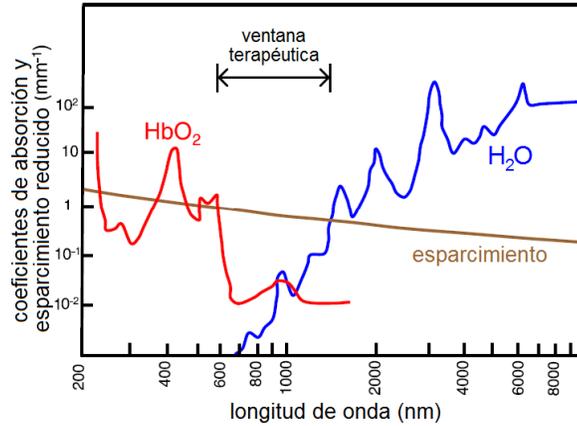


Fig. 1.1 Espectro de coeficientes de absorción del agua, oxihemoglobina y coeficiente de esparcimiento reducido del tejido biológico. Se aprecia claramente la ventana terapéutica como la región en que el esparcimiento predomina sobre los principales centros de absorción del tejido.

En la figura 1.1 se muestran los espectros de absorción de algunos componentes del tejido biológico, observamos que para longitudes de onda menores a 600 nm la radiación es absorbida principalmente por la hemoglobina, mientras que para longitudes de onda mayores a 1600 nm, la absorción es dominada por el agua contenida en los tejidos. Dentro de la ventana terapéutica el esparcimiento predomina sobre la absorción ($\mu'_s \gg \mu_a$), permitiendo que la radiación penetre a profundidades de hasta 10 mm dentro del tejido.

La potencia transmitida a través de una muestra que presenta características de absorción está expresada por la ley de Beer-Lambert de la siguiente manera:

$$P_{out} = P_{in} e^{-\mu_a z} \text{ [W]}, \tag{1.1}$$

donde la potencia de salida P_{out} es función de la distancia z recorrida por la radiación al interior de la muestra, P_{in} es la potencia de la radiación incidente y μ_a es el coeficiente de absorción de la muestra.

1.3 ESPARCIMIENTO

El esparcimiento de la radiación en los tejidos biológicos se debe a la interacción de los fotones con las interfaces microscópicas de las estructuras celulares y sub-celulares en las que ocurre una variación espacial continua o abrupta del índice de refracción. Existe una gran variedad de estructuras intracelulares que determinan el esparcimiento de la radiación, algunas

de estas estructuras son: núcleo celular, con diámetro de 5 a 10 μm ; mitocondria, lisosomas y peroxisomas con dimensiones de 1 a 2 μm ; y estructuras diversas con dimensiones de algunos centenares de nanómetros.

El tejido biológico generalmente se modela como un arreglo de partículas esféricas homogéneas, ya que muchas células y microorganismos tienen forma esférica o elipsoidal, como por ejemplo las células sanguíneas. La teoría Mie¹¹ describe el esparcimiento producido por partículas esféricas cuando el tamaño de la partícula es del orden de la longitud de onda de la radiación incidente. Ejemplos de este tipo de partículas son las gotas de agua suspendidas en la atmósfera, las partículas de látex en la pintura, las gotas en las emulsiones incluyendo la leche y las células biológicas y sus componentes.

La cantidad de radiación transmitida a través de una muestra con esparcimiento se modela también con la ley de Beer-Lambert como una función con decaimiento exponencial:

$$P_{out} = P_{in} e^{-\mu_s z} [W], \quad (1.2)$$

al igual que en el caso de la absorción, la potencia de salida P_{out} es función de la distancia z y del coeficiente de esparcimiento de la muestra μ_s , P_{in} es la potencia de la radiación incidente.

La absorción y el esparcimiento se presentan en el tejido biológico generalmente de manera simultánea, ambos fenómenos son independientes entre sí, por lo que el efecto combinado se modela de la siguiente manera:

$$P_{out} = [P_{in} e^{-\mu_a z}] e^{-\mu_s z} = P_{in} e^{-(\mu_a + \mu_s) z} [W], \quad (1.3)$$

en donde la suma de los coeficientes de absorción y esparcimiento se pueden combinar en una nueva variable denominada coeficiente de extinción μ_t ,

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s [\text{m}^{-1}]. \quad (1.4)$$

La probabilidad de que la radiación incidente en un elemento de tejido de pequeño volumen sobreviva a la absorción, cuando el medio contiene centros de absorción y esparcimiento, es igual a la razón entre los coeficientes de esparcimiento y extinción y se denomina albedo de esparcimiento simple A ,

$$\Lambda = \frac{\mu_s}{\mu_t}. \quad (1.5)$$

1.4 FOTONES BALÍSTICOS

En su paso a través del tejido, la gran mayoría de los fotones sufren absorción y esparcimiento, sin embargo hay algunos de ellos que logran atravesar la muestra sin ser desviados de su trayectoria original, estos fotones se denominan fotones balísticos. En la figura 1.2 se muestra el paso de un pulso ultracorto de radiación a través de una muestra con esparcimiento¹². El pulso transmitido contiene tres componentes, la componente balística, la componente de zigzag y la componente difusa. Los fotones no esparcidos y aquellos que sufren esparcimiento simple en sentido frontal contribuyen a la intensidad de la componente balística, esta componente es la que encabeza el pulso transmitido y experimenta la atenuación exponencial descrita por la ecuación (1.1).

La componente de zigzag está formada por los fotones que han experimentado pocas colisiones, estos se propagan con trayectorias que se desvían ligeramente de la dirección original del haz incidente y forman la parte frontal de la componente difusa. Estos fotones llevan información de las propiedades ópticas del tejido y los parámetros de cualquier objeto extraño que se interponga en su trayectoria.

La componente difusa es muy amplia e intensa puesto que contiene la mayor parte de los fotones incidentes, todos ellos participaron en múltiples eventos de esparcimiento. Estos fotones se han propagado en distintas direcciones dentro del tejido y por lo tanto cada uno ha recorrido caminos ópticos diferentes. La componente difusa contiene información de las propiedades ópticas del medio y cualquier distorsión en la misma puede reflejar la presencia de imperfecciones locales.

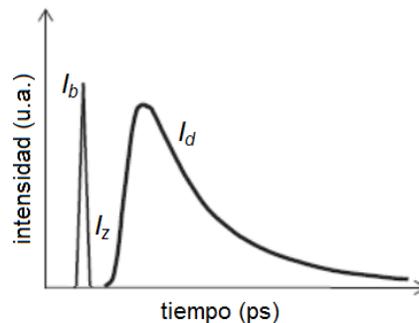


Figura 1.2. Propagación de un pulso ultracorto de radiación a través de un medio con esparcimiento. El pulso transmitido contiene una componente balística (I_b) que es la primera en emerger, una componente en zigzag (I_z) que emerge inmediatamente después y una componente difusa (I_d) que presenta mayores retrasos.

1.5 TOMOGRAFÍA ÓPTICA DIFUSA

La tomografía óptica difusa es una técnica de monitoreo no invasivo para tejido biológico, en ella se emplea radiación comprendida en la ventana terapéutica. Se ha estudiado y desarrollado esta técnica para obtener imágenes de tejido con grosores mayores a 1 cm, sin embargo en la actualidad su uso clínico es limitado. Las dificultades en el uso clínico de esta técnica se originan principalmente porque el esparcimiento predomina sobre la absorción en la propagación de radiación infrarroja cercana a través del tejido biológico. La reconstrucción se hace más complicada a medida que el esparcimiento es más fuerte, por lo que los procesos de reconstrucción se hacen más sofisticados y demandantes.

La base de la tomografía óptica difusa es la espectroscopía de infrarrojo cercano (*near-infrared spectroscopy, NIRS*). Los principales cromóforos del tejido biológico en el visible y el infrarrojo cercano son la melanina, la hemoglobina y el agua. Otra característica de la espectroscopía de infrarrojo cercano es el cambio en el espectro de absorción para la hemoglobina en función de su estado de oxigenación. En la figura 1.3 se muestran los espectros de los coeficientes de absorción para la hemoglobina oxigenada (oxihemoglobina, HbO_2) y la hemoglobina desoxigenada (desoxihemoglobina, hemoglobina reducida o simplemente hemoglobina, Hb).

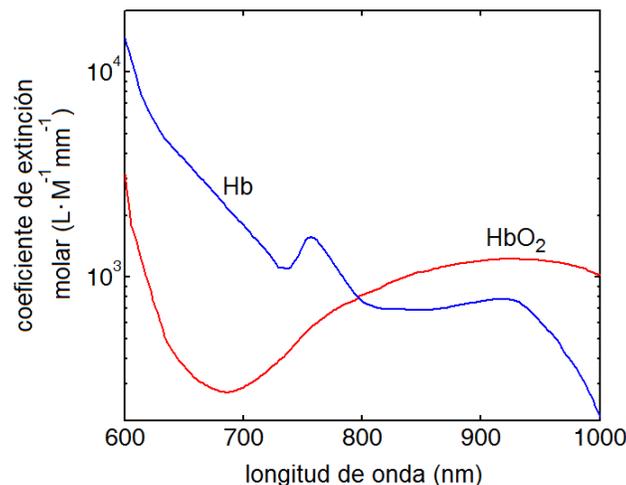


Figura 1.3. Coeficientes de extinción molar para la hemoglobina y la oxihemoglobina. Es posible detectar la concentración de estos componentes en la sangre midiendo sus coeficientes de absorción en dos longitudes de onda, una a cada lado del punto isobéptico.

Midiendo los coeficientes de absorción en dos longitudes de onda es posible estimar el grado de oxigenación y el estado hemodinámico del tejido por medio de las siguientes ecuaciones:

$$\mu_a(\lambda) = \varepsilon_{HbO_2}(\lambda)c_{HbO_2} + \varepsilon_{Hb}(\lambda)c_{Hb} \text{ [m}^{-1}\text{]}, \quad (1.6)$$

$$SpO_2 = \frac{c_{HbO_2}}{c_{HbO_2} + c_{Hb}}, \quad (1.7)$$

donde $\mu_a(\lambda)$ es el coeficiente de absorción espectral del tejido, $\varepsilon_{Hb}(\lambda)$ y $\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)$ son los coeficientes de extinción molar para la hemoglobina o la oxihemoglobina, c_{Hb} y c_{HbO_2} son sus respectivas concentraciones molares y SpO_2 es la saturación de oxígeno. Ya que $\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)$ y $\varepsilon_{Hb}(\lambda)$ son por lo general valores conocidos, la espectroscopía de infrarrojo cercano puede proporcionar información fisiológica acerca del tejido mientras que otras técnicas como la tomografía de rayos X, la resonancia magnética y el ultrasonido pueden proporcionar información anatómica.

El esquema general de la tomografía óptica difusa se describe por dos procesos, la medición y la reconstrucción. Para la medición se tiene el arreglo de la figura 1.4, la radiación de la fuente incide sobre la superficie de la muestra en un punto determinado, luego se propaga en su interior. La intensidad de la radiación reemitida por la muestra se mide en varios puntos de su superficie. Después se cambia el punto de incidencia de la radiación hasta que se recorre toda la superficie. Para cada punto de incidencia se repiten todas las mediciones hasta lograr un conjunto de datos.

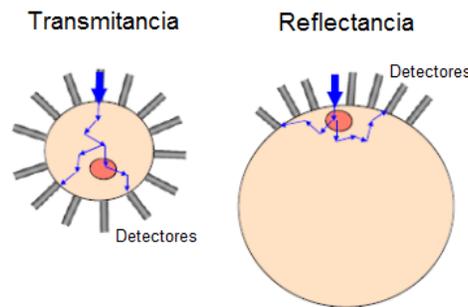


Figura 1.4. Arreglo empleado en la técnica de tomografía óptica difusa en el modo de transmitancia y reflectancia, pueden existir varios puntos de inyección de radiación pero se activa uno solo a la vez.

Para la reconstrucción se realiza una búsqueda de la distribución de las propiedades ópticas $\mu_a(x, y)$ y $\mu'_s(x, y)$ que haría corresponder a las mediciones con las intensidades calculadas por el método de propagación. A este proceso se le conoce como proceso inverso.

La clasificación de la tomografía óptica difusa se muestra en la tabla 1.1. En ella se muestra la clasificación en función de tres componentes clave: el tipo de medición, el tipo de arreglo fuente-detector y el método de reconstrucción empleado.

Tabla 1.1. Clasificación de la tomografía óptica difusa por su tipo de medición, tipo de arreglo de fuente-detector y tipo de algoritmo de reconstrucción.

Clasificación	Enfoque	Características
Por tipo de medición	Onda continua	Velocidad de captura alta Hardware más simple Costo bajo Calidad de imagen variable
	Dominio en la frecuencia	Velocidad de captura media Costo medio Calidad de imagen media
	Dominio en el tiempo	Velocidad de captura baja Hardware más sofisticado Costo alto Información más valiosa Calidad de imagen alta
Por tipo de arreglo fuente-detector	Geometría por transmisión	Limitado a muestras con radio menor a 80 mm Calidad de imagen alta
	Geometría por reflexión	Adecuada para muestras de gran tamaño Calidad de imagen variable
Por algoritmo de reconstrucción	Algoritmo lineal de un paso	Rápido y sin iteraciones Calidad de imagen en base a propiedades ópticas preestablecidas
	Algoritmo iterativo no lineal	Lento y con iteraciones Calidad de imagen alta

La tomografía óptica difusa tiene como principales aplicaciones clínicas la imaginería mamaria para monitoreo o detección de tumores, imaginería cerebral para estudio de la actividad neuronal o monitoreo del estado fisiológico, imaginería muscular para el estudio de la actividad muscular y tomografía de fluorescencia como herramienta para imaginería molecular.

1.6 FOTOPLETISMOGRAFÍA DE IMÁGENES

La fotopletismografía es la técnica optoelectrónica empleada para medir algunas componentes fisiológicas del organismo mediante el monitoreo de la absorción dinámica de los tejidos. Esta técnica es comparable con la tomografía óptica difusa en el modo de onda continua, con arreglo de fuente-detector en geometría por transmisión o en geometría por reflexión pero sin algoritmo de reconstrucción¹³⁻¹⁸.

En la última década se ha retomado el interés en esta técnica debido al avance de la tecnología y la necesidad de contar con dispositivos simples, compactos y económicos. El oxímetro de pulso es el ejemplo más claro de un instrumento basado en la obtención de señales fotopleletismográficas del cuerpo humano, dicho instrumento se considera no invasivo ya que no involucra la extracción de muestras sanguíneas. Para su operación el oxímetro debe entrar en contacto con alguna parte de la piel y permite extraer la frecuencia cardíaca, la respiratoria y la saturación de oxígeno en los pacientes. Desde hace más de 25 años se usa el oxímetro de pulso en los quirófanos como el estándar de monitoreo durante la aplicación de la anestesia, de ahí el sistema migró a las salas de recuperación, salas de emergencia y unidades de cuidado intensivo.

La fotopleletismografía remota se desarrolló con el propósito de ampliar el alcance de la de contacto. Al ser una técnica en la que no se tiene contacto con el paciente la fotopleletismografía remota es especialmente atractiva en salas de emergencia, y unidades de cuidado intensivo en donde la aplicación de electrodos o pinzas de prueba es poco conveniente o no deseable. Si en la fotopleletismografía remota se usa como detector un arreglo bidimensional del tipo CMOS o CCD, se pueden obtener mapas de perfusión sanguínea y en el caso de análisis en dos o más longitudes de onda, los mapas pueden ser de saturación de oxígeno.

En el presente capítulo describimos los fenómenos de interacción de la radiación dentro del rango de la ventana terapéutica para la absorción, el esparcimiento y el paso directo de fotones a través de una muestra biológica. Además de lo anterior también describimos las técnicas de tomografía óptica difusa y fotopleletismografía de imágenes.

En el siguiente capítulo presentamos la teoría de transporte de radiación en tejidos y una aplicación del método de Montecarlo para estimar las trayectorias que siguen los paquetes de fotones a través del tejido. Presentamos simulaciones que permiten identificar la propagación de fotones balísticos a través de una muestra y también una simulación que nos permite estimar la cantidad de radiación que interactúa con las capas vascularizadas de la dermis y lleva información PPG al exterior por retroesparcimiento.

1.7 REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

1. Y. Yamada and S. Okawa, "Diffuse optical tomography: present status and its future," *Opt. Rev.* **21**(3), 185-205 (2014).

2. H. Dehghani, B. Pogue, J. Shudong, B. Brooksby, K. Paulsen, “Three-dimensional optical tomography: resolution in small-object imaging,” *Appl. Opt.* **42**(16), 3117-3128 (2003).
3. M. Patachia, D. C. A. Dutu, and D. C. Dumitras, “Blood oxygenation monitoring by diffuse optical tomography,” *Quantum Electronics* **40**(12), 1062-1066 (2010).
4. T. D. O’Sullivan, A. E. Cerussi, D. J. Cuccia, and B. J. Tromberg, “Diffuse optical imaging using spatially and temporally modulated light,” *J. Biomed. Opt.* **17**(7), 071311 (2012).
5. J. Schmitt, “Optical coherence tomography (OCT): a review,” *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **5**(4), 1205-1215 (1999).
6. G. Le Tolguenec, F. Devaux, E. Lantz, “Two-dimensional time-resolved direct imaging through thick biological tissues: a new step toward noninvasive medical imaging,” *Opt. Lett.* **24**(15), 1047-1049 (1999).
7. A. Unterhuber, B. Povazay, B. Hermann, H. Sattmann, W. Dexler, V. Yakovlev, G. Tempea, C. Schubert, E.M. Anger, P.K. Ahnelt, M. Stur, J.E. Morgan, A. Cowey, G. Jung, and A. Stingl, “Compact, low-cost Ti:Al₂O₃ laser for in vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* **28**, 905–907 (2003).
8. J. Allen, “Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement,” *Physiol. Meas.* **28**(3), R1–R39 (2007).
9. S. Hu, J. Zheng, V. Chouliaras, and R. Summers, “Feasibility of imaging photoplethysmography,” in *Proceedings of IEEE Conference on BioMedical Engineering and Informatics* (IEEE, 2008), pp. 72–75.
10. K. H. Shelley, “Photoplethysmography: beyond the calculation of arterial oxygen saturation and heart rate,” *Anesth. Analg.* **105**(6 Suppl), S31-S36 (2007).
11. H. C. van de Hulst, *Light scattering by small particles*, Dover Publications, New York, (1981).
12. S. Andersson-Engels, R. Berg, S. Svanberg, and O. Jarlman, “Time-resolved transillumination for medical diagnostics,” *Opt. Lett.* **15**, 1179–1181 (1990).
13. A. A. Kamshilin, S. Miridonov, V. Teplov, R. Saarenheimo, and E. Nippolainen, “Photoplethysmographic imaging of high spatial resolution,” *Biomed. Opt. Express* **2**(4), 996–1006 (2011).
14. F. P. Wieringa, F. Mastik, and A. F. W. van der Steen, “Contactless multiple wavelength photoplethysmographic imaging: a first step toward "SpO₂ camera" technology,” *Ann. Biomed. Eng.* **33**(8), 1034-1041 (2005).
15. J. Spigulis, “Biophotonic technologies for non-invasive assessment of skin condition and blood microcirculation,” *Latv. J. Phys. Tech. Sci.* **49**(5), 63–80 (2012).

16. M. Z. Poh, D. J. McDuff, and R.W. Picard, “Non-contact, automated cardiac pulse measurements using video imaging and blind source separation,” *Opt. Express*, 18(10), 10762-10774 (2010).
17. W. Verkruysse, L. O. Svaasand, and J. S. Nelson, “Remote plethysmographic imaging using ambient light,” *Opt. Express* **16**(26), 21434-21445 (2008).
18. Y. Sun, S. Hu, V. Azorin-Peris, S. Greenwald, J. Chambers, and Y. Zhu, “Motion-compensated noncontact imaging photoplethysmography to monitor cardiorespiratory status during exercise,” *J. Biomed. Opt.* 16, 077010 (2011).

CAPÍTULO II

Técnica de Montecarlo

2.1 INTRODUCCIÓN

En el capítulo anterior describimos los fenómenos de absorción, esparcimiento y el paso directo de fotones a través de una muestra de tejido biológico. En este capítulo trataremos una herramienta computacional estadística que permite simular la interacción de la radiación con el tejido, dicha herramienta de simulación del transporte de fotones se denomina técnica de Montecarlo. Los resultados de las simulaciones permiten determinar la viabilidad de diversas técnicas de análisis basadas en dos fenómenos. Uno de ellos es el desvío de los fotones de su trayectoria original. El otro fenómeno es la diferencia de fase que pueden sufrir los fotones balísticos, la cual serviría para realizar la caracterización de tejidos por medios interferométricos¹⁻⁴.

2.2 TEORÍA DE TRANSPORTE DE RADIACIÓN

La propagación de la radiación óptica en el tejido se describe de manera frecuente empleando la teoría de transporte de radiación, dicha teoría no considera los fenómenos de tipo ondulatorio como la interferencia. La ecuación de transporte de radiación describe la radiancia luminosa a través de un medio turbio en términos de coeficientes de absorción y esparcimiento. La ecuación se puede resolver analíticamente para geometrías simples, sin embargo, es más comúnmente resuelto por diferentes métodos numéricos, incluyendo, el análisis de Montecarlo, pasos aleatorios, y análisis de elementos finitos^{5,6}. De estas técnicas, el análisis de Montecarlo es quizás la más versátil y de uso común, se presta a geometrías complejas de tejido. La desventaja del método de Montecarlo es que demanda gran cantidad de recursos de hardware y requiere mucho tiempo de procesamiento. La técnica proporciona una simulación de la propagación de la luz en lugar de una solución directa a la ecuación de transporte de radiación, y como tal requiere simular un gran número de fotones para producir resultados precisos, la precisión de la simulación es proporcional a la raíz cuadrada del número de fotones utilizados. Las ecuaciones mostradas en las siguientes secciones fueron publicadas por Tuchin⁷, a menos que para alguna ecuación en específico se indique otra fuente. La ecuación de transporte de radiación para luz monocromática se expresa de la siguiente forma,

$$\nabla \cdot [\bar{s} L(\bar{r}, \bar{s})] = -\mu_t L(\bar{r}, \bar{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_0^{4\pi} L(\bar{r}, \bar{s}') p(\bar{s}, \bar{s}') d\Omega'. \quad (2.1)$$

donde \bar{s} es la dirección original de propagación, $L(\bar{r}, \bar{s})$ es la radiancia en el punto \bar{r} en la dirección \bar{s} , $L(\bar{r}, \bar{s}')$ es la radiancia en el punto \bar{r} en la dirección del esparcimiento \bar{s}' , $p(\bar{s}, \bar{s}')$ es la función de fase del esparcimiento, y $d\Omega'$ es la unidad de ángulo sólido en la dirección \bar{s}' y se supone que no existen fuentes de radiación al interior del medio.

La aproximación escalar de la ecuación de transporte de radiación proporciona poca precisión cuando el tamaño de los centros de esparcimiento es mucho menor que la longitud de onda, pero los resultados que proporciona mejoran sustancialmente para tamaños de partícula comparables con la longitud de onda o mayores.

La función de fase $p(\bar{s}, \bar{s}')$ describe las propiedades de esparcimiento del medio y es también la función de densidad de probabilidad para el esparcimiento en la dirección \bar{s}' para un fotón que viaja en la dirección \bar{s} . Si el esparcimiento es simétrico en relación a la dirección de propagación del haz incidente, entonces la función de fase depende únicamente del ángulo de esparcimiento θ entre las direcciones de \bar{s} y \bar{s}' .

$$p(\bar{s}, \bar{s}') = p(\theta). \quad (2.2)$$

Suponiendo una distribución aleatoria de los centros de esparcimiento en el medio, la cual correspondería a una falta de correlación espacial en la estructura del tejido, se tiene la siguiente normalización,

$$\int_0^\pi p(\theta) 2\pi \sin\theta d\theta = 1. \quad (2.3)$$

En la práctica la función de fase se aproxima de manera frecuente con la función de Henyey-Greenstein,

$$p(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos\theta)^{3/2}}, \quad (2.4)$$

donde g es el factor de anisotropía del esparcimiento y por definición es la media estadística del coseno del ángulo de esparcimiento θ .

$$g \equiv \langle \cos \theta \rangle = \int_0^\pi p(\theta) \cos \theta \cdot 2\pi \sin \theta d\theta. \tag{2.5}$$

El valor de g varía en el rango de -1 a 1. Un valor para $g=0$ corresponde a un esparcimiento isotrópico (característico del esparcimiento Rayleigh), $g=1$ es un esparcimiento frontal total (propio del esparcimiento Mie) y $g=-1$ corresponde a un retroesparcimiento total.

2.3 SIMULACIÓN DE MONTECARLO

La simulación de Montecarlo estima la trayectoria que puede seguir un paquete de fotones a través del tejido desde su punto de inyección y hasta su punto de detección. Conocer la trayectoria probable seguida por un paquete de fotones sirve para explicar la forma en que las técnicas de fotones balísticos y la fotopletismografía adquieren información del tejido⁸.

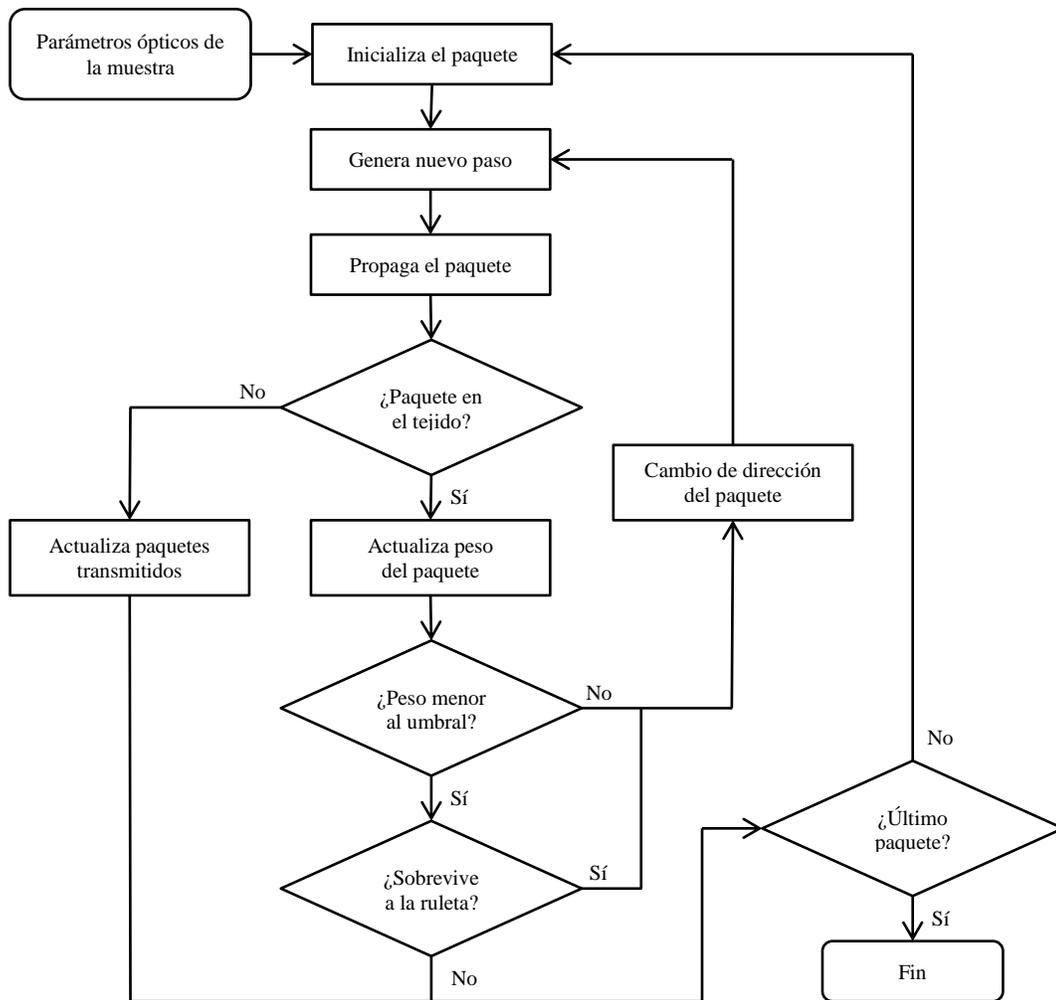


Figura 2.1. Diagrama de flujo para la simulación de Montecarlo. Un paquete de fotones con peso inicial w se propaga al interior del tejido, con cada interacción pierde peso y se desvía de su trayectoria anterior (absorción y esparcimiento) hasta que se extingue o logra emerger del tejido.

La figura 2.1 muestra el diagrama de flujo de la simulación de Montecarlo. El método simula un paquete de fotones que se propaga a través del medio. Tras su lanzamiento cada paquete tiene asignado un mismo peso w , con cada interacción de tejido una porción del peso del paquete se pierde debido a la absorción y el resto del paquete sufre esparcimiento de acuerdo con las propiedades ópticas del medio. Los paquetes continúan propagándose a través del medio hasta que su peso es inferior a un umbral y se extingue, o hasta que es transmitido o retroesparcido por el medio.

Durante la simulación se registra la ubicación tridimensional de cada paquete en coordenadas cartesianas (x, y, z) , los vectores unitarios correspondientes a cada eje (i, j, k) y la trayectoria del paquete mediante tres cosenos directores (μ_x, μ_y, μ_z) . Se define como el origen el punto en el que los paquetes se inyectan en el tejido, y este tejido puede estar formado por una o más capas de tejido con distintas características.

La atenuación del paquete de radiación se obtiene en base a los coeficientes de absorción μ_a y de esparcimiento μ_s definidos previamente. Estos coeficientes se definen como el valor medio de eventos de absorción y de esparcimiento por unidad de longitud, donde la unidad de longitud reportada en la literatura es el milímetro o el centímetro. La longitud media de paso que un paquete de fotones viaja sin interactuar con el medio se denomina longitud de camino libre y se describe de la siguiente manera.

$$l_{ph} = \frac{1}{\mu_a + \mu_s} = \frac{1}{\mu_t}. \quad (2.6)$$

Debido a que la luz que viaja en el tejido es atenuada de forma exponencial como lo marca la ley de Beer-Lambert, la función de densidad de probabilidad que describe la distribución l_{ph} también es exponencial y es proporcional a $\exp(-\mu_t l_{ph})$. El tamaño de paso correspondiente a esa función de densidad es generado por,

$$l = \frac{-\ln \xi}{\mu_t}, \quad (2.7)$$

Donde ξ es una variable aleatoria distribuida uniformemente entre 0 y 1 ($0 < \xi \leq 1$).

Debido a la absorción presentada por el medio, al término de cada paso cada paquete de fotones pierde una fracción de su peso, la cantidad de peso perdido está en función del albedo del medio y se expresa de la siguiente manera,

$$w_{n+1} = (1 - \Lambda)w_n, \quad (2.8)$$

donde n representa el número del paso, w_n representa el peso del paquete al inicio del paso y w_{n+1} el peso al término del mismo.

Para obtener la nueva posición del paquete de fotones se deben calcular 3 parámetros, la longitud de paso l , la desviación longitudinal θ y la desviación azimutal ϕ . La longitud de paso se calcula con la ecuación 2.7. La desviación longitudinal o polar es el ángulo con que el paquete de fotones se desvía de su trayectoria, esta variable no tiene una distribución uniforme y su cálculo se basa en la función de fase de Henyey-Greenstein,

$$\cos \theta = \begin{cases} \frac{1}{2g} \left\{ 1 + g^2 - \left[\frac{1 - g^2}{1 - g + 2g\xi} \right]^2 \right\} & g \neq 0 \\ 2\xi - 1 & g = 0. \end{cases} \quad (2.9)$$

En este caso $0 \leq \xi \leq 1$. La desviación azimutal es la dirección hacia donde el paquete desviará su trayectoria, esta variable tiene una distribución uniforme y se obtiene mediante,

$$\phi = 2\pi\xi. \quad (2.10)$$

La terminación de un paquete de fotones se puede dar por absorción dentro del tejido, en ese caso se evalúa si el peso del paquete está por debajo de un umbral predefinido, si es así se le introduce a una ruleta rusa. Si el paquete sobrevive a la ruleta rusa se multiplica su peso por un factor m y se continúa propagando, en caso contrario se termina. Para cumplir con el principio de conservación de la energía, la fracción de paquetes que sobrevive a la ruleta es m^{-1} . La otra manera de terminar un paquete se da cuando éste abandona el tejido, ya sea por transmisión o por retroesparcimiento.

2.4 MODELO ÓPTICO DE LA PIEL

La piel se forma por 3 capas principales, las cuales nombradas desde la superficie son la epidermis, la dermis y la hipodermis, las cuales se describen a continuación.

La epidermis es la capa externa de la piel, no contiene vasos sanguíneos que la irrigen y está formada en su mayoría por dos tipos de células: queratinocitos y melanocitos. Los queratinocitos son los responsables de la producción de queratina, proteína fibrosa que proporciona la flexibilidad y resistencia a la capa externa de la epidermis. Los melanocitos se localizan en la parte interna de la epidermis y producen un pigmento oscuro llamado melanina, la cual determina el color de la piel y la protege de la radiación exterior mediante absorción.

La dermis es el tejido interno de la piel y contiene una gran cantidad de vasos capilares conectados al sistema cardiovascular por medio de las arteriolas y las vénulas. La cama de vasos capilares es la encargada de recibir la sangre rica en oxígeno de las arterias, realizar el intercambio gaseoso de oxígeno por dióxido de carbono con las células de la dermis y regresar la sangre rica en dióxido de carbono y otros desechos a las venas.

La hipodermis o tejido subcutáneo es una capa de tejido formada principalmente por células adiposas que se encuentra por debajo de la piel, incorpora también una red de tejido conectivo que contiene vasos sanguíneos de mayores dimensiones así como nervios y vasos linfáticos.

El modelo óptico de la piel empleado en esta tesis es el propuesto por Valery Tuchin y comprende 5 capas^{7,9}. La primera capa es la epidermis y las cuatro capas siguientes están formadas por dermis. La segunda capa del modelo es la parte de la dermis que está en contacto con la epidermis y no contiene irrigación sanguínea. La tercera capa está formada por dermis con una capa de irrigación sanguínea formada por vasos capilares, la capa de vasos capilares es llamada *plexus superficialis*, y corre paralela a la superficie de la piel. La cuarta capa está formada por dermis y una red de capilares que conectan el plexus superficialis con el resto del sistema vascular. Los capilares de esta capa corren perpendiculares a la superficie de la piel y no alteran de manera significativa las propiedades ópticas de la dermis. La capa más profunda del modelo está formada por dermis y una red de capilares, vénulas y arteriolas denominada *plexus profundus*, esta red corre paralela a la superficie de la piel.

En la figura 2.2 se muestra un esquema del modelo de 5 capas. El esquema presentado en esta figura es representativo pero existen variaciones de una región del cuerpo a otra, las cuales pueden ser considerables.

La interacción de la radiación con el tejido biológico es un proceso complejo que involucra los fenómenos ópticos de reflexión, transmisión, absorción, esparcimiento y fluorescencia.

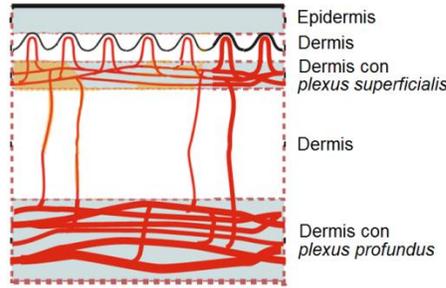


Figura 2.2. Modelo óptico de la piel de 5 capas. La capa exterior es la epidermis, debajo de ella se encuentra la dermis que contiene dos regiones vascularizadas que son: *plexus superficialis* y *plexus profundus*.

Cuando un haz de luz monocromática de intensidad I_0 incide en el medio, una parte de ella es transmitida mientras que otra parte es absorbida por el medio. La intensidad de la luz decrece exponencialmente al ir atravesando el medio y la misma se expresó en la ecuación (1.1). De esa ecuación podemos analizar el coeficiente de absorción de la muestra μ_a .

$$\mu_a(\lambda) = \varepsilon(\lambda)c \text{ [cm}^{-1}\text{]}, \quad (2.1)$$

donde $\varepsilon(\lambda)$ es el coeficiente de absorción molar del medio expresado generalmente en unidades $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{mm}^{-1}$ o también en $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, c es la concentración de la sustancia absorbente expresada en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Para que la ecuación de Beer-Lambert sea válida, la concentración debe ser constante a lo largo del medio. Se observa entonces que el coeficiente de absorción varía en función de la longitud de onda de la radiación incidente.

Del análisis anterior podemos establecer que ante una concentración conocida se puede determinar el coeficiente de absorción molar de la muestra (caracterización de tejido) y ante una absorción conocida se puede determinar la concentración de la sustancia en la muestra (análisis de tejido).

A continuación se muestran simulaciones de Montecarlo para transiluminación y retroesparcimiento, ambas enfocadas en determinar de manera remota la concentración de hemoglobina y oxihemoglobina de muestras.

2.5 SIMULACIÓN DE MONTECARLO PARA TRANSILUMINACIÓN.

Para aplicaciones de oximetría es necesario realizar mediciones de fotones balísticos en dos o más longitudes de onda¹⁰⁻¹⁶. A continuación presentamos los resultados de la simulación de Montecarlo para la detección de fotones balísticos aplicados a muestras de sangre con

diferentes saturaciones de oxígeno y un grosor de muestra de 1 cm. Se presenta una tabla con los parámetros ópticos de la sangre para las longitudes de onda empleadas típicamente en oximetría, estas son 660 y 940 nm.

Tabla 2.1. Parámetros ópticos empleados en la simulación de Montecarlo.

λ [nm]	SpO ₂ [%]	μ_a [cm ⁻¹]	μ_s [cm ⁻¹]	G	N
660	0	3.142	315	0.989	1.38
	25	2.702			
	50	2.262			
	75	1.822			
	100	1.382			
940	0	1.205	238	0.987	1.38
	25	1.364			
	50	1.522			
	75	1.681			
	100	1.840			

Observamos que el coeficiente de esparcimiento μ_s y el factor de anisotropía g no son dependientes de la saturación de oxígeno, y eso se explica debido a que un cambio en la saturación de oxígeno no cambia la forma ni el tamaño del glóbulo rojo.

A continuación se muestra el resultado de simular en Matlab® 10^6 paquetes de fotones para cada combinación de saturación de oxígeno y longitud de onda.

T_d representa la fracción de la radiación transmitida por la muestra. T_r representa la fracción de la radiación transmitida que al emerger de la muestra no se desvía más de 10 μm de la trayectoria original, sin importar la dirección en la que se propague. T_θ es la fracción de la radiación transmitida por la muestra que al emerger se propaga de forma paralela y cuasi-paralela a la trayectoria original sin importar el punto de salida del tejido. Los fotones balísticos no desvían su trayectoria, y por lo tanto se mantienen en la dirección original, sin alterar ni su orientación ni su posición de salida. T_b representa la fracción de paquetes de fotones que cumplen con ambas condiciones y que pueden ser considerados fotones balísticos. Podemos ver que a 660 nm, la cantidad de fotones balísticos aumenta al incrementarse la saturación de oxígeno, mientras que a 940 nm disminuye. Observamos que la cantidad de fotones balísticos que transiluminan una muestra de tejido biológico es muy pequeña y este hecho complica de manera importante su detección de manera experimental. En el capítulo 3 se propone una técnica experimental para la detección de fotones balísticos en la transiluminación de muestras biológicas.

Tabla 2.2. Resultados obtenidos en la simulación de Montecarlo

λ [nm]	SpO ₂ [%]	T_d	T_r	T_θ	T_b
660	0	8.834E-4	3.081E-8	1.384E-6	3.415E-12
	25	1.639E-3	2.519E-8	2.614E-6	4.016E-11
	50	3.145E-3	3.678E-8	4.188E-6	1.225E-11
	75	6.227E-3	1.906E-7	1.119E-5	1.681E-10
	100	1.292E-2	1.879E-7	1.956E-5	2.845E-10
940	0	2.131E-2	2.569E-7	2.809E-5	5.458E-10
	25	1.620E-2	2.131E-7	2.548E-5	4.162E-10
	50	1.251E-2	2.235E-7	1.809E-5	3.135E-10
	75	9.756E-3	1.958E-7	1.553E-5	2.373E-10
	100	7.576E-3	1.607E-7	1.253E-5	1.582E-10

2.6 SIMULACIÓN DE MONTECARLO PARA RETROESPARCIMIENTO.

La radiación que atraviesa el tejido humano no solo se divide en la parte transmitida y absorbida como lo contempla la ley de Beer-Lambert, también parte de esa radiación es reflejada por la superficie y esparcida por los tejidos¹⁷⁻²¹. La cantidad de radiación transmitida por la piel que interactúa con las capas vascularizadas de la dermis (*plexus superficialis* y *profundus*) y que es retroesparcida hasta llegar al detector es afectada por muchos factores, entre ellos el volumen sanguíneo, el movimiento de las paredes vasculares, la orientación de los glóbulos rojos y la longitud de onda de la radiación incidente.

Realizamos las simulaciones empleando el modelo de cinco capas. La radiación incidente se modela como un haz monocromático de diámetro infinitesimalmente pequeño y con incidencia normal al tejido. Simulamos la interacción en 4 longitudes de onda distintas, las cuales son 577, 633, 805 y 940 nm. Los parámetros ópticos de las capas de la piel se encuentran bien documentados para 577 y 633 nm mas no para 805 y 940 nm. Sin embargo, 940 nm es una longitud de onda ampliamente usada en oximetría de pulso comercial y 805 nm es el punto isosbético de la hemoglobina y la oxihemoglobina. La tercera longitud de onda se incluye también en algunos sistemas comerciales que cuentan con algoritmos de autocalibración.

Para poder realizar las simulaciones de Montecarlo interpolamos los parámetros ópticos de la sangre, la epidermis y la dermis necesarios para el modelo de cinco capas para las longitudes de onda de 805 y 940 nm a partir de parámetros ópticos reportados en la literatura. La tabla 3 muestra los parámetros ópticos empleados en las simulaciones cuando la saturación de oxígeno en la sangre es del 100% y el ciclo cardiaco presenta la fase sistólica

Corrimos la simulación para seis saturaciones de oxígeno distintas, las cuales son 50, 70, 80, 90, 95 y 100%. Para cada saturación de oxígeno se simula la interacción con las cuatro longitudes de onda presentadas en la tabla 2.3. Para poder ver los efectos pulsátiles se simulan también las fases de sístole y diástole. En cada simulación se emplean 10^6 paquetes de fotones.

Tabla 2.3. Parámetros ópticos de la piel empleados en la simulación. Los parámetros son para la fase diastólica y saturación de oxígeno = 100%.

Capa de la piel	λ [nm]	μ_a [cm ⁻¹]	μ_s [cm ⁻¹]	G	N	d [μm]
Epidermis	577	10.70	120.0	0.78	1.5	100
	633	4.30	107.0	0.79		
	805	1.66	18.3	0.80		
	940	0.64	16.2	0.80		
Dermis	577	3.00	205.0	0.78	1.4	200
	633	2.70	187.0	0.82		
	805	1.18	11.4	0.80		
	940	0.77	9.7	0.80		
Dermis con <i>plexus superficialis</i>	577	5.20	219.0	0.78	1.4	200
	633	3.30	192.0	0.82		
	805	1.41	40.1	0.81		
	940	1.18	33.0	0.81		
Dermis	577	3.00	205.0	0.78	1.4	900
	633	2.70	187.0	0.82		
	805	1.18	11.4	0.80		
	940	0.77	9.7	0.80		
Dermis con <i>plexus profundus</i>	577	6.00	225.0	0.78	1.4	600
	633	3.40	194.0	0.82		
	805	1.45	45.9	0.81		
	940	1.26	37.7	0.81		

Tabla 2.4. Cantidad promedio de paquetes de fotones reflejados.

S _p O ₂ [%]	Longitud de onda [nm]			
	577	633	805	940
50	189204	237599	133205	151159
70	187970	238760	133063	149500
80	187227	239754	133243	148615
90	186549	240319	133119	147655
95	185968	240645	133166	147303
100	186095	241071	133214	146960

Como resultado de la simulación de las fases del ciclo cardiaco obtenemos la cantidad de paquetes reflejados en cada una de ellas. En la tabla 2.4 se muestra la cantidad promedio de paquetes de fotones.

Observamos que la cantidad de paquetes de fotones reflejada para 577 y 940 nm disminuye con el aumento de la saturación de oxígeno, mientras que para 633 nm aumenta y para 805 nm se mantiene constante. En la tabla 2.5 se muestra la amplitud de la señal pulsátil mediante la diferencia entre los paquetes de fotones reflejados en la fase diástole menos los reflejados en la fase sístole.

Tabla 2.5. Diferencia entre la cantidad de paquetes de fotones reflejados en las fases de diástole y sístole.

S_pO_2 [%]	Longitud de onda [nm]			
	577	633	805	940
50	17073	3273	-15229	-14965
70	17531	2514	-15324	-14054
80	16710	2440	-15515	-13562
90	16964	1847	-15434	-13063
95	16644	2070	-15299	-13024
100	16840	1250	-15299	-12925

Observamos que la amplitud de la señal pulsátil más débil se presenta a los 633 nm, mientras que para las otras longitudes de onda la señal es de mayor amplitud. También observamos que el pico de amplitud para las longitudes de onda simuladas en el rango visible se obtiene en la fase de diástole, mientras que dicho pico se presenta en la fase de sístole para las longitudes de onda en la región NIR.

En el presente capítulo presentamos la teoría de transporte de radiación en tejidos así como la forma de aplicar el método de Montecarlo para estimar las trayectorias que siguen los paquetes de fotones a través del tejido. Presentamos también simulaciones que permiten identificar la propagación de fotones balísticos a través de una muestra y finalmente una simulación que nos permite estimar la cantidad de radiación que logra penetrar al interior de la piel, interactuar con las capas vascularizadas de la dermis y retroesparcirse llevando información PPG al exterior.

En el siguiente capítulo describimos un método experimental para la separación de fotones balísticos y también la teoría que predice la concentración de centros de absorción y esparcimiento del camino integrado para una muestra.

2.7 REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

1. G. Paez, M. Strojnik, M. Scholl, "Interferometric tissue characterization: I. Theory," in *Infrared Spaceborne Remote Sensing 2005*, M. Strojnik, Ed., Proc. SPIE **5883**, Bellingham (WA), 58830Y (2005).
2. M. Strojnik, G. Paez, "Interferometric tissue characterization: II. Experimental," in *Infrared Spaceborne Remote Sensing 2005*, M. Strojnik, Ed., Proc. SPIE **5883**, Bellingham (WA), 58830W (2005).
3. M. Strojnik, G. Paez, "Interferometric tissue characterization: III. Calibration," in *Infrared Spaceborne Remote Sensing 2005*, M. Strojnik, Ed., Proc. SPIE **5883**, Bellingham (WA), 58830V (2005).
4. G. Paez, M. Strojnik, S. Scholl, "Interferometric tissue characterization: IV. Material coherence function," in *Infrared Spaceborne Remote Sensing 2005*, M. Strojnik, Ed., Proc. SPIE **5883**, Bellingham (WA), 58830X (2005). Kim, "Transport theory for light propagation in biological tissue," *J. Opt. Soc. Am. A* **21**(5), 820-827 (2004).
5. A. Ishimaru, *Wave propagation and scattering in random media*, Wiley-IEEE Press, Piscataway (NJ), 145-167 (1991).
6. L. Wang, S. Jacques, L. Zheng, "MCML - Monte-Carlo modeling of light transport in multilayered tissues," *Comput. Meth. Prog. Biomed.* **47**(2), 131-146 (1995).
7. V. V. Tuchin, *Tissue optics: light scattering methods and instruments for medical diagnosis*, SPIE, Bellingham (WA), (2007).
8. P. Vacas-Jacques, M. Strojnik, G. Paez, "Monte-Carlo simulation of photon trans-illumination time of flight," in *Novel Optical Instrumentation for Biomedical Applications III*, C. Depeursinge, Ed., Proc. SPIE **6631**, Bellingham (WA), 663114 (2007).
9. E. Salomatina, B. Jiang, J. Novak, and A. N. Yaroslavsky, "Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range," *J. Biomed. Opt.* **11**(6), 064026 (2006).
10. C. Vazquez-Jacaud, G. Paez, M. Strojnik, M. Scholl, "Ballistic photons in tissue characterization study," in *Optical Diagnostics and Sensing IX*, G. Coté, Ed., Proc. SPIE **7186**, Bellingham (WA), 71860P (2009).
11. G. Popescu and A. Dogariu, "Ballistic attenuation of low-coherence optical fields," *Appl. Opt.* **39**, 4469-4472 (2000).
12. H.J. van Staveren, C.J. Moes, J. van Marle, S.A. Prahl, and M.J. van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm," *Appl. Opt.* **30**, 4507-4514 (1991).
13. M. Bondani, D. Redaelli, A. Spinelli, A. Andreoni, G. Roberti, P. Riccio, R. Luizzi, and I. Rech, "Photon time-of-flight distributions through turbid media directly measured with single-photon avalanche diodes," *JOSA* **20**, 2383-2388 (2003).

14. P. Vacas-Jacques, G. Paez, M. Strojnik, "Pass-through photon-based biomedical transillumination," *J. Biomed. Opt.* **13**(4), 041307 (2008).
15. P. Vacas-Jacques, M. Strojnik, G. Paez, "Effects of spectral dependence in passthrough photon-based biomedical transillumination," *J. Innov. Opt. Health Sci.* **2**(3), 235-244 (2009).
16. P. Vacas-Jacques, M. Strojnik, G. Paez, "Forward-calculated analytical interferograms in pass-through photon-based biomedical transillumination," *J. Opt. Soc. Am. A* **26**(3), 602-612 (2009).
17. M. C. Michalski, V. Briard, and F. Michel, "Optical parameters of milk fat globules for laser light scattering measurements," *Le lait* **81**(6), 787-796 (2001).
18. A. G. Jarry, L. Poupinet, J. Watson, and T. Lepine, "Extinction measurements in diffusing mammalian tissue with heterodyne detection and a titanium: sapphire laser," *Appl. Opt.* **34**, 2045–2054 (1995).
19. A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn, and G. Müller, "Optical Properties of Circulating Human Blood in the Wavelength Range 400–2500 nm," *J. Biomed. Opt.* **4**(1), 36-46 (1999).
20. S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: a review," *Phys. Med. Biol.* **58**, R37-R61 (2014).
21. W. Cheong, S. Prahl, A. Welch, "A review of the optical properties of biological tissues," *IEEE J. Quantum Elect.* **26**(12), 2166-2185 (1990).

Caracterización de Tejido con Fotones Balísticos

3.1 INTRODUCCIÓN

En el capítulo 2 presentamos simulaciones de Montecarlo que permiten modelar la propagación de fotones balísticos a través de una muestra biológica. En este capítulo mostramos un nuevo método para separar los fotones balísticos de aquellos que son esparcidos, con el propósito de emplearlo en la caracterización de tejido. Implementamos un arreglo experimental de Mach-Zehnder en el que los fotones balísticos atraviesan la muestra y sufren un retraso debido únicamente al índice de refracción de la muestra. Incorporamos un espejo móvil en un actuador piezoeléctrico en el brazo de la muestra para detectar la amplitud del término de modulación y presentamos la teoría que predice la concentración de centros de absorción y esparcimiento en la muestra.

El empleo de la óptica en el diagnóstico médico se ha fortalecido con el desarrollo de nuevas tecnologías tales como láseres pulsados de alta potencia o fotodetectores de respuesta casi instantánea¹⁻³. El diagnóstico biomédico se basa en gran medida en la caracterización de muestras de tejido empleando técnicas ópticas basadas en los fenómenos de reflexión, transmisión^{4,5}, absorción y esparcimiento⁶⁻⁹. Muchas de estas técnicas emplean la transiluminación de tejidos para garantizar que la totalidad del volumen de la muestra sea analizada⁶⁻¹⁵.

En la figura 3.1 se muestra la interacción luz-tejido. Cuando el haz luminoso incide en un medio como el tejido biológico, el cual contiene centros de absorción y esparcimiento, se identifican tres fenómenos: esparcimiento, absorción y paso directo. Al fenómeno del paso directo se le conoce también como fotones balísticos. La transmisión de un haz láser a través del tejido ocasiona una mezcla de fotones balísticos y esparcidos, estos últimos adquieren un retraso de fase debido a las múltiples colisiones internas. Únicamente la fracción delantera de la radiación transmitida está asociada a los fotones balísticos, sin embargo es difícil separar los fotones balísticos de los esparcidos frontalmente. La falta de un retraso de fase es la

característica distintiva de los fotones balísticos, y es la que permite separarlos del resto. En un interferómetro solo la radiación coherente participa en la formación del patrón de interferencia.

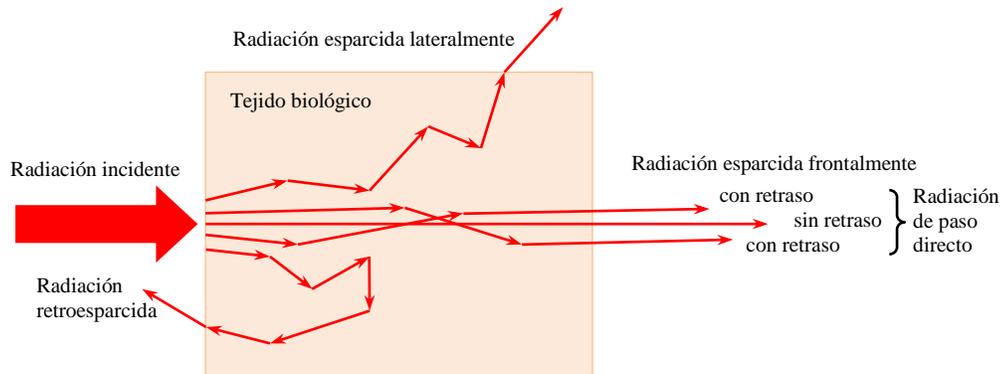


Figura 3.1. Fenómenos que se producen cuando un haz láser interactúa con el tejido. Se presenta absorción, esparcimiento y también paso directo de fotones. La radiación de paso directo o fotones balísticos son los primeros que emergen mientras que los fotones en zigzag logran retomar la trayectoria original pero presentan un retraso en relación con los fotones balísticos.

3.2 MODULACIÓN DE HACES BALÍSTICOS

En los estudios de transiluminación de tejido solamente la fracción delantera de la señal transmitida incluye a los fotones balísticos que atravesaron la muestra. Una gran cantidad de la radiación transmitida sufrió esparcimiento y por lo tanto incluye un retraso de fase. Para esta técnica separamos los fotones balísticos de los esparcidos empleando el arreglo interferométrico de Mach-Zehnder. Un arreglo experimental interferométrico permite la formación de patrones de interferencia exclusivamente entre los fotones del haz de referencia y los de paso directo por la muestra que lograron conservar la coherencia^{24,25}. En el proceso de identificación de fotones balísticos se prefiere un interferómetro de un solo paso a un interferómetro de dos pasos (Michelson) debido a que el primero muestra una mejor sensibilidad²⁶⁻²⁸. En el capítulo anterior realizamos estudios de simulación de Montecarlo en la transiluminación de una muestra de tejido biológico. Determinamos que existe una probabilidad finita, más no cero, de que algunos fotones retomen su ruta original después de múltiples reflexiones²⁹. En el arreglo experimental nos esforzamos por eliminar esos fotones previo a su incidencia en el detector porque representan ruido.

Primero consideraremos por separado el caso del esparcimiento y luego el de la absorción, a pesar de que en el tejido ocurren a menudo de manera simultánea. La muestra puede ser caracterizada por la función de transmisión que define el número de fotones balísticos transmitidos en una coordenada específica (x,y) sobre el número de fotones que inciden en la muestra,

$$T(x, y; D) = \frac{P_{out}(x, y; D)}{P_{in}(x, y; 0)}, \quad (3.1)$$

donde $(x, y; 0)$ es el punto de incidencia de la radiación en la muestra y $(x, y; D)$ es el punto de salida de la radiación. Para el proceso de medición se establece un interferómetro de caminos iguales, de tal manera que ambos brazos tengan casi la misma longitud de caminos ópticos en ausencia de la muestra.

3.2.1 Factor de esparcimiento β_s

La radiación sufre pérdidas de Fresnel al entrar y salir del recipiente que contiene la muestra, en este caso se desprecian las pérdidas ya que sus efectos pueden ser calibrados. La cantidad de radiación transmitida a través de la muestra depende de los coeficientes locales de esparcimiento de la misma, $\mu_s(x, y)$. Cuando la muestra es homogénea la función de esparcimiento es constante a lo largo de z , sin embargo si la muestra está formada por capas de distintos materiales o tejidos diversos, la función de esparcimiento está en función de z . La detección de diferencias en las características de los tejidos observados transversalmente revelaría el crecimiento potencial de una nueva lesión cuando se trate de pacientes post-operatorios monitoreados por la recurrencia de algún padecimiento. Los instrumentos empleados actualmente para este tipo de monitoreo incluyen la tomografía de emisión de positrones (*positron emission tomography, PET*) y tomografía computarizada (*computed tomography, CT*), ambas técnicas resultan costosas y dañinas para el paciente. La resolución transversal es de 8 a 9 mm en el mejor de los casos. Suponemos que la radiación transmitida a través de una muestra de espesor $D(x, y)$ se atenúa exponencialmente de acuerdo a la ley de Beer-Lambert. En nuestro experimento de prueba de concepto sólo una pequeña área es probada a la vez,

$$P_{out}(x, y; D) = P_{in}(x, y; 0) \exp[-\mu_s(x, y)D(x, y)] [W]. \quad (3.2)$$

P_{in} es la potencia de haz incidente, supuesta de manera uniforme a lo largo de la superficie de la muestra. P_{out} es la potencia del haz de salida transmitido por la muestra. D es el espesor de la muestra, medido a lo largo del eje z , que es la dirección de propagación del haz. El espesor de la muestra puede ser función de las coordenadas transversales para muestras con espesor no uniforme. El coeficiente de esparcimiento μ_s es proporcional al número de partículas de esparcimiento por unidad de volumen.

$$\mu_s(x, y, z) = \beta_s c_s(x, y, z) [m^{-1}]. \quad (3.3)$$

c_s es la concentración volumétrica de la muestra y está dada en mililitros de soluto (centros de esparcimiento) por litro de solución [$\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$]. β_s es una constante de proporcionalidad y representa el factor de esparcimiento intrínseco del tejido, éste se da en [$\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}\text{m}^{-1}$]. La primera m de las unidades se refiere al prefijo mili, o 10^{-3} , mientras que la segunda m denota metro, la unidad de distancia del sistema métrico decimal. El coeficiente β_s puede determinarse para cada material o tejido de interés durante la calibración, después de medir la cantidad de radiación para diversas concentraciones de centros de esparcimiento en las muestras de calibración. La potencia transmitida por la muestra puede expresarse en términos de la concentración de centros de esparcimiento y el espesor de la muestra.

$$T_s(x, y; D_s) = \exp[-\beta_s c_s(x, y)D_s(x, y)]. \quad (3.4)$$

Una muestra general puede incluir diversos materiales, por ejemplo en la transiluminación de un dedo se encontrará piel, músculo, hueso, músculo y piel. Cada uno de estos tejidos tiene sus propias características de transiluminación. Durante la calibración se determinan las características de transmisión de cada material por separado y en condiciones controladas.

La fracción de radiación transmitida después del proceso de absorción a lo largo del camino directo puede encontrarse de manera similar como una función de concentración de centros de absorción.

3.2.2 Factor de absorción β_a

La potencia transmitida a través de una muestra que presenta absorción puede también ser expresada como una función exponencial decreciente.

$$P_{out}(x, y; D) = P_{in}(x, y; 0) \exp[-\mu_a(x, y)D(x, y)] [W]. \quad (3.5)$$

μ_a es el coeficiente de absorción de la muestra expresado en [m^{-1}]. El coeficiente de absorción es proporcional al número de centros de absorción por unidad de volumen, es decir la concentración de partículas absorbentes, c_a , y β_a es el factor de absorción expresado en [$\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}\text{m}^{-1}$].

$$\mu_a(x, y, z) = \beta_a c_a(x, y, z) [m^{-1}] \quad (3.6)$$

La potencia transmitida a través de la muestra puede ser expresada en términos de la concentración de centros de absorción y el espesor de la muestra.

$$T_a(x, y; D_a) = \exp[-\beta_a c_a(x, y) D_a(x, y)]. \quad (3.7)$$

El coeficiente β_a puede de la misma manera ser determinado para cada material o tejido de interés durante la calibración, después de medir la cantidad de radiación transmitida para diversas muestras con diferentes concentraciones.

3.2.3 Tejido transiluminado con centros de absorción y esparcimiento

Muchas de las muestras contendrán centros de absorción y esparcimiento a distintas concentraciones. En el caso de que distintas partículas sean las responsables por la absorción y el esparcimiento, la ecuación 3.1 se convierte en:

$$T(x, y; D) = T_a[x, y; D_a(x, y)] \cdot T_s[x, y; D_s(x, y)]. \quad (3.8)$$

La función de transmisión en este caso puede también expresarse como una función exponencial.

$$T(x, y; D) = \exp\{-[\mu_s(x, y) D_s(x, y) + \mu_a(x, y) D_a(x, y)]\}. \quad (3.9)$$

También podemos presentar la función de transmisión en términos de la concentración de los centros de absorción y esparcimiento.

$$T(x, y; D) = \exp\{-[\beta_s c_s(x, y) D_s(x, y) + \beta_a c_a(x, y) D_a(x, y)]\}. \quad (3.10)$$

La cantidad de radiación transmitida que no está sujeta a los fenómenos de esparcimiento o absorción puede ser medida con el arreglo interferométrico tradicional.

3.2.4 Patrones de interferencia formados por dos haces desiguales

La potencia en un patrón de interferencia de dos haces desiguales que inciden en la superficie de un detector se describe como una función de la posición y del tiempo, $P(x, y; t)$. Cuando se emplea un arreglo de detectores la potencia en cada pixel se integra a lo largo de toda su área activa y éste incluye un término constante en el tiempo, también llamado término DC, $P_0(x, y)$ y el producto de una potencia modulada $P_m(x, y)$ y un término cosenoidal. La frecuencia

angular del modulador de desplazamiento piezoeléctrico es ω , y el término de fase ϕ_0 debe ser incluido como fase inicial.

$$P(x, y; t) = P_0(x, y) + P_m(x, y) \cos(\omega t + \phi_0) \quad (3.11)$$

La dependencia temporal de la expresión de potencia proviene solamente de la modulación del camino óptico en el haz de la muestra. Sin ésta el valor de potencia para un punto dado (x, y) correspondería a un nivel específico de gris. Debido al desplazamiento de fase ϕ_0 , el término de modulación no alcanzaría su valor más alto. Además de lo anterior, la señal se degradaría debido al elevado nivel de ruido $1/f$ cuando la frecuencia tiende a 0. El campo eléctrico transmitido por la muestra en el detector es:

$$E_s(x, y; t) = [P_{in} T_{so} T(x, y; D)]^{1/2} \cos(\omega t + \phi_0). \quad (3.12)$$

El factor T_{so} denota las pérdidas por transmisión en el brazo de la muestra del interferómetro que provienen de los componentes ópticos, incluyendo ambos divisores de haz y la reflexión en el espejo. El último factor T en (3.12) es la función de transmisión dada por la ecuación (3.10), la cual se interpreta como una transmisión de potencia. El campo eléctrico propagado en el brazo de referencia puede encontrarse de la misma manera en el detector, es decir:

$$E_r(x, y; t) = [P_{in} T_{ro}]^{1/2} \quad (3.13)$$

Donde T_{ro} denota las pérdidas en dicho brazo. La variación temporal expresada en la ecuación (3.11) se introduce para que en algún momento del tiempo, t_1 , ambos campos estén en fase para generar un máximo de amplitud en el patrón de interferencia. Finalmente, la potencia es proporcional al producto del campo eléctrico total y su conjugado, denotado por $*$.

$$P(x, y; t_1) = [E_s(x, y; t_1) + E_r(x, y; t_1)] \times [E_s(x, y; t_1) + E_r(x, y; t_1)]^* \quad (3.14)$$

La potencia incluye dependencia del coseno debido a que la longitud de camino óptico del haz de la muestra está modulada.

$$P(x, y; t_1) = P_{in} T_{so} T(x, y; D) + P_{in} T_{ro} + 2[P_{in} T_{ro}]^{1/2} \times [P_{in} T_{ro} T(x, y; D)]^{1/2} \cos(\omega t_1 + \phi) \quad (3.15)$$

La frecuencia de los patrones de interferencia está al doble y se introduce una fase inicial diferente ϕ . El resultado de la ecuación (3.15) es interesante en el sentido de que la potencia

para un punto (x,y) es dependiente de las características de transmisión de la muestra en ambos términos, pero con un exponente diferente: es 1 en el valor de DC y 1/2 en su amplitud.

$$P(x, y; t) = P_{in} \left\{ T_{so} T(x, y; D) + T_{ro} + 2[T_{so} T_{ro}]^{1/2} \times [T(x, y; D)]^{1/2} \cos(\omega t + \varphi) \right\}. \quad (3.16)$$

Eliminamos la potencia promedio de la señal con la función del osciloscopio de filtrar la componente de DC. Cuando una forma de onda dependiente en el tiempo se despliega en el osciloscopio para un punto específico (x,y) , observamos que la potencia en el detector despliega una dependencia senoidal cuando la diferencia de camino óptico cambia de 0 a λ . Esta forma de onda senoidal está indicada de manera esquemática en el lado derecho de la figura 3.2. Indicamos tres posibles formas de onda desplegadas en el osciloscopio con tres niveles de gris diferentes. El eje horizontal del tiempo corresponde a la diferencia de camino óptico en el brazo del objeto. El eje vertical es proporcional a la raíz cuadrada de la transmisión de la muestra $T(x,y;D)$ con la constante de proporcionalidad igual a la potencia incidente multiplicada por las pérdidas ópticas del campo en ambos brazos del interferómetro. Bajo la pantalla del osciloscopio, indicamos tres patrones representativos para transmisión baja, media y alta de la muestra.

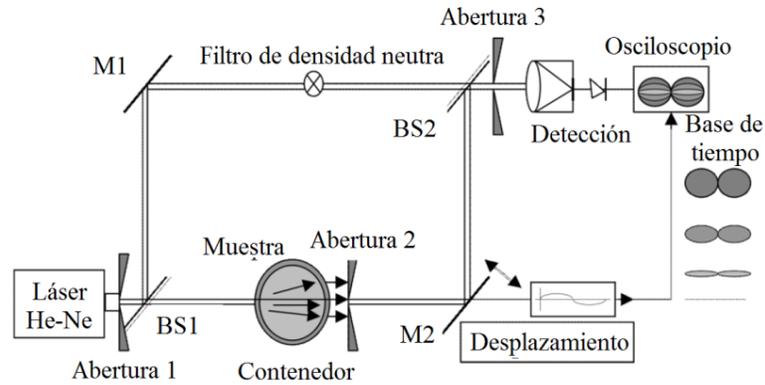


Figura 3.2. Esquema del arreglo experimental basado en un interferómetro de Mach-Zehnder que identifica los fotones balísticos. La muestra está formada por tejido biológico y las aberturas 2 y 3 impiden la propagación hacia el detector de los fotones esparcidos, lo cual permite la detección de los fotones balísticos.

El mismo nivel de gris registrado para una muestra de transmisión baja en condiciones de interferencia en fase también se puede obtener cuando la onda en el haz de referencia y el haz de muestra están fuera de fase para muchas funciones de transmisión de muestras diferentes. Por lo tanto, es necesario muestrear la amplitud del patrón de interferencia cuando los haces están en fase.

3.2.4.1 Amplitud de potencia.

La amplitud de potencia en el detector es la mitad de la diferencia entre el máximo y el mínimo de potencia: esto se logra cuando el coseno es igual a 1 y -1, respectivamente. El desplazamiento piezoeléctrico se incorpora en el sistema para generar dependencia temporal y proporcionar control de la base de tiempo del osciloscopio.

$$P_{\max}(x, y) = P_{in} \left\{ T_{so} T(x, y; D) + T_{ro} + 2[T_{so} T_{ro}]^{1/2} \times [T(x, y; D)]^{1/2} \right\} \quad (3.17)$$

$$P_{\min}(x, y) = P_{in} \left\{ T_{so} T(x, y; D) + T_{ro} - 2[T_{so} T_{ro}]^{1/2} \times [T(x, y; D)]^{1/2} \right\}. \quad (3.18)$$

Las ecuaciones (3.17) y (3.18) son trinomios cuadrados perfectos. El término de modulación de potencia es en realidad la amplitud de potencia de los haces de muestra y referencia que interfieren. Este valor resulta de la diferencia entre los valores de potencia máxima y mínima.

$$P_a(x, y) = P_{in} [T_{so} T_{ro}]^{1/2} \times [T(x, y; D)]^{1/2} \quad (3.19)$$

Por lo tanto encontramos que la amplitud de potencia del patrón de interferencia es proporcional a la transmisión del campo en la muestra. Ésta, a su vez, contiene la información sobre la concentración de los factores de absorción y esparcimiento de la muestra, de acuerdo con las ecuaciones (3.3), (3.7), o (3.10). Obviamente, la amplitud de potencia se incrementa para una mayor potencia incidente de láser y una mayor transmisión de los componentes ópticos en cada brazo del interferómetro.

Para una configuración experimental específica, los dos primeros factores en la ecuación (3.19) son constantes y conocidos. El tercero depende de la muestra en el punto de prueba. Por lo tanto, distintos valores de potencia detectada en el mismo arreglo experimental indican diferentes valores de concentración de la muestra para centros de absorción y esparcimiento, indicando potencialmente una lesión.

3.2.4.2 Potencia promedio.

Para completar el análisis, también evaluamos la potencia promedio P_{ave} , que es igual a la mitad de la suma de las potencias máxima y mínima.

$$P_{ave}(x, y; D) = P_{in} [T_{so} T(x, y; D) + T_{ro}] \quad (3.20)$$

Como se mencionó después de la ecuación (3.15), este resultado es interesante ya que la potencia promedio para un punto (x,y) depende también de las características de transmisión

de la muestra en este punto. En el arreglo experimental descrito en la siguiente sección, empleamos un esquema de filtrado de DC para eliminar la señal de potencia promedio. La señal para cada punto es medida y mostrada en un osciloscopio con la base de tiempo manejada por el controlador del modulador piezoeléctrico. Cuando el osciloscopio se dispara sólo se registra la amplitud de potencia.

Los fotones balísticos preservan su coherencia temporal con respecto a los del brazo de referencia y generan un patrón de interferencia. A partir de la modulación en el patrón de interferencia determinamos la densidad del tejido local y sus variaciones de los niveles normales. Por lo tanto, podemos determinar la concentración de centros de absorción y esparcimiento integrados en la trayectoria. A continuación describimos el arreglo experimental Mach-Zehnder modificado para apreciar las complejidades de esta técnica de medición.

3.3 ARREGLO EXPERIMENTAL

Empleamos interferometría de dos haces de intensidad desigual para compensar la gran atenuación en el brazo de la muestra. Utilizamos un arreglo experimental que incorpora el interferómetro de Mach-Zehnder para distinguir entre los fotones de paso directo a través de la muestra y los esparcidos. Su disposición esquemática se presenta en la figura 3.2 y su montaje de laboratorio en la figura A.1 del apéndice A. Ambos brazos del interferómetro tienen aproximadamente la misma longitud de camino óptico previo a la colocación de la muestra.

Un láser de Helio-Neón de 3 mW de potencia (Oriel), que emite radiación a 633 nm, proporciona la iluminación coherente. En las aplicaciones reales de caracterización de tejido se prefieren las longitudes de onda en el infrarrojo cercano debido a las características de los tejidos biológicos de menor absorción y esparcimiento en esta región espectral. Las longitudes de onda visibles tienen una ventaja evidente durante la evaluación de la viabilidad y la caracterización de esta técnica.

Se utiliza un haz láser de diámetro pequeño para muestrear una zona pequeña en el tejido y lograr una alta resolución espacial. En la práctica, este haz de prueba hace un barrido sobre el área completa de la muestra para evaluar sus características de transmisión a lo largo de toda la superficie. El haz que pasa a través del objetivo de microscopio es expandido y filtrado espacialmente. El objetivo de microscopio se representa en el diagrama con una caja cuadrada a la salida del láser. La abertura que limita la extensión espacial del haz de prueba define la resolución espacial en el objeto, haciéndolo más pequeño que el diámetro real del haz láser.

Dentro de la muestra, la radiación puede ser esparcida de forma simple o múltiple, en función de la concentración de partículas de esparcimiento en ella. Los rayos pueden esparcirse en todas direcciones. Sin embargo, para la transmisión y posterior detección de los fotones balísticos, la radiación esparcida frontalmente representa ruido altamente nocivo que debe eliminarse. Cualquier rayo que sufra la más pequeña desviación de su trayectoria original de propagación se presume que participó en el esparcimiento y por lo tanto representa el ruido no deseado. Los fotones esparcidos dentro del pequeño cono cercano a la trayectoria original de propagación se eliminan en gran medida con una abertura justo después de la muestra ya que la apertura transmite sólo los fotones balísticos.

Un espejo que cambia la dirección del haz es montado en un actuador piezoeléctrico cerámico de circonato y titanato de plomo (PZT) para controlar el camino óptico en el brazo de la muestra. Cuando el camino óptico se cambia de cero hasta media longitud de onda, el retraso de fase varía de 0 a π radianes. Esto permite a la señal en el detector oscilar entre una modulación cero (cuando los haces de referencia y balístico están fuera de fase) y el máximo de modulación (cuando están en fase).

Los divisores de haz son empleados para dividir y recombinar los haces. El primero de ellos es una placa plano-paralela de vidrio pulido que transmite la mayor parte de la potencia al brazo de la muestra en una relación 98% transmisión y 2 % reflexión (98/2). En el brazo de la muestra se espera que la mayoría de la radiación se pierda debido a la absorción y el esparcimiento al transiluminar muestras, por ejemplo de tejidos biológicos.

En el brazo de referencia, que tiene el 2% de la potencia transmitida, hay solamente dos componentes ópticos: un espejo para cambio de dirección del haz y un filtro de transmisión variable que puede ser ajustado para maximizar el contraste del patrón de interferencia, a juicio de un observador humano, dependiendo de la densidad máxima de la muestra. Una vez hecho esto, ambos haces tienen potencias muy similares al llegar al detector, lo que resulta en una máxima visibilidad. Existe una amplia gama de filtros atenuadores en el mercado, con una capacidad de atenuación de la amplitud de la señal de hasta 10^{-3} , que corresponde a una atenuación de la potencia de 10^{-6} .

La señal transmitida a través de la muestra se codifica en amplitud con un esquema de modulación de fase. Empleando el actuador piezoeléctrico (PZT) para el desplazamiento controlado del espejo en el brazo de la muestra, la trayectoria óptica recorrida por los fotones balísticos puede ser modificada para compensar el retardo de fase introducido por la muestra y los componentes ópticos. La potencia detectada se dispara para registrar el pico de amplitud de

la señal de interferencia. Este valor corresponde al producto de las ondas de los dos brazos del interferómetro cuando inciden en fase sobre el detector.

El haz de referencia y el haz de la muestra se superponen en el segundo divisor de haz. Como el divisor de haz es parcialmente reflectante y parcialmente transmisor, se producen dos patrones de interferencia, de acuerdo a la figura 3.2, uno por encima del divisor y el otro a su derecha. Para simplificar la figura se ilustra solamente el patrón que incide en el detector. El haz de fotones balísticos altamente atenuado se transmite de nuevo en el segundo divisor de haz, con la relación de transmisión de 98/2, expandiendo una vez más el rango dinámico por un factor de cien. Los fotones balísticos pasan a través de una tercera abertura, con un diámetro igual a la de la segunda. La función de la tercera abertura es producir una segunda mejora de contraste mediante la eliminación de cualquier rayo esparcido o divergente que pudiera haber permanecido en el haz. Justo después de la abertura, se usa una lente para proyectar la radiación superpuesta de ambos brazos del interferómetro sobre la superficie del detector. Una cámara Apogee de alta sensibilidad y resolución de 4000 por 4000 pixeles detecta esa débil radiación.

Dos divisores de haz en razón 10^2 cada uno y un filtro de densidad neutra en razón 10^3 proporcionan a la onda de este arreglo experimental un rango dinámico de 10^7 , lo anterior se puede conseguir a partir de componentes ópticos de catálogo. Esto significa que se puede lograr medir 1 fotón transmitido de entre 10^{14} fotones incidentes. Esto corresponde a la atenuación de potencia esperada en el tejido de 10^{-14} . Por lo tanto, esta técnica se puede utilizar en una muestra de tejido que a simple vista parezca muy opaca, proporcionándonos información acerca de sus no-homogeneidades de transmisión.

Uno de los problemas potenciales en transiluminación de muestras opacas es la baja cantidad de señal transmitida por la muestra que incide en el detector. Esto genera una posibilidad real de que el ruido de Poisson se vuelva excesivamente alto para los bajos niveles de potencia incidentes. La cámara refrigerada de alta sensibilidad puede hacer conteo de fotones, a pesar de que nuestros cálculos de señal a ruido indiquen que operamos aún en la región de alta densidad de fotones, incluso con los bajos valores de transmisión que producen las muestras biológicas.

Consideremos el caso de una muestra bastante opaca, con una transmisión de potencia del orden de 10^{-14} . En nuestro experimento actual, irradiamos la muestra con láser de He-Ne de baja potencia a 632,8 nm. En el futuro, tenemos la intención de utilizar un láser de Nd:YAG, con una potencia de salida nominal de 100 W a 1.064 μm . El tejido biológico presenta una

mayor transparencia a longitudes de onda alrededor de $1\ \mu\text{m}$ que a la radiación visible³⁰. El haz de salida de este láser ha sido caracterizado por su densidad de potencia como una función de posición y nivel de potencia³¹.

Para simplificar los cálculos, suponemos que 1W de potencia incide en un píxel, pudiendo caracterizar 100 pixeles por segundo en un barrido 2-D³². Si la transmisión de la muestra en un punto específico (x,y) es sólo $T = 10^{-14}$, entonces después del segundo divisor de haz la potencia en el brazo de la muestra del interferómetro es igual a 10^{-14} W . 1 fotón con longitud de onda de $1\ \mu\text{m}$ tiene una energía de alrededor de $2 \times 10^{-19}\text{ J}$. habrá 50 000 fotones balísticos que salen a través del segundo divisor de haz cada segundo. Si el ruido de Poisson es el dominante, entonces el número de fotones de ruido es aproximadamente igual a 220 s^{-1} , lo que resulta en una relación señal a ruido de alrededor de 225. Este valor se considera un excelente resultado, incluso en los sistemas formadores de imagen.

Utilizamos dos esquemas de detección. En el primero se captura una imagen con una cámara CCD para mostrar la distribución del haz como la presentada en la figura 3.3. En esta medición entre más brillante sea el patrón, más luz es transmitida. En el segundo esquema, una detección coherente incorpora un detector con la señal de salida desplegada en el osciloscopio al activarse el controlador piezoeléctrico. En este modo, la señal de camino integrado de un elemento de resolución se alimenta al osciloscopio para mostrar el patrón sinusoidal como una función del tiempo. Los fotones balísticos en fase y los del haz de referencia se combinan para formar una interferencia constructiva en el pico de la curva sinusoidal.

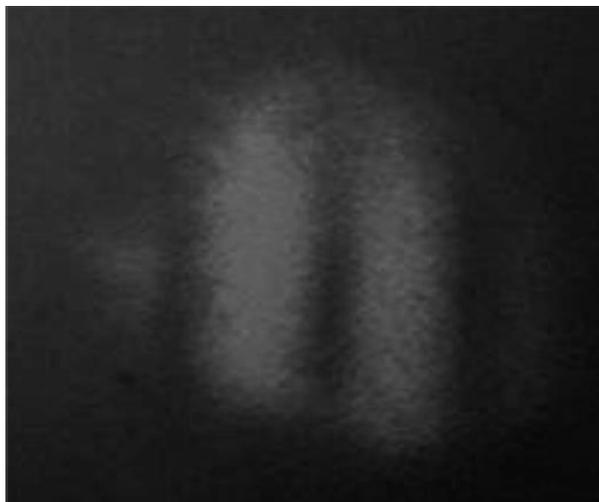


Figura 3.3. Distribución de potencia correspondiente al volumen integrado de centros de esparcimiento en la muestra. Las áreas más iluminadas corresponden a una mayor transmisión en la muestra.

El aspecto crítico más importante en la caracterización de tejido es la calibración de las mediciones experimentales. Los métodos de calibración relacionan la irradiancia de las franjas con la concentración de la muestra en condiciones controladas y conocidas.

3.4 CALIBRACIÓN

En los estudios generales de transiluminación de tejidos se espera que los resultados muestren un tejido normal. Sin embargo el crecimiento anormal de tejido diferenciado se puede dar en cualquier momento, alterando la concentración de los centros de absorción y esparcimiento. La leche es considerada de manera general como un material excelente para la simulación de fantasmas biológicos por su distribución uniforme de partículas de grasa, proteínas y en su consistencia. De manera adicional debemos tener una consistencia sistemática en el tejido simulado con la posibilidad de cambiar su concentración. Simulamos el tejido graso mediante leche en polvo disuelta en agua ya que se mezcla bien y se mantiene uniforme por largos periodos de tiempo, además de que su consistencia no cambia a distintas concentraciones.

Durante la calibración, los factores de absorción y esparcimiento se pueden determinar para cada material o tejido de interés. El contenedor de la muestra empleado en este experimento es un recipiente cilíndrico de diámetro $D_c=0.1m$ elaborado en vidrio BK7 de 2 mm de espesor.

3.4.1 Factor de esparcimiento β_s

Primero medimos la transmisión de la muestra ante el esparcimiento para diferentes concentraciones. El factor de esparcimiento es una propiedad intrínseca del material. Calibramos el desempeño del arreglo experimental con concentraciones conocidas de tal manera que las variaciones en transmisión de una muestra desconocida pueden ser usadas para identificar el cambio en la concentración de los centros de esparcimiento.

Simulamos la muestra empleando leche en polvo diluida en agua. La leche en polvo tiene una característica adicional que nos resulta favorable, no absorbe la radiación de 633 nm de longitud de onda. Por lo que las variaciones de transmisión se deben únicamente a las variaciones en la concentración de partículas de leche.

Disolvemos 20 g de leche en polvo en 50 ml de agua para la concentración inicial de leche. Después la concentración de la muestra se reduce al agregar un litro de agua a la muestra para cada medición sucesiva. Medimos la potencia transmitida a través de la muestra como función de la concentración de la leche.

La figura 3.4 muestra la transmisión como función de la concentración de las partículas de leche. Para una concentración de cero, la transmisión se establece igual a 1. Los puntos de la gráfica se ubican muy cercanos a una línea recta con pendiente negativa, $m_s = -6.03 \times 10^3$. La pendiente de la curva de transmisión contra concentración es proporcional al factor de esparcimiento β_s . Podemos despejar el factor de esparcimiento β_s de la ecuación (3.4).

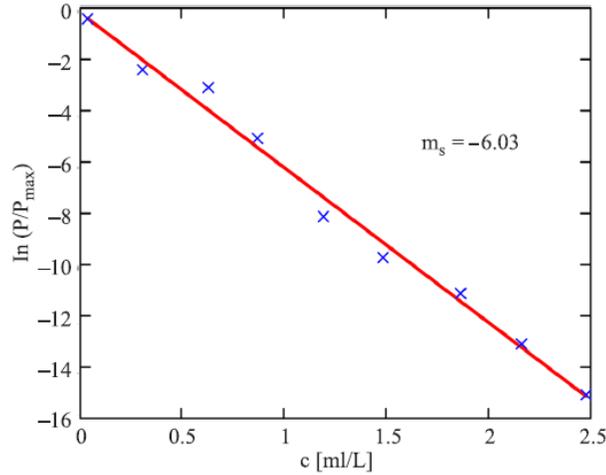


Figura 3.4. Potencia transmitida normalizada (semilogarítmica) como función de la concentración de partículas (de leche). La pendiente obtenida es $m_s = -6.03$ empleando el método de mínimos cuadrados.

$$\beta_s = \frac{d[\ln T_s(x, y; D)]}{dc_s} [D_s(x, y)]^{-1} \text{ [m}^{-1}\text{]}. \quad (3.21)$$

De los valores medidos en la figura 3.4, calculamos β_s que resulta igual a $6.03 \times 10^4 \text{ m}^{-1}$. Entonces la ecuación que define la transmisión a través de una muestra arbitraria de concentración desconocida c_{s-u} y longitud desconocida D_{s-u} se encuentra usando la siguiente ecuación:

$$T_s(x, y; D_{s-u}) = \exp\left[-(6.03 \times 10^4 \text{ m}^{-1})c_{s-u}(x, y)D_{s-u}(x, y)\right] \quad (3.22)$$

Podemos definir que la concentración de centros de esparcimiento del camino integrado PIC_s sea igual al producto de la concentración c_s y la longitud de la muestra D_s .

$$PIC_{s-u}(x, y; D_{s-u}) = c_{s-u}(x, y)D_{s-u}(x, y) \text{ [(l}\cdot\text{l}^{-1}\text{)]m} \quad (3.23)$$

Tras sustituir (3.23) en (3.22) obtenemos que,

$$T_s(x, y; D_{s-u}) = \exp\left[-(6.03 \times 10^4 \text{ m}^{-1}) PIC_{s-u}(x, y; D_{s-u})\right]. \quad (3.24)$$

Esta última ecuación puede emplearse para determinar la concentración de centros de esparcimiento del camino integrado, después de que la transmisión de potencia normalizada se ha medido y los centros de esparcimiento han sido calibrados.

$$PIC_{s-u}(x, y; D_{s-u}) = (1.67 \times 10^{-5} \text{ m}) \ln T_s(x, y; D_{s-u}) \left[(1 \cdot 1^{-1}) \text{ m} \right]. \quad (3.25)$$

Cuando el haz de luz hace un barrido a través del plano (x,y) , la concentración del camino integrado puede encontrarse a lo largo del plano normal a la dirección de propagación del mismo haz. En la figura 3.5 mostramos el cálculo de la concentración integrada de centros de esparcimiento como una función de coordenadas transversales empleando la ecuación (3.25) para la distribución de niveles de gris digitalizada en la figura 3.3.

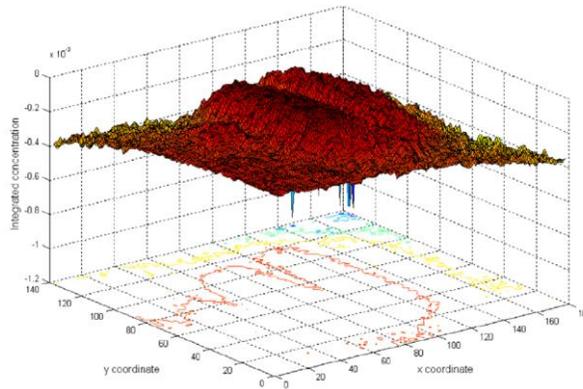


Figura 3.5. Concentración integrada de centros de esparcimiento como función de las coordenadas transversales correspondientes a los niveles de gris de la figura 3.3.

Para la identificación del tejido diferenciado y su crecimiento, la concentración y la distancia en la ecuación (3.23) no necesitan ser separadas o conocidas individualmente. El pequeño volumen de nuevos crecimientos cancerosos se caracteriza por una concentración distinta de centros de esparcimiento c_s . La distinta longitud de la muestra D_s puede de la misma manera describir el nuevo crecimiento de tejido. Por lo tanto, un cambio en la concentración del camino integrado con respecto al estándar o con respecto al tejido adyacente indica un cambio en la densidad del tejido.

3.4.2 Factor de absorción β_a

Calibramos la absorción usando colorante azul disuelto en agua. Aprovechamos la calidad constante de los colorantes utilizados en la preparación de alimentos (azul, hecho por McCormick). Del mismo modo medimos la transmisión de la muestra como una función de la concentración del colorante azul. La figura 3.6 muestra la transmisión como una función de la concentración del colorante. Para la concentración cero, la transmisión se ajusta igual a 1. Los puntos caen casi en una línea recta, con una pendiente negativa, m_a , igual a $-8,77 \times 10^3$. Podemos calcular β_a del exponente de la ecuación 3.7.

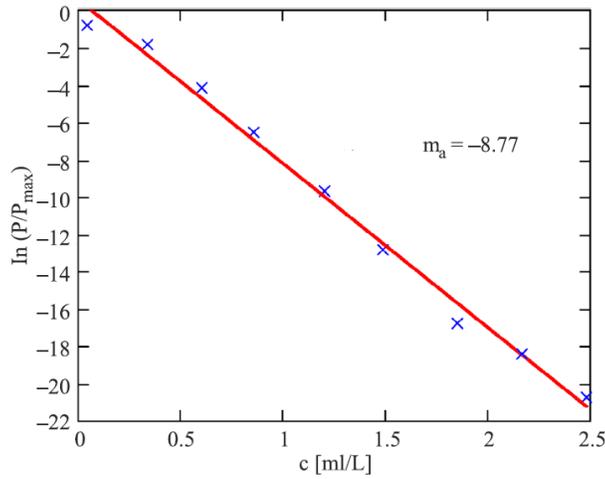


Figura 3.6. Potencia transmitida normalizada (semilogarítmica) como función de la concentración del colorante azul. La pendiente obtenida es $m_a = -8.77$ empleando el método de mínimos cuadrados.

$$\beta_a = \frac{d[\ln T_a(x, y; D_a)]}{dc_a} [D_a(x, y)]^{-1} \text{ [m}^{-1}\text{]}. \quad (3.26)$$

Por lo que, con un diámetro del recipiente igual a 0.1m, y m_a determinada como $-8,77 \times 10^3$, podemos calcular β_a igual a $8.77 \times 10^4 \text{ m}^{-1}$. Entonces la transmisión puede encontrarse para muestras con absorción desconocida.

$$T_a(x, y; D_{a-u}) = \exp\left[-(8.77 \times 10^4 \text{ m})c_{a-u}(x, y) \times D_{a-u}(x, y)\right]. \quad (3.27)$$

Podemos definir la concentración del camino integrado de centros de absorción PIC_a como el producto de la concentración c_a y la longitud de la muestra D_a .

$$PIC_{a-u}(x, y; D_{a-u}) = c_{a-u}(x, y) \times D_{a-u}(x, y) \text{ [(l}\cdot\text{l}^{-1}\text{) m]}. \quad (3.28)$$

Sustituyendo la ecuación 3.28 en la 3.27 tenemos

$$T_a(x, y; D_{a-u}) = \exp\left[-(8.77 \times 10^4 \text{ m}) \text{PIC}_{a-u}(x, y; D_{a-u})\right]. \quad (3.29)$$

Esta última ecuación puede ser usada para determinar los elementos de absorción del camino integrado desconocidos, $\text{PIC}_a(x, y; D)$, después de que la transmisión de potencia normalizada ha sido medida en un arreglo interferométrico.

$$\text{PIC}_{a-u}(x, y; D_{a-u}) = (1.14 \times 10^{-5} \text{ m}) \times \ln T_a(x, y; D_{a-u}) \left[(1 \cdot 1^{-1}) \text{ m}\right]. \quad (3.30)$$

La concentración del camino integrado se puede encontrar a lo largo del plano normal a la dirección de propagación del haz cuando el haz de prueba hace un barrido a lo largo del plano (x, y) .

Los factores de transmisión se multiplican entre sí, por lo que podemos incluir la contribución de muestra con absorción y esparcimiento. El número de mediciones de calibración puede tener que incrementarse cuando ambos fenómenos se incluyen en la misma muestra.

En este capítulo propusimos un nuevo método para medir las variaciones de densidad óptica en tejidos biológicos. Presentamos el desarrollo matemático que lo sustenta y un procedimiento experimental basado en un interferómetro Mach-Zehnder.

En el siguiente capítulo presentaremos un estudio en el campo de la fotopletismografía de imágenes y su capacidad para obtener información sub-superficial de la piel con el fin de lograr mapas de perfusión sanguínea e incluso mapas de saturación de oxígeno.

3.5 REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

1. M. Bondani, D. Redaelli, A. Spinelli, A. Andreoni, G. Roberti, P. Riccio, R. Luizzi, and I. Rech, "Photon time-of-flight distributions through turbid media directly measured with single-photon avalanche diodes," *J. Opt. Soc. Am.* **20**, 2383–2388 (2003).
2. A. Unterhuber, B. Povazay, B. Hermann, H. Sattmann, W. Dexler, V. Yakovlev, G. Tempea, C. Schubert, E.M. Anger, P.K. Ahnelt, M. Stur, J.E. Morgan, A. Cowey, G. Jung, and A. Stingl, "Compact, low-cost Ti:Al₂O₃ laser for in vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography," *Opt. Lett.* **28**, 905–907 (2003).

3. E. Choi, J. Na, S.Y. Ryu, G. Mudhana, and B.H. Lee, “All-fibre variable optical delay line for applications in optical coherence tomography: feasibility study for a novel delay line,” *Opt. Exp.* **13**, 1334–1345 (2005).
4. J.B. Vakoc, S.H. Yun, J.F. de Boer, G.J. Tearney, and B.E. Bouma, “Phase-resolved optical frequency domain imaging,” *Opt. Exp.* **13**, 5483–5493 (2005).
5. C.W. Sun, Y.M. Wang, L.S. Lu, C.W. Lu, I.J. Hsu, M.T. Tsai, C.C. Yang, Y.W. Kiang, and C.C. Wu, “Myocardial tissue characterization based on a polarization-sensitive optical coherence tomography system with an ultra-short pulsed laser,” *J. Biomed. Opt.* **11**, 054016 (2006).
6. L. Wang, P.P. Ho, C. Liu, G. Zhang, and R.R. Alfano, “Ballistic 2-D imaging through scattering walls using an ultrafast optical Kerr gate,” *Science* **253**, 769–771 (1991).
7. S.G. Demos and R.R. Alfano, “Temporal gating in highly scattering media by the degree of optical polarization,” *Opt. Lett.* **21**, 161–163 (1996).
8. G. Jarry, E. Steimer, V. Damaschini, M. Epifanie, M. Jurczak, and R. Kaiser, “Coherence and polarization of light propagating through scattering media and biological tissues,” *Appl. Opt.* **37**, 7357–7367 (1998).
9. A.E. Desjardins, B.J. Vakoc, A. Bilenca, G.J. Tearney, and B.E. Bouma, “Estimation of the scattering coefficients of turbid media using angle-resolved optical frequency-domain imaging,” *Opt. Lett.* **32**, 1560–1562 (2007).
10. S. Andersson-Engels, R. Berg, S. Svanberg, and O. Jarlman, “Time-resolved transillumination for medical diagnostics,” *Opt. Lett.* **15**, 1179–1181 (1990).
11. D.G. Papaioannou, G.W. Hooft, J.J. Baselmans, and M.J. van Gemert, “Image quality in time-resolved transillumination of highly scattering media,” *Appl. Opt.* **34**, 6144–6157 (1995).
12. G. Le Tolguenec, F. Devaux, and E. Lantz, “Two-dimensional time-resolved direct imaging through thick biological tissues: a new step toward non-invasive medical imaging,” *Opt. Lett.* **24**, 1047–1049 (1998).
13. M. R. Hee, J. A. Izatt, E. A. Swanson, and J. G. Fujimoto, “Femtosecond transillumination tomography in thick tissues,” *Opt. Lett.* **18**, 1107–1109 (1993).
14. D. Grosenick, H. Wabnitz, and H. Rinneberg, “Time-resolved imaging of solid phantoms for optical mammography,” *Appl. Opt.* **36**, 221–231 (1997).
15. X. Liang, L. Wang, P.P. Ho, and R.R. Alfano, “Time-resolved polarization shadowgrams in turbid media,” *Appl. Opt.* **36**, 2984–2989 (1997).
16. B. Devaraj, M. Usa, K.P. Chan, T. Akatsuka, and H. Inaba, “Recent advances in coherent detection imaging (CDI) in biomedicine: laser tomography of human tissues in vivo and in vitro,” *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **2**, 1008–1016 (1996).

17. Y. Watanabe, T. Yuasa, B. Devaraj, T. Akatsuka, and H. Inaba, “Transillumination computed tomography of high scattering media using laser linewidth broadening projections,” *Opt. Commun.* **174**, 383–389 (2000).
18. C. W. Sun, K.C. Liu, Y.M. Wang, H.H. Wang, Y.W. Kiang, H.K. Liu, and C.C. Yang, “Determination of target depth in a turbid medium with polarization-dependent transmitted signals,” *J. Opt. Soc. Am.* **A20**, 2106–2112 (2003).
19. Y. Sasaki, S. Tanosaki, J. Suzuki, T. Yuasa, H. Taniguchi, B. Devaraj, and T. Akatsuka, “Fundamental imaging properties of transillumination laser CT using optical fibre applicable to bio-medical sensing,” *IEEE Sens. J.* **3**, 658–667 (2003).
20. H.J. van Staveren, C.J. Moes, J. van Marle, S.A. Prahl, and M.J. van Gemert, “Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm,” *Appl. Opt.* **30**, 4507–4514 (1991).
21. J. Bai, T. Gao, K. Ying, and N. Chen, “Locating inhomogeneities in tissue by using the most probable diffuse path of light,” *J. Biomed. Opt.* **10**, 024024 (2005).
22. G. Jarry, L. Poupinet, J. Watson, and T. Lepine, “Extinction measurements in diffusing mammalian tissue with heterodyne detection and a titanium: sapphire laser,” *Appl. Opt.* **34**, 2045–2054 (1995).
23. R. Jones, G. Huynh, G. Jones, and D. Fried, “Near-infrared trans-illumination at 1310-nm for the imaging of early dental decay,” *Opt. Exp.* **11**, 2259–2265 (2003).
24. M. Strojnik, G. Paez, R. Murty, “Lateral shearing interferometry,” in *Optical Shop Testing*, D. Malacara, Ed., Marcel Dekker, pp. 649–700, 2007.
25. G. Popescu and A. Dogariu, “Ballistic attenuation of low-coherence optical fields,” *Appl. Opt.* **39**, 4469–4472 (2000).
26. P. Vacas-Jacques, G. Paez, and M. Strojnik, “Pass-through photon-based biomedical trans-illumination,” *J. Biomed. Opt.* **13**, 041307 (2008).
27. M.D. Modell, V. Ryabukho, D. Lyakin, V. Lychagov, E. Vitkin, I. Itzkan, and L.T. Perelman, “Autocorrelation low coherence interferometry,” *Opt. Commun.* **281**, 1991–1996 (2008).
28. G. Paez, M. Strojnik, M.K. Scholl, “Interferometric tissue characterization: I. Theory,” *Infrared Spaceborne Remote Sensing XIII, Proc. SPIE 5883*, 58830Y1–12, San Diego, 2005.
29. P. Vacas-Jacques, M. Strojnik, G. Paez, “Forward-calculated analytical interferograms in pass-through photon-based biomedical transillumination,” *J. Opt. Soc. Am.* **A26**, 602–612 (2009).
30. M. Strojnik and G Paez, “Spectral dependence of absorption sensitivity on concentration of oxygenated hemoglobin: pulse oximetry implications,” *J. Biomed. Opt.* **18**, 108001 (2013).

31. M.S. Scholl, "Measured spatial properties of the CW Nd-YAG laser beam," *Appl. Opt.* **19**, 3655–3659 (1980).
32. M.S. Scholl, "Target temperature distribution generated and maintained by a scanning laser beam," *Appl. Opt.* **21**, 2146–2152 (1982).

CAPÍTULO IV

Fotopletismografía de Imágenes

4.1 INTRODUCCIÓN

En el capítulo 2 presentamos una simulación de Montecarlo que permite estimar la propagación de la radiación al interior de la piel, determinar la interacción con las capas vascularizadas de la dermis y cuantificar la información pletismográfica que es posible extraer de la región sub-superficial de la piel. Como complemento en este capítulo presentamos un estudio para determinar las longitudes de onda óptimas para su aplicación en fotopletismografía remota. Presentamos además una técnica basada en el uso de polarizadores para mejorar la relación señal-ruido en la adquisición de imágenes fotopletismográficas. Finalmente proponemos los parámetros necesarios para un sistema de fotopletismografía de imágenes que permita elaborar estudios de oximetría, perfusión sanguínea en extremidades y análisis diferencial de la onda fotopletismográfica¹⁻⁵.

La tomografía óptica difusa se basa en la disposición de múltiples detectores a lo largo de la región de interés de un miembro o un órgano. Cada detector obtendrá una secuencia de datos y la correlación de esos datos con los del resto de los detectores a través de un algoritmo inverso proporcionará la información esperada del miembro u órgano bajo estudio. Una forma de obtener de manera simultánea mediciones de múltiples puntos de una región de tejido es a través de la adquisición de imágenes. Al emplear una cámara como detector, cada pixel capta los datos provenientes de un punto específico del tejido bajo prueba, si se correlacionan los datos de todos los pixeles de la imagen, se podrá obtener información superficial e incluso sub-superficial de las características fisiológicas de la región de tejido que se está analizando.

En la tabla 2.4 mostramos que al irradiar una muestra de piel con un haz de longitud de onda 633 nm, aproximadamente un 24% de la radiación que incide en ésta será retroesparcida. En la tabla 2.5 observamos que del total de la radiación retroesparcida, entre un 0.52% y un 1.35% corresponde a la parte pulsátil, es decir, a la señal fotopletismográfica. Si captamos esta señal retroesparcida con una cámara y la traducimos a una secuencia de video de 8 bits de profundidad y además optimizamos la ganancia del

sistema, tendremos la señal fotopletismográfica expresada como una variación máxima de 1 a 3 niveles digitales sobre un valor digital promedio de la señal de 255.

La adquisición de la señal fotopletismográfica por medio de una cámara es un proceso sumamente complejo si pretendemos que cada pixel de la cámara se comporte como un detector de manera individual. Existen muchas fuentes de ruido dentro de este proceso y algunas de ellas son inevitables porque provienen de la misma naturaleza del fenómeno que se está observando. Para realizar mediciones fotopletismográficas en una región definida del cuerpo humano debemos enfrentarnos a desplazamientos involuntarios, movimientos causados por el ciclo respiratorio y también a la inclinación o desplazamiento de la muestra bajo análisis a causa de la dilatación y contracción de los vasos sanguíneos. Cualquiera de los movimientos ya mencionados puede resultar invisible a simple vista, pero se traduce en un cambio de posición de la muestra en la imagen actual con respecto a la imagen anterior en la secuencia de video. Como consecuencia de esto el punto de la piel que debería estar asociado a un pixel estará siendo mapeado en distintos pixeles a lo largo del tiempo.

Los movimientos descritos con anterioridad pueden reducirse con la aplicación de algoritmos de estimación y compensación de movimiento, sin embargo son demandantes computacionalmente, incluso más que los necesarios para la extracción de la señal fotopletismográfica.

En el capítulo 1 abordamos el concepto de ventana terapéutica, la definimos como la región del espectro en la cual, en la interacción radiación-tejido, predomina el esparcimiento sobre la absorción. Para mediciones por transiluminación de tejidos, es necesario emplear longitudes de onda comprendidas en esa región. En el caso de la fotopletismografía remota varios autores han reportado buenos resultados empleando longitudes de onda en el rango visible pero fuera de la ventana terapéutica. Como primera parte de este capítulo presentamos un estudio para la determinación de las longitudes de onda que permitan maximizar la medición de señal pulsátil en una configuración remota y sin contacto con la piel.

4.2 SELECCIÓN DE LONGITUDES DE ONDA

La frente es una región del cuerpo humano altamente vascularizada y por eso la extracción de la señal fotopletismográfica de manera remota es muy viable en esa zona. El arreglo experimental empleado para este estudio usa una fuente de radiación de espectro extendido, la radiación se proyecta en el rostro de un voluntario y la fracción de la radiación retroesparcida por su frente se registra con un espectrómetro. En función de la amplitud de

la señal pletismográfica, y sobre todo de la relación señal-ruido, se seleccionan las longitudes de onda como las más adecuadas para estudios de fotopletismografía remota.

En nuestro arreglo experimental, la fuente de radiación de espectro extendido es una lámpara incandescente de cuarzo-halógeno de 500 W colocada a una distancia de 2 metros del voluntario. La fuente emite solamente hacia un hemisferio, por lo que la irradiancia sobre la piel del voluntario es del orden de los 20 W/m^2 , es decir el 2 % de la irradiancia producida por la radiación solar directa. Este nivel de irradiancia es suficientemente elevado para interactuar con el tejido y generar una señal detectable por retroesparcimiento, pero suficientemente bajo para no inducir cambios de temperatura en la zona irradiada. La región de interés de nuestro análisis es la frente del sujeto bajo prueba. El voluntario se ubica detrás de una pantalla de cartón negro que tiene una ventana rectangular en la cual se coloca la frente. Se emplea una lente de cámara fotográfica para formar la imagen de la frente del sujeto. En el punto focal de la lente, donde se forma la imagen, se capta la radiación con un conector de fibra óptica. El conector de fibra óptica transmite la señal a un espectrómetro y éste registra a lo largo del tiempo las amplitudes espectrales de esta señal dentro del rango de 380 a 980 nm. El montaje de laboratorio para este experimento se muestra en la figura A.2 del apéndice A.

El espectrómetro tiene una resolución de 0.762 nm y registra más de 780 longitudes de onda de la señal retroesparcida en el rango ya señalado, a una velocidad de 10 espectros por segundo. Durante el registro de los espectros la frecuencia cardiaca de los voluntarios es monitoreada y registrada a través de un oxímetro de pulso. El registro temporal asociado a cada longitud de onda contiene en mayor o menor medida la señal fotopletismográfica y para detectar la fracción de la misma, dentro de cada registro, se realiza un estudio de frecuencias basado en la transformada de Fourier.

El registro se toma en todos los casos durante al menos 60 segundos y observamos que en ese periodo se presenta de manera natural una variación en la frecuencia cardiaca. En la figura 4.1 se muestran como ejemplo tres de los registros obtenidos por el oxímetro de pulso.

Al analizar los registros del oxímetro de pulso encontramos que para voluntarios sanos y en reposo obtuvimos lecturas de frecuencia cardiaca entre los 62 y 96 latidos por minuto, mientras que las variaciones dentro de cada registro se obtuvieron en función de la desviación estándar de la muestra, comprendiendo desde ± 1.53 hasta ± 5.18 , siendo el promedio de la desviación estándar de los registros ± 3.12 latidos por minuto.

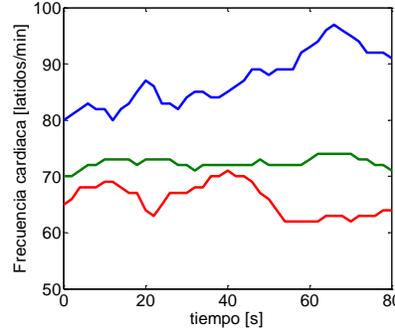


Figura 4.1. Tres registros obtenidos del oxímetro de pulso, se observa que los tres registros presentan una frecuencia cardíaca promedio diferente y que en todos los registros existen variaciones de la frecuencia cardíaca.

Para determinar la cantidad de señal fotopletismográfica asociada a cada longitud de onda se obtiene en primer lugar la transformada de Fourier del registro.

$$g(\lambda, k) = F \{ f(\lambda, n) \} = \sum_{n=0}^{N-1} f(\lambda, n) \exp\left(-\frac{2\pi i}{N} kn\right), \quad (4.1)$$

donde n es el índice en el tiempo discreto, N es la cantidad de muestras del registro, k es el índice asociado a la frecuencia cardíaca y λ la longitud de onda.

Observamos que en todos los voluntarios la frecuencia cardíaca k_c , medida por el oxímetro de pulso, se presenta como un pico de amplitud en el espectro de 590 nm.

$$g(590, k_c) > g(590, k) \quad \forall \quad k \neq k_c. \quad (4.2)$$

Conociendo que la frecuencia cardíaca se presenta como el pico de amplitud en el espectro de 590 nm, asociamos el máximo de amplitud presente en cualquier registro con la frecuencia cardíaca esperada.

$$\max \{ g(590, k) \} = g(590, \hat{k}_c), \quad (4.3)$$

donde \hat{k}_c es la frecuencia cardíaca estimada a partir exclusivamente del análisis del espectro de 590 nm y k se evalúa desde 25 hasta 250 latidos por minuto. Debido a las variaciones presentadas en el registro de frecuencia cardíaca del oxímetro de pulso, cuantificamos la suma de amplitudes en la banda de $k_c \pm 3$ latidos por minuto y lo denominamos la *potencia de señal*.

$$P_s(\lambda) = \sum_{k=k_c-3}^{k_c+3} g(\lambda, k). \quad (4.4)$$

Ya que tenemos la *potencia de señal* descartamos de la señal original la banda en la que ésta aparece. Para la señal restante $g'(\lambda, k)$ obtenemos el valor máximo de amplitud y la frecuencia cardíaca asociada k_n , luego obtenemos la suma de sus potencias en la banda de $k_n \pm 3$ latidos por minuto. Debido a que esta señal no corresponde a la frecuencia cardíaca, la denominamos como la *potencia de ruido máximo*.

$$P_{n\max}(\lambda) = \sum_{k=k_n-3}^{k_n+3} g'(\lambda, k), \quad (4.5)$$

A partir de la determinación de la *potencia de señal* y la *potencia de ruido máximo* para todas las longitudes de onda analizadas, graficamos ambas en la figura 4.2. Para tener una mejor referencia graficamos la razón de ambas potencias con respecto a la potencia total de la señal.

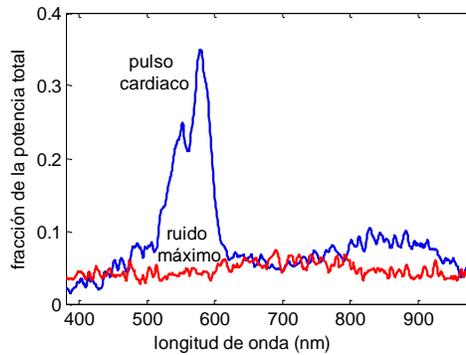


Figura 4.2. Determinación de la longitud de onda óptima para estudio de fotopletismografía remota. La potencia máxima de la señal de pulso cardíaco con respecto a la potencia total recibida en el detector se obtiene entre los 500 y los 600 nm. El ruido máximo de la señal está al mismo nivel que la señal de pulso cardíaco entre los 600 y los 800 nm.

Se observa en la figura que la *potencia de señal* en la banda de la frecuencia cardíaca corresponde en algunas longitudes de onda a más del 30 % de la potencia total de la señal adquirida, mientras que la *potencia de ruido máximo* no llega al 10% del total de potencia.

Basados en la observación anterior procedemos a calcular la relación de potencias de la *señal* y del *ruido máximo*, obteniendo una gráfica de relación señal a ruido, esta gráfica se muestra en la figura 4.3.

$$SNR(\lambda) = \frac{P_s(\lambda)}{P_{n\max}(\lambda)}, \quad (4.6)$$

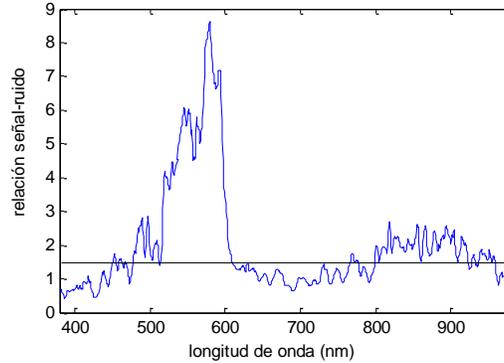


Figura 4.3. Gráfica de señal a ruido para fotopletismografía remota. Se observan dos bandas en las que la señal de frecuencia cardiaca es detectable sin necesidad de contar con una referencia externa. Las dos bandas en las que se produce esta elevada relación señal-ruido se encuentran en lados opuestos del punto isosbético de la sangre, lo cual hace factible la oximetría de pulso remota.

En la gráfica de la figura anterior observamos que la relación señal-ruido varía como función de la longitud de onda desde valores menores a 1 hasta valores mayores a 8. Si consideramos que en un estudio de fotopletismografía remota, sin monitor adicional que valide la frecuencia cardiaca, se requiere garantizar que la señal reportada corresponda efectivamente a la señal pletismográfica, se deben seleccionar longitudes de onda que maximicen la relación señal a ruido. En este caso podemos seleccionar dos regiones, una comprendida entre los 500 y 600 nm y la otra entre los 800 a 900 nm. Además de ser regiones en las que la señal de frecuencia cardiaca predomina, se puede combinar la información de ambas regiones para estudios de oximetría.

4.3 MEJORA COMPUTACIONAL DE LA RELACIÓN SEÑAL A RUIDO

El método más simple y posiblemente el más empleado para extraer la señal fotopletismográfica de una secuencia de video es el promediado de un grupo de píxeles⁶⁻⁸. Con este método un movimiento de la muestra ocasionará que parte de la escena salga del grupo de píxeles analizado pero la mayor parte de ella permanece dentro. Mientras más grande sea el grupo de píxeles que se promedia, mejor es la señal fotopletismográfica

obtenida. Partiendo de este principio el mejor resultado se puede obtener promediando todos los píxeles de la imagen, de esta manera se puede obtener la señal fotopletismográfica más confiable, sin embargo no estaríamos obteniendo el mejor provecho de la cámara al usarla como un detector puntual.

Como ya se mencionó al inicio de este capítulo, en fotopletismografía de imágenes la amplitud de la señal pulsátil presente es del orden del 1% de la radiación total que llega a la cámara, en el mejor de los casos. Las fuentes de ruido en el sistema pueden ser muy diversas y estar asociadas al fenómeno que se mide, como el desplazamiento aleatorio de la muestra. Las fuentes de ruido pueden deberse también a factores externos como variaciones en la potencia radiante de la fuente, fuentes parásitas de iluminación, ruido del detector, entre otras⁹⁻¹⁶.

A continuación mostramos el estudio de ruido realizado a un sistema compuesto por una fuente de iluminación LED y una cámara de video de grado científico (sCMOS 16 bits, PCO.EDGE). La fuente de iluminación LED es de color rojo de 3 W de potencia, emite con una longitud de onda central de 630 nm con un ancho espectral medio de 15 nm. En el arreglo experimental se proyecta la radiación de la fuente sobre una pantalla de papel bond blanco a diferentes potencias y en cada caso se registra una secuencia de video de 1 segundo de duración a 50 cuadros por segundo con un tamaño de cuadro de 320 x 240 píxeles. Tanto la velocidad de cuadros como el tiempo de integración de 20 ms se definieron en función de optimizar el valor del píxel de la imagen a plena corriente del LED ($I_{LED} = 700$ mA), sin llegar a saturar el detector.

Después capturamos varias secuencias de video con distintos niveles de iluminación (I_{LED} desde 0 hasta 700 mA), analizamos el nivel promedio así como la desviación estándar sobre la media temporal que presentó cada uno de los píxeles en la escena. En la tabla 4.1 observamos los resultados de esta prueba.

De los datos de la tabla 4.1 observamos que el ruido presente en nuestro sistema de fuente de iluminación y cámara es del mismo orden de magnitud que la señal fotopletismográfica esperada para prácticamente todo el rango de valores que pueda adoptar el píxel.

Desarrollamos un arreglo de fotopletismografía de imágenes para verificar que los niveles de señal pulsátil asociada a la frecuencia cardiaca y los de ruido son del mismo orden de magnitud. Partimos de la configuración usada para determinar el ruido del sistema de iluminación y la cámara, de este arreglo retiramos la pantalla blanca y en su lugar

colocamos la palma de la mano de un voluntario. Enfocamos la cámara a la yema de uno de los dedos y captamos la radiación retroesparcida. En este caso prolongamos la secuencia de video a 10 segundos, manteniendo el tamaño de cuadro a 320 x 240 pixeles pero incrementando el tiempo de integración de cada cuadro a 40 ms para compensar la reducción en reflectancia de la muestra.

Tabla 4.1. Análisis de ruido del sistema fuente-detector para fotopleletismografía remota.

I_{LED} [mA]	Valor promedio del pixel	Valor del ruido RMS	Ruido relativo [%]
0	97.3	4.46	4.58
100	6492.5	115.27	1.78
200	13905.1	168.61	1.21
300	20584.8	200.97	0.98
400	27813.2	229.79	0.83
500	35247.0	253.37	0.72
600	42322.2	273.24	0.65
700	48952.5	287.58	0.59

Una vez capturada la secuencia, extraemos la señal fotopleletismográfica presente de manera global en ella mediante el promediado espacial de todos los pixeles que forman la imagen del tejido bajo prueba (Ec. 4.6). Sobre el promedio espacial se sustrae la media temporal de la secuencia para obtener la componente pulsátil (Ec. 4.7). En la figura 4.4 se muestra el primer cuadro de la secuencia tomada.

$$I(t) = \frac{1}{x_{\max} y_{\max}} \sum_{x=1}^{x_{\max}} \sum_{y=1}^{y_{\max}} I(x, y, t), \quad (4.6)$$

$$I_{ppg}(t) = I(t) - \langle I(t) \rangle, \quad (4.7)$$

donde $I(x, y, t)$ es la intensidad de cada pixel en cada cuadro, $I(t)$ es el promedio espacial de la intensidad de cada cuadro e $I_{ppg}(t)$ es la intensidad de la señal PPG. Una vez que tenemos la señal fotopleletismográfica global, la cual se muestra en la figura 4.5, procedemos a evaluar la secuencia de video a nivel de pixeles. Primero tomamos un pixel de la parte central de la escena en donde esté garantizada la presencia de señal fotopleletismográfica, a continuación realizamos una operación de correlación cruzada de su evolución temporal contra la señal fotopleletismográfica presente en la escena y obtenemos el coeficiente de correlación que nos determina fracción de señal fotopleletismográfica presente en ese pixel.



Figura 4.4. Primer cuadro de la secuencia de imágenes obtenida. La extracción de la señal fotopleletismográfica se realiza promediando todos los píxeles de cada cuadro de la secuencia y sustrayendo la media temporal.

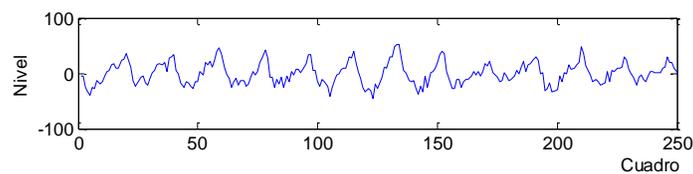


Figura 4.5. Señal fotopleletismográfica obtenida al promediar todos los píxeles de la escena y eliminar la media temporal. Se observa claramente cada uno de los ciclos de la señal, que corresponden al ciclo cardíaco.

A continuación obtenemos el promedio espacial de valores de una región de 10 x 10 píxeles y de ahí el nivel de la señal fotopleletismográfica contenida en ella. La diferencia entre la señal fotopleletismográfica y la señal total se considera ruido. Repetimos el proceso anterior incrementando el tamaño de la región en intervalos de 10 píxeles. En cada caso se determina el nivel de la señal fotopleletismográfica y el nivel de ruido. Los resultados más representativos de este procedimiento se muestran en la figura 4.6.

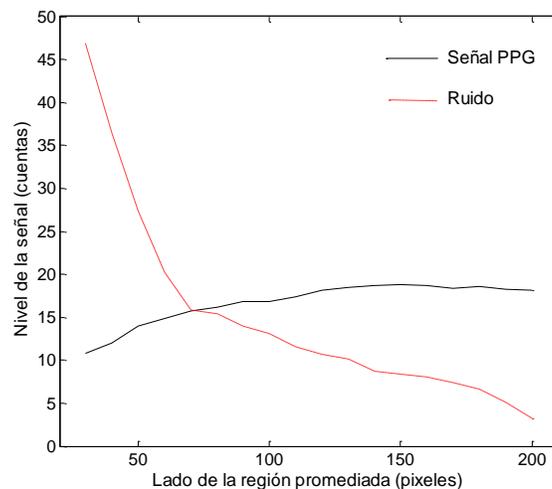


Figura 4.6. Niveles de señal fotopleletismográfica y ruido contenidos en regiones de distintos tamaños. El ruido muestra un patrón de comportamiento decreciente al incrementar el tamaño de la región promediada.

En la gráfica anterior observamos que cuando se promedia una región de pocos píxeles, el nivel de ruido contenido en el bloque es superior al nivel de la señal. Cuando la región promediada es de 70 x 70 píxeles, es decir, cuando se promedian 4,900 píxeles el nivel de la señal iguala al nivel del ruido. Por encima de esta dimensión el nivel de la señal es mayor que el del ruido. De esta forma podemos afirmar que una cámara de 320 x 240 píxeles (76,800 píxeles) puede operar, considerando una condición marginal de $SNR=1$, como un detector fotopletismográfico de 12 píxeles.

4.4 MEJORA ÓPTICA DE LA RELACIÓN SEÑAL A RUIDO

Como método para reducir el nivel de ruido en la secuencia capturada proponemos iluminar la muestra con luz polarizada linealmente y registrar la escena a través de un analizador lineal. Tomamos el mismo arreglo experimental de la sección anterior colocamos un polarizador lineal frente a la fuente de iluminación LED y otro frente a la lente de la cámara. Con el arreglo descrito generamos un estado de polarización lineal en la iluminación de la muestra y al variar el ángulo entre los ejes del polarizador y el analizador podremos discriminar entre la reflexión superficial que conserva mayormente las características de polarización de la fuente y la reflexión difusa causada por el retroesparcimiento al interior del tejido el cual se caracteriza por generar depolarización.

Para comprobar la hipótesis anterior tomamos una serie de secuencias de video iniciando con la primera cuando los ejes de los polarizadores son paralelos, luego una segunda secuencia con los ejes a 10° y seguimos incrementando el ángulo relativo entre los ejes de los polarizadores en intervalos de 10° hasta tomar la última secuencia con los ejes perpendiculares entre sí.

Procesamos las 10 secuencias de video con el procedimiento descrito en la sección anterior. Para cada secuencia de video obtenemos una gráfica como la correspondiente a la figura 4.6, de ahí registramos el punto donde la curva de nivel de la señal fotopletismográfica se cruza con la curva de nivel del ruido, es decir, el punto en que la relación señal-ruido es igual a 1. Una vez que tenemos los resultados del procesamiento las 10 secuencias de video, graficamos su comportamiento en la figura 4.7.

En la figura 4.7 observamos claramente que al incrementar el ángulo relativo entre los ejes del polarizador y el analizador, la señal de ruido disminuye siendo necesario un agrupamiento de píxeles de menor dimensión para lograr la misma relación señal a ruido que si no empleáramos elementos polarizadores. Usando un sistema de polarizador-analizador con ejes perpendiculares se obtiene una relación marginal de $SNR = 1$ para

regiones de 10 x 10 píxeles, mejorando 7 veces de manera unidimensional la capacidad del detector y 49 veces de manera bidimensional, por lo que para la misma cámara de 320 x 240 píxeles (76,800 píxeles) operaría ahora como un detector fotopletismográfico de 768 píxeles en vez de 12 píxeles.

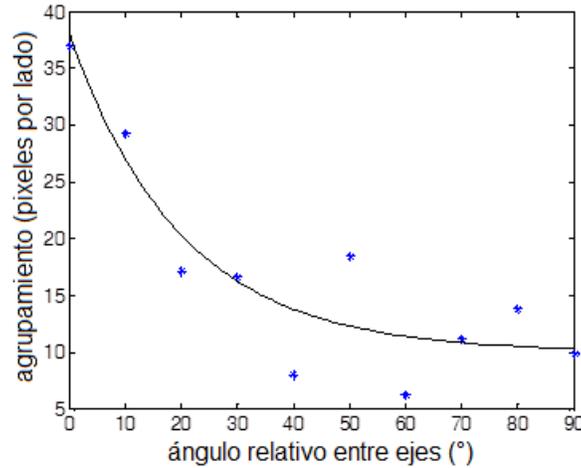


Figura 4.7. Relación entre el ángulo relativo de los polarizadores y el tamaño del bloque a promediar para obtener una relación señal a ruido igual a 1.

Una vez que tenemos un sistema capaz de extraer la señal fotopletismográfica y elaborar un mapa bidimensional de la misma, consideramos dos aplicaciones en las que este sistema nos puede revelar de manera no invasiva información del interior del organismo humano, tal como es el propósito de la tomografía óptica.

4.5 ANÁLISIS DE ONDA DE PULSO FOTOPLETISMOGRÁFICA

La onda de pulso cardíaca proporciona información acerca del estado del sistema cardiovascular, algunos factores derivados del análisis de la onda de pulso se han empleado para detectar condiciones como hipertensión y enfermedades de las arterias coronarias¹⁷.

Para conocer el potencial de la fotopletismografía de imágenes en el análisis de onda de pulso realizamos un análisis de Fourier a los resultados reportados por Allen y Murray [23]. En su experimento se registraron ondas de pulso fotopletismográficas en más de 100 sujetos. Las edades de los mismos oscilaron entre los 13 y 72 años y se clasificaron en cuatro grupos de edad: menores de 30 años, 30-39 años, 40-49 años y 50 años de edad o más. Ellos muestran en su estudio que la forma de onda fotopletismográfica de un individuo cambia sus características con el paso de los años debido al envejecimiento del sistema cardiovascular. En la figura 4.8 mostramos el conjunto de formas de onda

clasificados por grupo de edad, el período y la amplitud de las señales se han normalizado a 1.

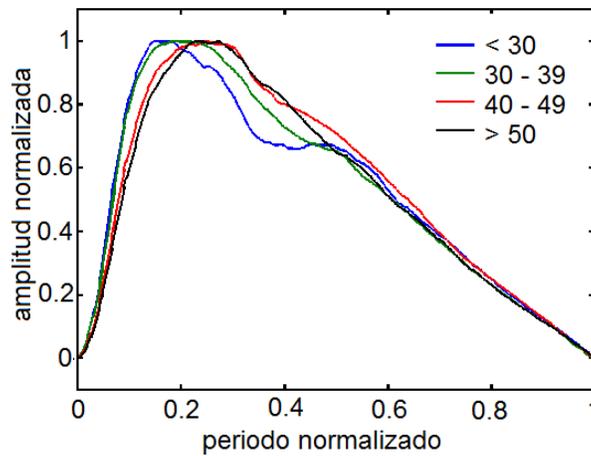


Figura 4.8. Conjunto de ondas de pulso fotopleletismográficas clasificadas por rangos de edad. Individuos jóvenes muestran en promedio ondas de pulso más complejas que los individuos de edad más avanzada.

En la gráfica observamos características particulares para cada grupo de edad, una de ellas es la pendiente de subida de la curva, mientras más joven es la persona la pendiente es mayor y a medida que envejece la pendiente reduce su valor. Otra de las características es la depresión que se produce entre la fase sistólica y la fase diastólica en individuos jóvenes y que paulatinamente va desapareciendo con la edad.

Debido a que las ondas de pulso mostradas en la figura anterior son un ciclo completo de una señal periódica (cuasiperiódica para ser exactos), cada una de las ondas de pulso ilustradas puede ser representada por una serie de Fourier y tener asociado un conjunto de coeficientes de Fourier. Podemos decir entonces que el estado del sistema cardiovascular de una persona puede estar representado con un alto grado de precisión a través de un conjunto de coeficientes de Fourier.

A medida que el sistema vascular envejece, las paredes pierden elasticidad haciéndose más rígidas y la onda de pulso que transita a través de él se suaviza. La falta de cambios bruscos permite que la onda de pulso asociada a individuos de avanzada edad pueda ser representada por una menor cantidad de coeficientes de Fourier que la asociada a individuos jóvenes. La ecuación 4.8 muestra la forma de obtener los coeficientes de Fourier de la serie a partir de las muestras de la onda de pulso. La ecuación 4.9 muestra la reconstrucción de la señal para un conjunto de $m+1$ coeficientes.

$$c_n = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} f(k) e^{-\frac{2\pi ink}{N}} \quad (4.8)$$

$$f^*(k) = \sum_{n=-m}^m c_n e^{\frac{2\pi ink}{N}} \quad (4.9)$$

Entre mayor sea el valor de m , mayor será la cantidad de armónicos que se reconstruyan y menor será la diferencia entre la señal original $f(k)$ y la reconstruida $f^*(k)$.

A continuación mostramos una tabla en la que relacionamos la cantidad de armónicos empleados para la reconstrucción de la onda de pulso de cada grupo de edades y el error relativo que presenta contra la onda original. En la tabla 4.2 observamos que de manera general una reconstrucción basada en 3 coeficientes es suficiente para representar la señal con error menor al 1%, sin embargo para poder discriminar entre las distintas formas de onda asociadas con la edad se requiere una mayor precisión.

Las ondas de pulso de los distintos grupos de edad presentan grandes similitudes, de tal manera que, la reconstrucción que permita discernir entre una y otra debe tener una gran exactitud. El error permisible debe ser menor al 0.1% y para lograrlo debemos emplear como mínimo los primeros 6 coeficientes de la serie de Fourier.

Tabla 4.2. Error relativo que se presenta en la reconstrucción de la onda de pulso en función de la cantidad de coeficientes empleados y el grupo de edad.

No. de coeficientes	Error relativo [%]			
	< 30	30-39	40-49	> 49
1	15.59	11.60	8.62	7.95
2	5.03	3.27	2.24	1.67
3	1.34	1.11	0.65	0.50
4	0.76	0.57	0.31	0.22
5	0.29	0.20	0.12	0.10
6	0.09	0.08	0.03	0.04
7	0.04	0.03	0.02	0.01
8	0.03	0.01	0.01	0.01

Para tener un sistema de imágenes fotopletismográficas que permita valorar el estado del sistema vascular y poder asociar la onda de pulso con la edad del paciente se debe tener la capacidad de adquirir la secuencia de imágenes a una velocidad suficiente para poder

reconstruir hasta el sexto armónico de la frecuencia cardiaca. La frecuencia cardiaca en reposo de un adulto sano varía entre 60 y 80 latidos por minuto y en actividad intensa puede llegar hasta los 200 latidos por minuto. Para poder detectar la existencia del sexto armónico de una señal de frecuencia cardiaca de 80 latidos por minuto, el teorema de muestreo de Nyquist indica que la secuencia se debe capturar a 16 cuadros por segundo, sin embargo para captar su forma con claridad debemos tener no 2 muestras por ciclo sino 5 como mínimo, por lo tanto para detectar su forma debemos capturar la secuencia a 40 cuadros por segundo.

Además de tener la capacidad de analizar la forma de onda fotopletismográfica, un sistema de fotopletismografía de imágenes puede tener la capacidad de generar mapas de oximetría en el tejido analizado, este concepto se detalla a continuación.

4.6 OXIMETRÍA DE PULSO REMOTA CON IMÁGENES

Si la tomografía óptica tiene como propósito obtener mapas del interior del organismo humano de manera no invasiva, entonces obtener mapas de saturación de oxígeno forma parte del propósito de la misma. Para lograr obtener mapas de oximetría de alguna región del cuerpo por medio de fotopletismografía de imágenes se deben emplear dos o más longitudes de onda en la prueba¹⁸⁻²⁴.

Los oxímetros comerciales que emplean dos longitudes de onda para su operación determinan la saturación de oxígeno con la siguiente ecuación,

$$SpO_2 = \frac{k_1 - k_2 rr}{k_3 - k_4 rr}, \quad (4.10)$$

donde los coeficientes k_n obtienen sus valores por medio de una calibración experimental para cada instrumento en particular, dichos coeficientes contienen de manera implícita la respuesta espectral de la fuente de iluminación empleada, los coeficientes de extinción de la hemoglobina y la oxihemoglobina y la sensibilidad del detector. El factor rr , denominado razón de razones, está determinado por la siguiente ecuación:

$$rr = \frac{\Delta I_R / \bar{I}_R}{\Delta I_{IR} / \bar{I}_{IR}} \quad (4.11)$$

donde ΔI es la amplitud pulsátil de la onda obtenida, \bar{I} es el valor promedio de la lectura, R e R_{IR} son subíndices que indican que las mediciones fueron obtenidas con una fuente de iluminación con longitud de onda en el rojo o en el infrarrojo respectivamente.

Las tablas 2.4 y 2.5 nos muestran simulaciones de Montecarlo de donde podemos obtener una razón de razones y asociarla a sus valores de saturación de oxígeno. En la figura 4.9 graficamos la razón de razones obtenida con los resultados de las simulaciones para las longitudes de onda de 633 y 940 nm.

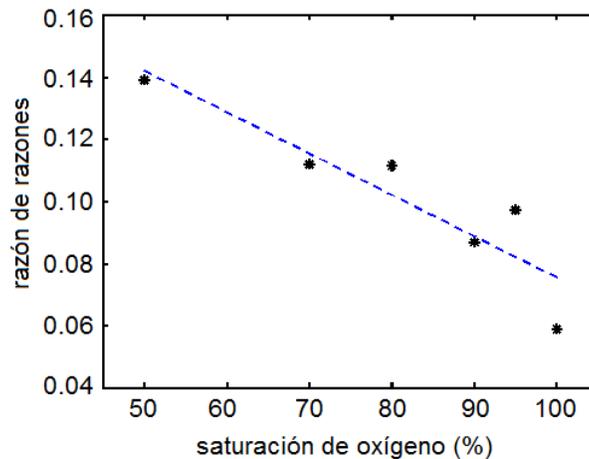


Figura 4.9. Relación entre la saturación de oxígeno del tejido y la razón de razones obtenida por fotopleletismografía remota para longitudes de onda de 633 y 940 nm. La línea de tendencia se obtiene por regresión de mínimos cuadrados y puede emplearse para realizar la calibración del instrumento.

Si deseamos obtener mapas de saturación de oxígeno con un sistema de fotopleletismografía de imágenes y además igualar la resolución de 1% en las lecturas que presentan los equipos comerciales debemos considerar la sensibilidad y resolución del detector. De acuerdo al ajuste lineal por mínimos cuadrados realizado sobre la muestra de datos graficados en la figura 4.9 podemos determinar que un cambio de 1% en la saturación de oxígeno corresponde a una variación de 35 paquetes de fotones para la longitud de onda de 633 nm, y 42 paquetes de 940 nm.

El rango dinámico mínimo para un detector (ya sea CCD o CMOS) que permita obtener mapas de saturación de oxígeno con una resolución de 1 % es de 6906:1 ya que deberá detectar un cambio mínimo esperado de 35 paquetes de fotones (633 nm, $\Delta SpO_2 = 1\%$) sobre un nivel promedio de señal de 241 696 paquetes de fotones (633 nm, $SpO_2 = 100\%$, y fase diástole).

De esta manera es como la fotopletismografía remota tiene la capacidad de extraer información valiosa del interior del organismo como el grado de elasticidad del sistema vascular o mapas de saturación de oxígeno²⁵⁻³⁰.

4.7 REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

1. G. Paez, C. Vazquez-Jaccaud, M. Strojnik, “Development of noise-immune oximetry: theory and measurement,” in *Unconventional Imaging II*, V. Gamiz, P. Idell, M. Strojnik, Eds., Proc. SPIE **6307**, Bellingham (WA), 63070F (2006).
2. L. Wang, H. Wu, *Biomedical optics: principles and imaging*, John Wiley and Sons, Hoboken (NJ), 83-118 (2007).
3. M. Strojnik and G. Paez, “Radiometry,” in *Handbook of Optical Engineering*, D. Malacara, B. Thompson, Eds., 649-700, Marcel Dekker (2001).
4. T. Aoyagi, “Pulse oximetry: its invention, theory, and future,” *J. Anesth.* **17**, 259–266 (2003).
5. C. Vazquez-Jaccaud, G. Paez, and M. Strojnik, “Wavelength selection method with standard deviation: application to pulse oximetry,” *Ann. Biomed. Eng.* **39**(7), 1994-2009 (2011).
6. W. Krzanowski, *Statistical Principles and Techniques in Scientific and Social Research*, Oxford University Press, New York (2007).
7. B. S. Kim, and S. K. Yoo, “Motion artifact reduction in photoplethysmography using independent component analysis,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **53**(3), 566–568 (2006).
8. C. G. Scully, J. Lee, J. Meyer, A. M. Gorbach, D. Granquist-Fraser, Y. Mendelson, and K. H. Chon, “Physiological parameter monitoring from optical recordings with a mobile phone,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **59**(2), 303–306 (2012).
9. G. Cennini, J. Arguel, K. Akşit, and A. van Leest, “Heart rate monitoring via remote photoplethysmography with motion artifacts reduction,” *Opt. Express* **18**(5), 4867-4875 (2010).
10. S. Hu, V. Azorin-Peris, A. Echiadis, J. Zheng, and P. Shi, “Development of effective photoplethysmographic measurement techniques: from contact to non-contact and from point to imaging,” *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2009*, 6550-6553 (2009).
11. A. A. Kamshilin, S. Miridonov, V. Teplov, R. Saarenheimo, and E. Nippolainen, “Photoplethysmographic imaging of high spatial resolution,” *Biomed. Opt. Express* **2**(4), 996–1006 (2011).
12. Y. Sun, S. Hu, V. Azorin-Peris, S. Greenwald, J. Chambers, and Y. Zhu, “Motion-compensated noncontact imaging photoplethysmography to monitor cardiorespiratory status during exercise,” *J. Biomed. Opt.* **16**, 077010 (2011).

13. M. J. Hayes and P. R. Smith, "Artifact Reduction in Photoplethysmography," *Appl. Opt.* **37**(31), 7437-7446 (1998).
14. M. Z. Poh, D. J. McDuff, and R.W. Picard, "Non-contact, automated cardiac pulse measurements using video imaging and blind source separation," *Opt. Express*, **18**(10), 10762-10774 (2010).
15. P. Pelegris, K. Banitsas, T. Orbach, and K. Marias, "A novel method to detect heart beat rate using a mobile phone," in "Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2010 Annual International Conference of the IEEE," (IEEE, 2010), pp. 5488–5491.
16. P. Shi, V. Azorin-Peris, A. Echiadis, J. Zheng, Y. Zhu, P. Y. S. Cheang, and S. Hu, "Non-contact reflection photoplethysmography towards effective human physiological monitoring," *J. Med. Biol. Eng.* **30**(3), 161-167 (2010).
17. J. Allen and A. Murray, "Age-related changes in the characteristics of the photoplethysmographic pulse shapes at various body sites," *Physiol. Meas.* **24**(2), 297-307 (2003).
18. C. Vazquez-Jaccaud, G. Paez, and M. Strojnik, "Noise-immune oximetry employing a new expression for oxygen saturation in blood," *Proc. SPIE* **6678**, 66781N (2007).
19. C. Vazquez-Jaccaud, G. Paez, M. Strojnik, "Evaluation of oxygen saturation using a heart simulator," in *Infrared Spaceborne Remote Sensing and Instrumentation XVI*, M. Strojnik, Ed., Proc. SPIE **7082**, Bellingham (WA), 70820O (2008).
20. C. Vazquez-Jaccaud, G. Paez, M. Strojnik, "Noise-immune oximetry employing a new expression for oxygen saturation in blood," in *Infrared Spaceborne Remote Sensing and Instrumentation XV*, M. Strojnik, Ed., Proc. SPIE **6678**, Bellingham (WA), 66781N (2007).
21. J. Farmer, "Blood oxygen measurement," in *Design of pulse oximeters*, J. Webster, Institute of Physics, Bristol, (1997).
22. O. Wieben, "Light absorbance in pulse oximetry," in *Design of pulse oximeters*, J. Webster, Institute of Physics, Bristol, (1997).
23. M. Nitzan and S. Engelberg, "Three-wavelength technique for the measurement of oxygen saturation in arterial blood and in venous blood," *J. Biomed. Opt.* **14**(2), 024046 (2009).
24. M. Strojnik and G Paez, "Spectral dependence of absorption sensitivity on concentration of oxygenated hemoglobin: pulse oximetry implications," *J. Biomed. Opt.* **18**, 108001 (2013).
25. T. Li, Y. Lin, Y Shang, L He, C. Huang, M. Szabunio, and G. Yu, "Simultaneous measurement of deep tissue blood flow and oxygenation using noncontact diffuse correlation spectroscopy flow-oximeter," *Sci. Rep.* **3**, 01358 (2013).

26. W. Verkruysse, L. O. Svaasand, and J. S. Nelson, "Remote plethysmographic imaging using ambient light," *Opt. Express* **16**(26), 21434-21445 (2008).
27. L. A. M. Aarts, V. Jeanne, J. P. Cleary, C. Lieber, J. S. Nelson, S. Bambang Oetomo, and W. Verkruysse, "Non-contact heart rate monitoring utilizing camera photoplethysmography in the neonatal intensive care unit - a pilot study," *Early Hum. Dev.* **89**, 943–948 (2013).
28. F. P. Wieringa, F. Mastik, and A. F. W. van der Steen, "Contactless multiple wavelength photoplethysmographic imaging: a first step toward "SpO2 camera" technology," *Ann. Biomed. Eng.* **33**(8), 1034-1041 (2005).
29. F. P. Wieringa, F. Mastik, R. H. Boks, A. Visscher, A. J. J. C. Bogers, and A. F. W. van der Steen, "In Vitro Demonstration of an SpO2-Camera," *Comput. Cardiol.* **34**, 749-751 (2007).
30. K. Humphreys, T. Ward, and C. Markham, "Noncontact simultaneous dual wavelength photoplethysmography: a further step toward noncontact pulse oximetry," *Rev. Sci. Instrum.* **78**(4), 044304 (2007).

CAPÍTULO V

Conclusiones

La simulación de Montecarlo es una técnica computacional que nos permite evaluar fenómenos como la interacción de la radiación con el tejido biológico. En el capítulo 2 mostramos dos simulaciones para identificar la factibilidad de realizar oximetría de pulso remota, una en configuración de transmisión y la otra en configuración de retroesparcimiento.

En la primera simulación mostramos la factibilidad de la detección de fotones balísticos a través de una muestra de sangre. Los resultados de la simulación nos muestran no sólo el hecho de que existe una fracción de fotones balísticos que logran atravesar la muestra sino que los mismos logran adquirir información acerca de las características ópticas de la muestra de tejido biológico. En este estudio se demuestra que la cantidad de fotones balísticos que pueden transiluminar la muestra y ser detectados depende de la longitud de onda y de la saturación de oxígeno de la muestra de sangre. Al emplear dos longitudes de onda, una en el rojo y otra en el infrarrojo cercano, encontramos que la cantidad de fotones balísticos en la primera es directamente proporcional a la saturación de oxígeno de la sangre mientras que en la segunda es inversamente proporcional. Lo anterior nos indica que por medio de la transiluminación de fotones balísticos se puede realizar oximetría de pulso remota.

En la segunda simulación pudimos observar los efectos del retroesparcimiento de la radiación visible e infrarroja cercana sobre el modelo de la piel de 5 capas. En la simulación se hace evidente que la radiación que logra penetrar hasta las capas vascularizadas de la dermis y emerge de regreso por la superficie de la piel porta información acerca del volumen sanguíneo instantáneo. Un monitoreo continuo a lo largo del tiempo puede mostrar las variaciones del volumen sanguíneo en la zona intradérmica. Por los resultados de las simulaciones también podemos identificar una dependencia espectral de la señal retroesparcida en relación a la saturación de oxígeno de la sangre.

En el capítulo 3 propusimos un nuevo método para detectar y cuantificar las variaciones de densidad en tejidos biológicos y otras muestras de baja transmisión. La propuesta se basa en el principio de que en un arreglo interferométrico los fotones balísticos obtenidos en el brazo de la muestra mantienen su coherencia con respecto a aquellos en el brazo de referencia.

Desarrollamos las expresiones analíticas que relacionan el número de fotones balísticos de transmisión con la concentración de los centros de absorción y esparcimiento. Describimos un arreglo interferométrico de haz desigual, lo que permite una atenuación en la potencia de la muestra de hasta 10^{-14} . Concebimos e implementamos un montaje experimental que incorpora delgados haces de prueba en un interferómetro de Mach-Zehnder modificado, con un actuador piezoeléctrico para la igualación de caminos ópticos.

Presentamos también la descripción teórica de la técnica de interferometría e identificamos el pico de modulación medido en base a la transmisión del campo en la muestra. Desarrollamos el análisis que sustenta el proceso de calibración de la muestra y elaboramos el procedimiento experimental requerido. Por último, demostramos cómo obtener las variaciones en las concentraciones del camino integrado con esta técnica.

Describimos la configuración experimental para separar los fotones balísticos de aquellos que resultan esparcidos y cuantificamos los resultados medidos. El interferómetro modificado incorpora dos haces desiguales en un arreglo de un solo paso y además emplea un circuito de disparo para detectar la amplitud del patrón interferométrico. Empleamos un método de calibración con tejido simulado para determinar los factores de absorción y esparcimiento correspondientes a la muestra bajo estudio. Estos factores han sido empleados para calcular la concentración integrada de partículas en los resultados experimentales. Con esto demostramos la viabilidad de la caracterización de tejido empleando haces balísticos de manera experimental, lo que nos otorga la capacidad de mejorar el diseño de experimentos en los que intervengan los fotones balísticos en el estudio de tejidos biológicos.

En el capítulo 4 mostramos un sistema de fotopletismografía de imágenes que permite extraer información valiosa del interior del organismo como lo son parámetros de saturación de oxígeno en la sangre o el grado de elasticidad del sistema vascular del voluntario o paciente. Para el sistema de fotopletismografía de imágenes la fuente de iluminación proyectará un haz perpendicular a la piel del sujeto y el sujeto bajo prueba permanecerá inmóvil para mantener los niveles de ruido lo más bajos que sea posible.

Considerando que una iluminación uniforme sobre la piel se modele como un conjunto infinito de haces infinitesimalmente delgados, cada haz producirá el patrón de retroesparcimiento modelado por las simulaciones de Montecarlo, el cual resultará útil para extraer información fotopletismográfica y mapas de oximetría de las regiones analizadas de la piel. La simulación de Montecarlo demostró también que para una longitud de onda en el infrarrojo cercano a 940 nm la señal pulsátil es de cinco a diez veces mayor que la señal de rojo a 633 nm. La

simulación mostró también que la amplitud promedio de cualquiera de estas señales es de decenas a cientos de veces mayor que su variación a causa de un cambio de saturación de oxígeno del 1%.

Demostramos la necesidad de una reconstrucción hasta el sexto armónico para identificar la forma de onda fotopleletismográfica no sólo para obtener la frecuencia cardiaca sino para obtener información morfológica, lo cual se logra a una velocidad de captura de 40 cuadros por segundo. La información morfológica contenida en la señal de imagen fotopleletismográfica servirá para determinar la homogeneidad del flujo sanguíneo en la zona analizada así como la condición del sistema cardiovascular, lo cual nos permitiría identificar tejido anormal, oclusiones vasculares y regiones con baja perfusión. Para el análisis morfológico de la señal probamos que el tratamiento con series de Fourier ofrece resultados aceptables, sin embargo por la naturaleza cuasiperiódica de la señal y su rango de frecuencias acotado existen técnicas más específicas y que numéricamente son más eficientes como el algoritmo de Goertzel o el análisis de resolución variable por medio de la transformada wavelet.

Con el fin de desarrollar el sistema avanzado de formación de imágenes fotopleletismográficas con la capacidad de realizar oximetría remota, debemos emplear una fuente de iluminación que cubra la banda de 590 nm a 910 nm como mínimo, una cámara de alta resolución con capacidad de detectar el rango visible y el infrarrojo cercano. Para lograr la precisión de los oxímetros de pulso comerciales la cámara debe tener un rango dinámico superior a 6906:1, es decir 13 bits de resolución para el caso ideal de ruido nulo.

Podemos concluir que la extracción de información sub-superficial de un tejido complicado como lo es el tejido biológico por medio de fotopleletismografía de imágenes no es una tarea simple. Existen múltiples factores que deben tomarse en cuenta como la alta sensibilidad al movimiento de la muestra que obliga a un pre-procesamiento de la secuencia de imágenes para lograr un correcto desempeño, incluso en el caso de que se presenten artefactos de movimiento o bajos niveles de perfusión.

Con este trabajo hemos demostrado la factibilidad de la técnica, la cual nos permite lograr un sistema avanzado de diagnóstico óptico no invasivo y de no contacto que puede implementarse por transiluminación de tejido con fotones balísticos o por medio de análisis de imágenes fotopleletismográficas obtenidas por retroesparcimiento.

APÉNDICE A

En las siguientes figuras se muestran dos de los montajes de laboratorio empleados en el desarrollo de nuestra investigación y descritos previamente en los capítulos 3 y 4 de esta tesis.

El primero de ellos es un interferómetro de Mach-Zehnder de dos haces de intensidad desigual para compensar la gran atenuación producida por la muestra. Se muestra en la figura A.1 que ambos brazos del interferómetro tienen aproximadamente la misma longitud de camino óptico previo a la colocación de la muestra.

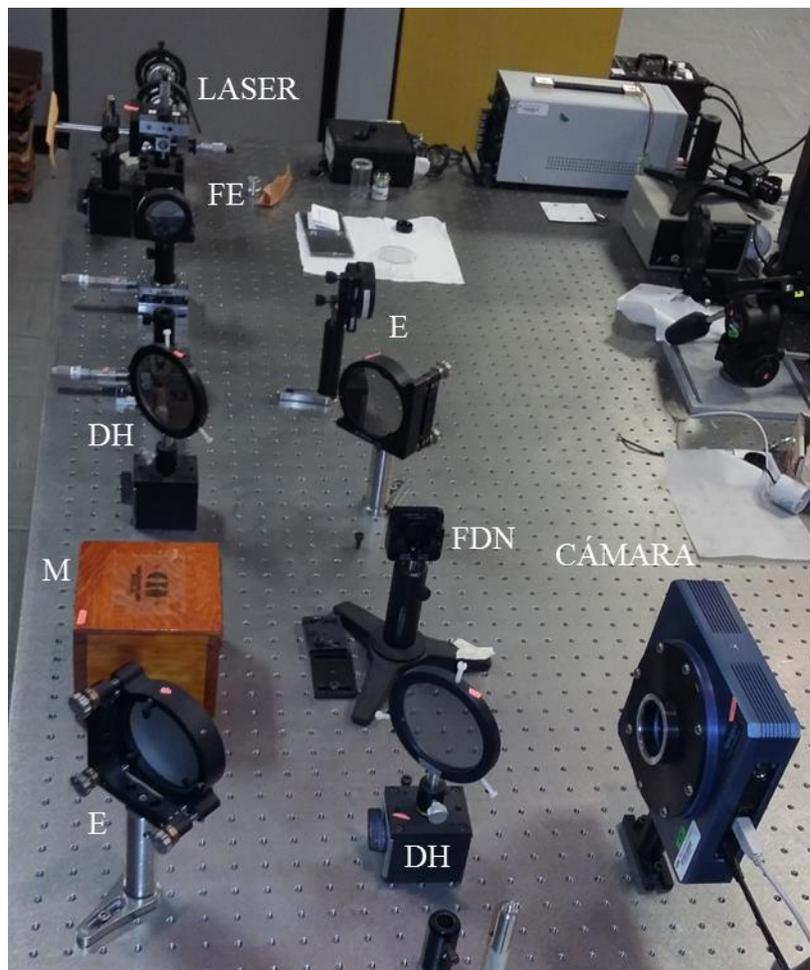


Figura A.1. Montaje de laboratorio de un interferómetro Mach-Zehnder de brazos de intensidad desigual que identifica los fotones balísticos. LASER es la fuente de luz láser, FE es el filtro espacial, DH son divisores de haz 98/2, M es el espacio para colocar la muestra, E son espejos, FDN es el filtro de densidad neutra y CÁMARA es la cámara de alta sensibilidad.

El montaje mostrado en la figura A.2 nos permitió determinar las longitudes de onda óptimas para estudios de fotopletismografía remota. Es un arreglo de reflectancia difusa en el que se aísla la región de interés del tejido bajo prueba a través de una ventana en una pantalla de cartón. La radiación retroesparcida se concentra por medio de una lente fotográfica y es canalizada hacia el espectrómetro a través de fibra óptica.

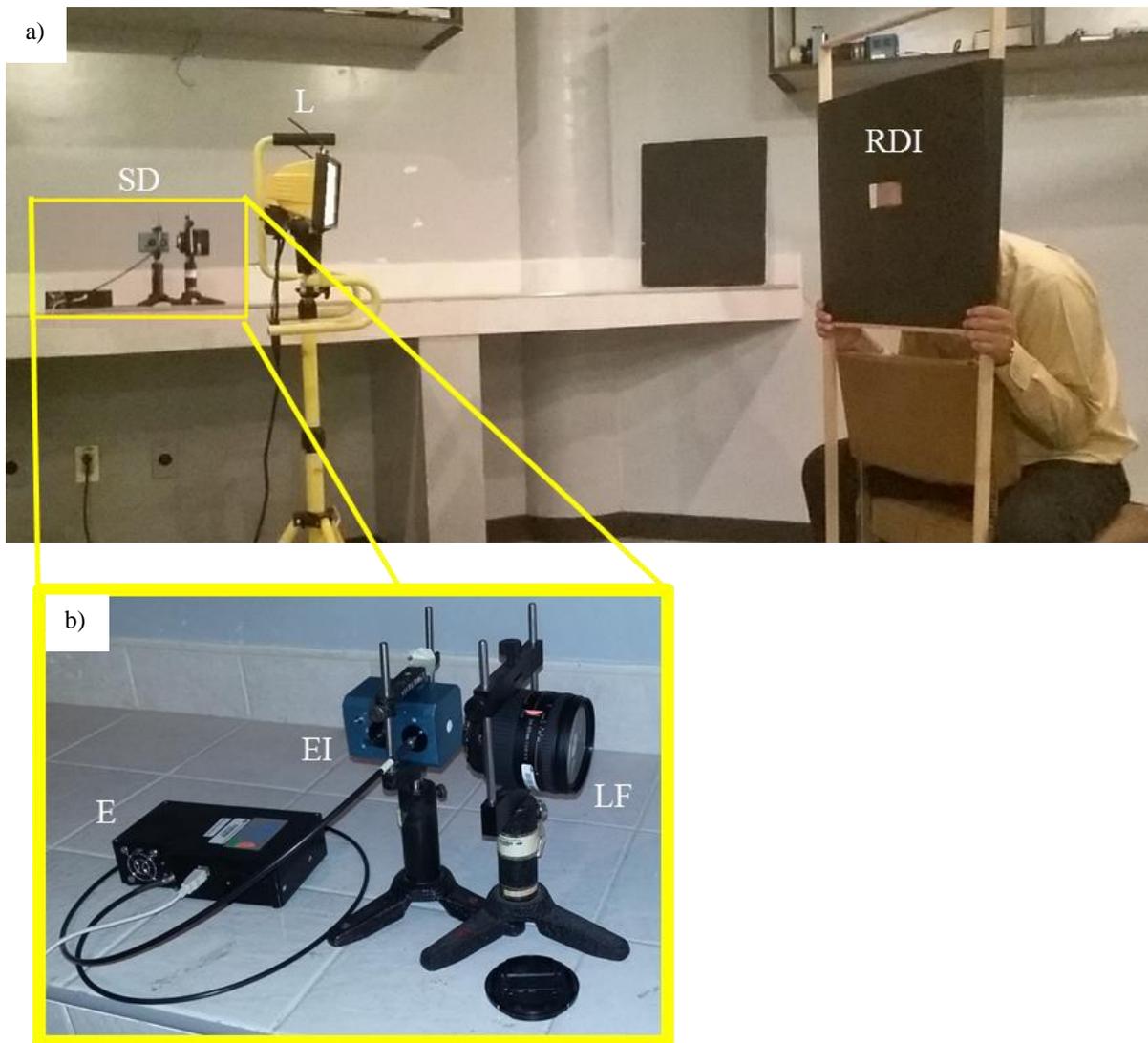


Figura A.2. Montaje de laboratorio del sistema de reflectancia difusa. (a) muestra el arreglo completo en donde L es la fuente luminosa, RDI es la región de interés y SD es el sistema de detección. (b) muestra el detalle del sistema de detección, donde LF es la lente fotográfica, EI es una esfera integradora y E es el espectrómetro.