



**SISTEMA DE TOMOGRAFÍA ÓPTICA COHERENTE
ESPECTRAL SENSIBLE A POLARIZACIÓN PARA EL
ESTUDIO DE BIRREFRINGENCIA EN CORNEAS PORCINAS**

Presenta:

Ing. Manuel De Jesús Briones Reyes

Asesor:

Dr. Manuel Humberto De la Torre Ibarra

Como requisito para la obtención del grado Maestro en
Optomecatrónica

León Guanajuato, México, Octubre de 2010

Agradecimientos:

A Conacyt, sin su ayuda mis estudios de maestría no habrían sido posibles.

A Manuel de la Torre, mi asesor, por su paciencia y consejos.

A Rafael Luna por sus asesorías y apoyo.

A mi familia, quienes me apoyaron en todo momento y dieron ánimos para seguir adelante.

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad se buscan nuevas formas y técnicas ópticas para obtener información de utilidad en el área médica. Las técnicas que mejor acogidas han sido incluyen el ya popular ultrasonido y los rayos x (aunque estos últimos dañinos) ofrecen información sin necesidad de causar trauma.

La razón principal para que sean tan populares se encuentra en que son técnicas no invasivas. Las técnicas no invasivas se destacan por no modificar el objeto de muestra. Por ejemplo, los glucómetros que requieren de una muestra de sangre, serían un buen ejemplo de aparatos que hacen uso de técnicas invasivas, mientras que los glucómetros ópticos (diabetes care club) son no invasivos.

Otra técnica no invasiva que ha tomado gran importancia es la tomografía de coherencia óptica (OCT: Optical Coherence Tomography). Ésta técnica es muy conocida en la oftalmología (ciencia que estudia las patologías del sistema ocular).

La diferencia principal entre todas las técnicas mencionadas, tiene que ver con la resolución y profundidad de penetración que éstas alcanzan. El ultrasonido alcanza mayor penetración (alrededor de los 10 cm) comparada con OCT (3 mm máximo), sin embargo no tiene la misma resolución que alcanza la OCT, aproximadamente 10 μm del ultrasonido y 1 μm en OCT. Ésta es la razón por la cual la OCT se usa principalmente en la oftalmología, ya que los espesores de las diversas componentes del sistema visual no superan los 3 mm, y dada la resolución que se tiene, se logra obtener una imagen aceptable de la estructura interna de éstas componentes.

El interés por la OCT comenzó a mediados de los años 90, cuando tuvo un impacto significativo en el diagnóstico médico. Las áreas de aplicación comenzaron a diversificarse abarcando la dermatología, gastroenterología, neurología, estudio cardiovascular, etc; sin embargo, por la cantidad de artículos publicados en las diversas áreas médicas, se hace notar una mayor presencia en la oftalmología, área en la que se han presentado gran cantidad de trabajos, principalmente relacionados con la retina.

El capítulo 2 muestra las bases teóricas que sustentan la tesis (birrefringencia, luz polarizada, difracción y esparcimiento), así como el avance que se ha tenido en la OCT y sus diversas ramificaciones que se han generado a partir del diseño de nuevas técnicas tomográficas, tales como la OCT espectral y la OCT sensible a polarización. En esta tesis se describe un sistema de tomografía espectral para el estudio de la birrefringencia y deformación en córneas porcinas con la finalidad de sentar las bases para el desarrollo de un prototipo comercial en trabajos futuros. La información tomográfica se obtiene gracias al fenómeno de esparcimiento.

En el capítulo 3 se muestra el desarrollo del proyecto, comenzando con la validación del sistema. Continuando con la parte medular del proyecto, un arreglo OCT espectral sensible a polarización. Con este sistema se realizaron pruebas en córneas porcinas, con el objetivo de observar el cambio de fase producida por la birrefringencia del medio biológico. De la misma forma, el trabajo aborda un punto importante que no ha sido estudiado hasta la fecha: el cambio de fase por deformación inducida sobre estas córneas para cada estado de polarización.

En el capítulo 4 se discuten los resultados obtenidos de las pruebas realizadas. Así mismo se mencionan algunas posibles mejoras en el sistema. El objetivo final del trabajo es implementar en un futuro el sistema tomográfico en el área médica obteniendo las patentes correspondientes como modelo de utilidad. Actualmente los sistemas comerciales tienen un costo elevado y las empresas que los ofrecen son extranjeras, dando como resultado un servicio de mantenimiento igualmente costoso y tardado. Este sistema está diseñado económicamente para ser competitivo en el mercado internacional en aquellas áreas en las que las grandes empresas no están interesadas en abordar, ya que son demasiado específicas como son la medición de esfuerzos internos en piezas metálicas.

2 TEORÍA BÁSICA

La tomografía de coherencia óptica (OCT: Optical Coherence Tomography) comenzó a desarrollarse a principios de los años 90. Hace uso de la baja longitud de coherencia de la fuente de iluminación para obtener una imagen tomográfica (perfil transversal) de un medio con poco esparcimiento (fenómeno en el cual los fotones al viajar a través de un medio no homogéneo, son dispersados de forma aleatoria debido al cambio de índice de refracción) (ver Figura 2.1).

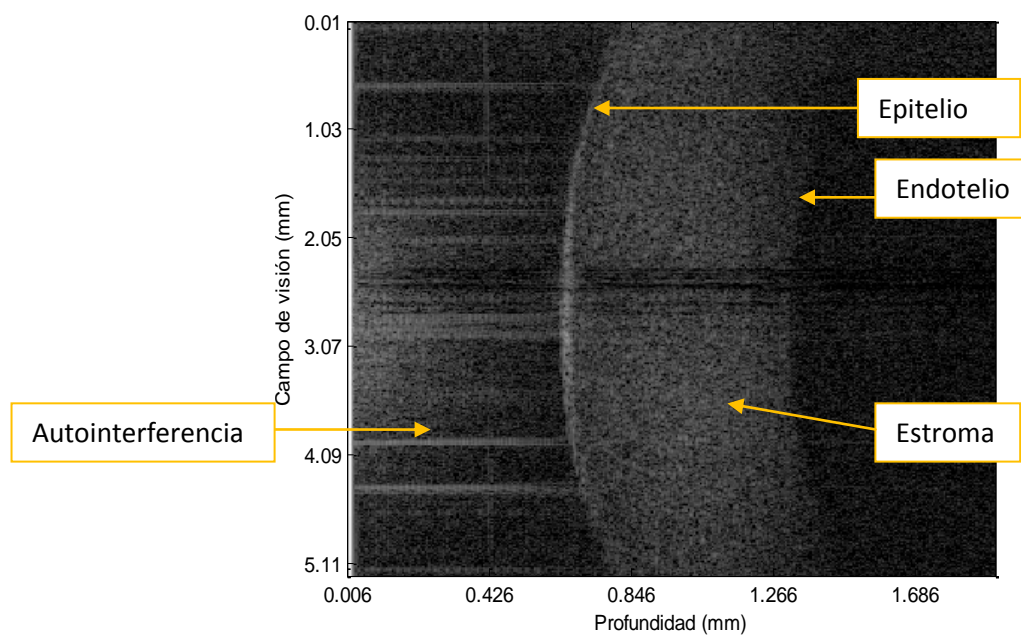


Figura 2.1 Imagen tomográfica de una córnea.

El interés por OCT aumentó a mediados de los años 90, cuando comenzó a usarse para el estudio de la patología macular [1]. Esta técnica es capaz de diferenciar entre los fotones que han sido modificados en trayectoria (esparcidos) y los que no han sufrido cambio (no esparcidos) dentro del medio, lo cual permite obtener imágenes de medios de bajo esparcimiento. Otra razón que hace tan llamativa esta técnica en el ámbito médico es que trabaja en el visible e infrarrojo cercano, lo cual la hace no dañina para tejido orgánico (a baja potencia y en tiempos de exposición cortos).

2.1 PRINCIPIOS DE ÓPTICA

A continuación se describen algunos conceptos básicos que se tomaron en cuenta para la investigación previa al desarrollo de un sistema de OCT. Se describe el principio básico de OCT, la interferencia debida a la corta longitud de coherencia de la fuente de iluminación que se usa. También se describe el esparcimiento, gracias al cual se puede obtener información del medio de prueba. Y para finalizar esta sección, se presenta el concepto de resolución que nos dirá el tamaño mínimo de los objetos que se pueden observar.

2.1.1 COHERENCIA PARCIAL

En la mayoría de las fuentes de luz, las ondas electromagnéticas no están bien correlacionadas. Así, la fase de la luz varía aleatoriamente y el efecto de interferencia se elimina por promedio. Este es el caso de la luz incoherente. Existe

un punto medio conocido como luz parcialmente coherente, donde la luz puede ser casi coherente (sin llegar a serla en su totalidad), o de baja coherencia.

La luz parcialmente coherente tiene una longitud de coherencia, la cual se puede definir como una medida aproximada de la distancia dentro de la cual puede interferir consigo misma.

Las propiedades de coherencia de la luz pueden ser cuantificadas usando una medida llamada “grado complejo de coherencia”.

La función de autocoherencia $\Gamma(\tau)$ de la luz, está definida como:

$$\Gamma(\tau) \equiv \langle u(t + \tau)u(t) \rangle \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde $u(t)$ es la perturbación en el tiempo t y $\tau = t_2 - t_1$.

Normalizando esta función, se obtiene el grado complejo de coherencia $\gamma(\tau)$:

$$\gamma(\tau) = \frac{\Gamma(\tau)}{\Gamma(0)} \quad \text{Ecuación 2.2}$$

El tiempo de coherencia τ_c está definido como:

$$\tau_c = \int_{-\infty}^{\infty} |\gamma(\tau)|^2 d\tau \quad \text{Ecuación 2.3}$$

La longitud de coherencia l_c puede ser obtenida a partir del tiempo de coherencia:

$$l_c \equiv c\tau_c \quad \text{Ecuación 2.4}$$

Donde c es la velocidad de la luz.

Suponiendo que el espectro del haz es Gaussiano y existe esparcimiento hacia atrás (backscattering en inglés, ver Figura 2.2) (para estudiar el desarrollo véase [2]):

$$l_c = \frac{1.386}{\pi} \frac{\lambda_c^2}{\Delta\lambda} \quad \text{Ecuación 2.5}$$

Donde λ_c es la longitud de onda central de la fuente de iluminación y $\Delta\lambda$ es su ancho de banda.



Figura 2.2 Representación del backscattering o esparcimiento hacia atrás; es la luz que se dispersa en la misma dirección del haz incidente, pero con sentido opuesto.

2.1.2 LONGITUD DE ONDA

El tejido biológico es un medio no homogéneo. El esparcimiento en estos tejidos decrece poco con el incremento de la longitud de onda con la que son irradiados. Los tejidos biológicos presentan cierta preferencia por el esparcimiento hacia adelante y hacia atrás con luz roja y el infrarrojo cercano (NIR: Near-infrared). De ahí que, el espectro visible del rojo y NIR sean una ventana común para el análisis óptico de tejidos no importando que la absorción del agua incremente en esa zona [3].

2.1.3 ANCHO ESPECTRAL

El ancho espectral es un parámetro muy importante para OCT, se encuentra presente en la ecuación para obtener la resolución de profundidad y longitud de coherencia (Ecuación 2.5).

La función de ensanchamiento de punto (PSF: Point Spread Function) está dada por la transformada de Fourier del espectro de la fuente. Dado que la imagen tomográfica de una muestra es la convolución de la PSF de la fuente con el perfil de reflectancia de la muestra, el espectro es un factor que debe considerarse en el diseño del sistema. Las funciones gaussianas y secantes hiperbólicas tienen la ventaja de que su autocorrelación no presenta lóbulos laterales. Los lóbulos laterales tienen el efecto no deseado de producir ecos de las estructuras. Muchos fabricantes amplían el ancho de banda del diodo superluminiscente (SLD: Super Luminiscent Diode) colocando dos semiconductores con espectros cercanos, causando la aparición de lóbulos en la función de ensanchamiento de punto como se ve en la Figura 2.3.

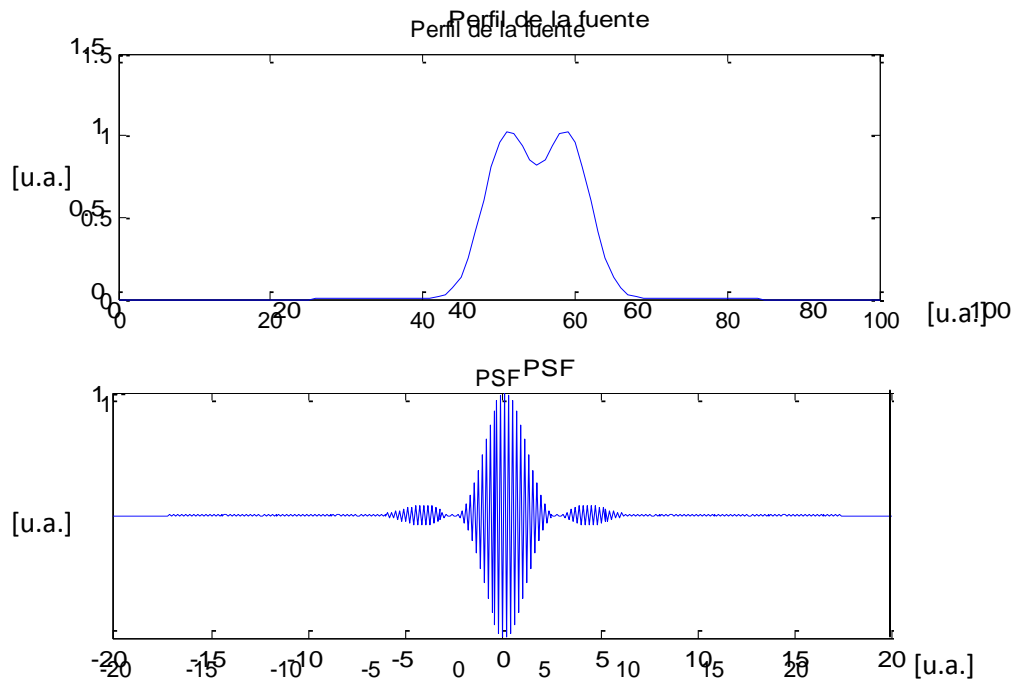


Figura 2.3 Función de ensanchamiento de pulso para una fuente con dos gaussianas traslapadas. [u.a.] = unidades arbitrarias.

2.1.4 INTERFERENCIA DE DOS HACES

La técnica OCT está basada en la coherencia temporal y la interferencia en un punto. La interferencia es un fenómeno que ocurre cuando dos o más ondas de luz se superponen en la misma región del espacio. El principio de superposición sugiere que la perturbación resultante en un punto de un medio es la suma algebraica de sus ondas constitutivas separadas.

Para simplificar, se hará la suposición de que las ondas que interferirán vibran en el mismo plano y siguen la misma trayectoria (tal es el caso de un interferómetro de Michelson).

La interferencia de dos fuentes en un punto está dada por:

$$I(t) = (I_o + I_r) + Re[\langle E_r(t + \tau)E_o^*(t) \rangle] \quad \text{Ecuación 2.6}$$

Donde I es la intensidad de los haces en el punto de interferencia, los sufijos o y r se refieren a objeto y referencia respectivamente, τ es la separación temporal de los dos haces, $E(t)$ es el campo eléctrico en el tiempo t , e $I = \langle E^2 \rangle$ se refiere a la intensidad del campo eléctrico promediado en el tiempo. El superíndice $*$ significa que el campo eléctrico puede no ser el mismo después de interactuar con el medio en el brazo objeto.

Suponiendo que ambos brazos actúan como espejos perfectos (sin absorción ni transmitancia), el término de interferencia puede ser reescrito como:

$$Re[\langle E_r(t + \tau)E_o^*(t) \rangle] = |G(\tau)| \cos(2\pi\nu_o\tau + \phi(\tau)) \quad \text{Ecuación 2.7}$$

Donde $G(\tau)$ es la función de coherencia temporal compleja (función de autocorrelación o función de autocoherencia), ν_o es la frecuencia central, y $\phi(\tau)$ es la fase relativa entre los dos brazos. Usando el teorema de Wiener-Khintchine:

$$G(\tau) = \int_0^\infty S(\nu) e^{-2\pi i \nu \tau} d\nu \quad \text{Ecuación 2.8}$$

Donde $S(\nu)$ es la densidad de potencia espectral de la fuente en función de la frecuencia. De este modo, el desplazar el espejo de referencia producirá intensidades variantes con valor de $I(t) = 0.5(I_o + I_r)$.

2.1.5 ESPARCIMIENTO

El esparcimiento es un fenómeno en el cual los fotones al viajar a través de un medio no homogéneo, son dispersados de forma aleatoria debido al cambio de índice de refracción.

Una parte de los fotones refractados (esparcidos) regresan en la dirección de propagación original, pero su camino óptico es mayor al de los fotones que no se desviaron.

La dirección que tomen los fotones debido a las partículas dispersoras en el medio depende del ángulo de incidencia, así como en la relación de tamaños entre la partícula y la longitud de onda.

Cuando la partícula dispersora es de un tamaño menor o similar a la longitud de onda se presentará el esparcimiento Rayleigh (isotrópico), mientras que para el caso en el que el tamaño de la partícula es mayor a la longitud de onda, se presenta el esparcimiento Mie que tiende a ser de esparcimiento hacia adelante.

Como se mencionó en la sección 2.1.1, las fuentes de luz tienen una cierta longitud de coherencia, así pues, cuando un fotón es desviado de su trayectoria por el medio dispersor, este puede perder la propiedad de coherencia debido al incremento de

camino óptico respecto a la trayectoria de aquellos fotones que no fueron desviados.

Existen cuatro tipos de trayectorias que pueden seguir los fotones en un medio dispersor (ver Figura 2.4). La primera es aquella en la cual los fotones no son desviados de su trayectoria original y se denominan fotones “balísticos”. La segunda, es cuando los fotones son desviados, pero aun se encuentran dentro de la longitud de coherencia de la fuente de iluminación y son llamados fotones “semibalísticos”. La tercera posible trayectoria, sucede cuando los fotones son desviados y recorren una longitud extra mayor a la longitud de coherencia, a los fotones que describen este tipo de trayectoria se les denomina fotones “difusos”. La última posible trayectoria ocurre cuando el fotón es desviado de su trayectoria original y es esparcido en una dirección tal que no es captada por el sensor.

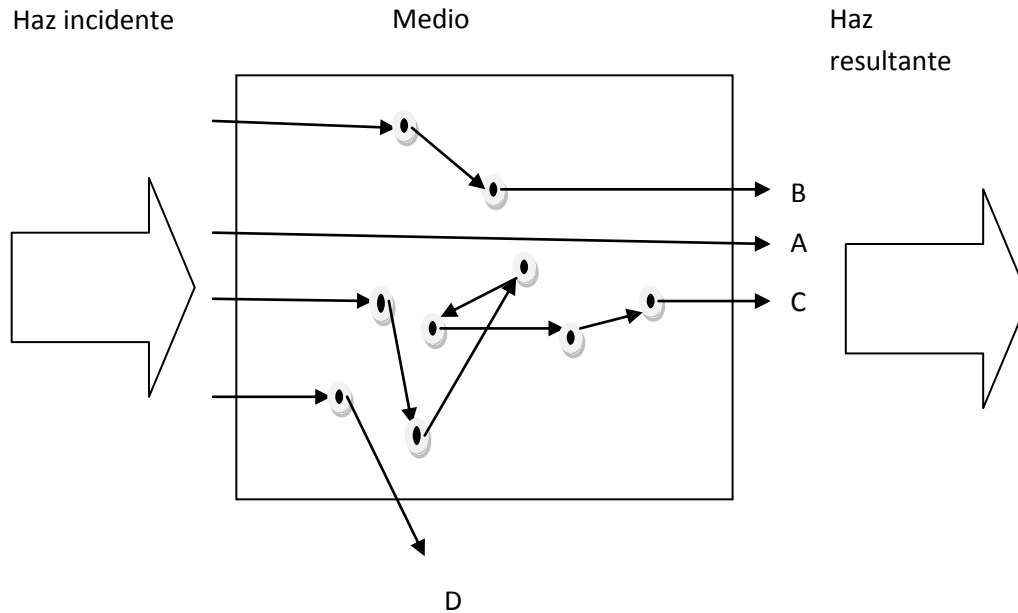


Figura 2.4 Trayectorias de fotones en un medio esparcidor. A = fotón balístico. B = fotón semibalístico. C= fotón difuso. D= Fotón esparcido fuera de la dirección original del haz incidente y no captado por el sensor.

2.1.6 RESOLUCIÓN

La resolución de profundidad (δ_{ZFWHM} , depth resolution en inglés) de un sistema OCT está definida por la longitud de coherencia (Ecuación 2.5).

La resolución lateral es determinada de una forma similar a la de la microscopía convencional. Su limitación es el tamaño de enfoque del haz, que depende de la longitud de onda y el número f (f#) de la lente:

$$\Delta L = \frac{4 \lambda}{\pi} f\# \quad \text{Ecuación 2.9}$$

ΔL es la resolución lateral. El f# de la lente es la relación entre la distancia focal de la lente y su diámetro de apertura efectivo, para el caso en que el área de la lente es mayor que el área del haz, f# está definido como la razón entre la distancia focal de la lente y el diámetro del haz.

La profundidad de foco (DOF: Depth of focus) también tiene relación con la resolución lateral y es igual a dos veces la distancia Rayleigh:

$$DOF = 2 \frac{\lambda}{\pi NA^2} \quad \text{Ecuación 2.10}$$

Donde NA es la apertura numérica.

Otro parámetro importante es la profundidad de campo, la cual se refiere a la distancia donde la muestra permanece con un enfoque aceptable:

$$b = 2 \pi \frac{\omega_0^2}{\lambda}$$

Ecuación 2.11

Donde ω_0 es el ancho de cintura del haz.

Una apertura numérica (NA: Numerical Aperture) mayor produce una profundidad de campo menor, dando como resultado un ancho de cintura del haz pequeño y por ende mejor resolución lateral (hasta llegar al límite de difracción), mientras que una apertura numérica menor provee de una mejor profundidad de campo, pero menor resolución lateral (Figura 2.5).

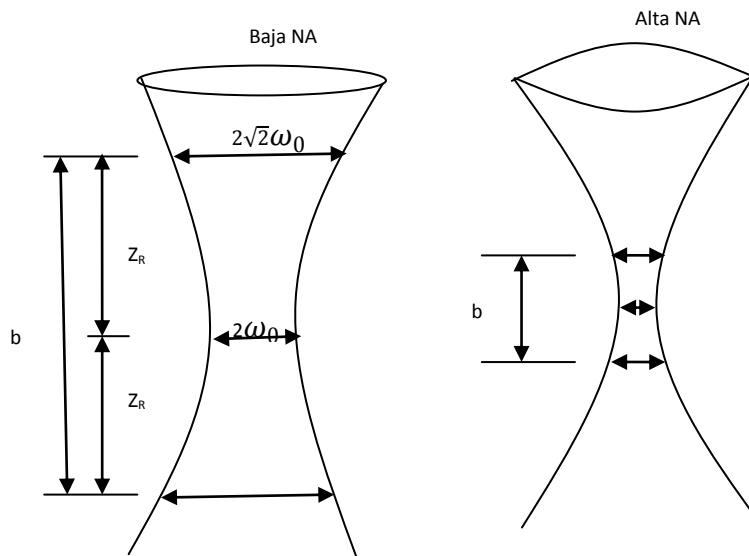


Figura 2.5 Efecto de la apertura numérica (NA por sus siglas en inglés). Z_R es la profundidad de foco.

2.1.7 OJO HUMANO

El ojo humano es un órgano semi-esférico que se divide en diversas partes [4], como puede observarse en la Figura 2.6. Sus propiedades y medidas aunque no son iguales en todas las personas tienden a un valor promedio (Tabla 2-1).

Tejido	Índice de refracción
Humor acuoso	1.336
Córnea	1.376
Cristalino	1.406
Humor vítreo	1.336

Tabla 2-1 índices de refracción de algunas partes del ojo.

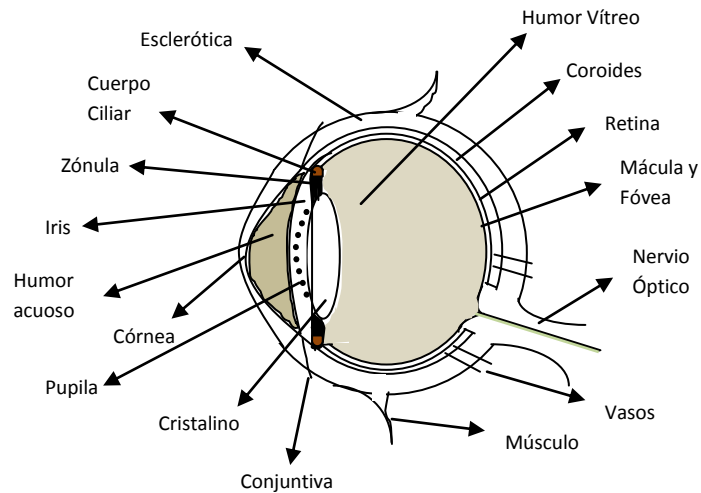


Figura 2.6 Partes del ojo humano.

A grandes rasgos, se puede decir que el ojo humano se compone de: globo ocular, vías ópticas y anexos.

El globo ocular se compone de tres capas y tres cámaras. Las capas son: la esclerocórnea, la úvea y la retina. Las cámaras: la anterior, la posterior y la vítrea.

La esclerocórnea es la capa exterior, y se compone de esclerótica y córnea. La esclerótica es la parte fibrosa que forma la "parte blanca del ojo", y tiene una función de protección. En su zona exterior está recubierta por una mucosa transparente llamada conjuntiva, cuya irritación da lugar a las conocidas y frecuentes conjuntivitis. La córnea, es la parte transparente de la capa externa, es la "ventana óptica" del ojo.

La úvea es la capa media, y tiene tres partes: La coroides, que está en la parte posterior, y tiene una función tanto nutritiva como de pantalla pigmentaria (para evitar que entre luz en el ojo por donde "no debe". El cuerpo ciliar, en la zona media, formado por los procesos ciliares (encargados de la secreción del líquido que rellena la cámara anterior y que se llama humor acuoso) y el músculo ciliar, encargado de variar la curvatura del cristalino para poder enfocar a distintas distancias. La tercera parte es el iris, que está en la zona anterior (es la parte coloreada del ojo) y cuya función es regular la cantidad de luz que entra en el interior del ojo, para lo cual varía su tamaño según la intensidad de luz. Inmediatamente atrás del iris y unido a los músculos ciliares está el cristalino, la lente del ojo por excelencia. Tiene forma de lente biconvexa y es capaz de variar su curvatura, y por tanto su potencia dióptrica por la acción de los músculos ciliares. Esto es lo que permite enfocar a distintas distancias.

La retina es la zona "sensible" del aparato visual. Es donde se forman las imágenes para poder "verlas" con nitidez. Su parte anterior es ciega, y su sensibilidad va en aumento conforme se va alejando de la zona anterior. El punto de máxima sensibilidad es una pequeña hendidura llamada fovea, que es donde se encuentra

una mayor concentración de las células responsables de la sensibilidad de la retina: conos y bastones. En la zona posterior hay una parte ciega, que es donde se conecta el nervio óptico y se llama papila.

La cámara anterior es la zona comprendida entre la córnea y el iris. Está rellena de humor acuoso, líquido transparente producido por los procesos ciliares y que es desaguado por el ángulo que forman iris y córnea. Problemas en este desagüe producen, lógicamente, aumento de la presión intraocular y dan lugar al glaucoma.

La cámara posterior, también rellena de humor acuoso, es la zona comprendida entre el iris y el cristalino, y es donde están los procesos ciliares.

La cámara vítrea, es la zona entre el cristalino y la retina, y está rellena de un gel transparente llamado humor vítreo.

Las vías ópticas constituyen la transmisión de los impulsos nerviosos desde la retina hasta la corteza cerebral a través del nervio óptico. Las células receptoras son los ya nombrados conos y bastones que transforman las imágenes recibidas en impulsos nerviosos que son trasladadas al cerebro a través del citado nervio.

Los anexos del aparato visual, son el sistema óculo-motor, compuesto por seis músculos externos que provocan la movilidad del globo ocular. El sistema de protección está compuesto por órbita, párpados, conjuntiva, lágrima, vías lagrimales y glándulas lagrimales.

2.1.7.1 CÓRNEA

La córnea es el primer elemento con el cual se encuentra la luz al viajar hacia la retina, es transparente, curva y representa 2/3 partes de la capacidad de enfoque del ojo. Consta de tres capas separadas por dos membranas: la externa es el epitelio corneal, compuesto por epitelio pluriestratificado (varias capas) no queratinizado con gran potencial regenerativo; la intermedia es el estroma (la capa más ancha de las tres) compuesta por tejido conjuntivo; y la interna es un endotelio monoestratificado (una sola capa de células) (Figura 2.7). Las dos membranas que separan el estroma de las otras dos son la membrana de Descemet, que la separa del endotelio, y la membrana de Bowman, del epitelio anterior. La mayor parte de la córnea está constituida por colágeno.

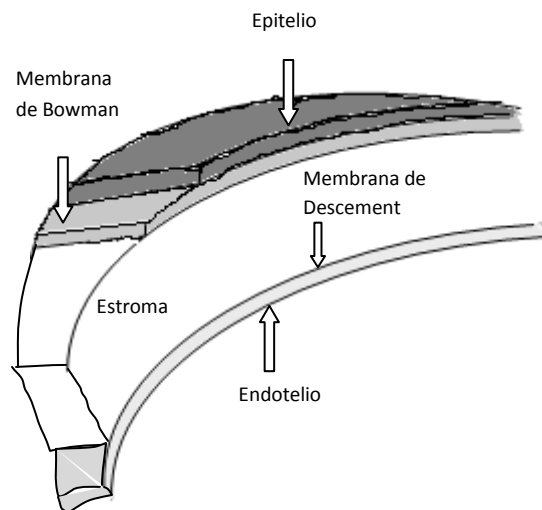


Figura 2.7 Capas de la córnea

La córnea es uno de los pocos tejidos del cuerpo que no posee irrigación sanguínea (no tiene vasos sanguíneos), pero sí está inervada (tiene sensibilidad). Es la porción anatómica del cuerpo humano que posee más terminaciones nerviosas sensoriales en relación a su tamaño. Se nutre de las lágrimas y del humor acuoso.

Los errores en la córnea pueden medirse con un instrumento llamado oftalmómetro o keratómetro [5].

Un problema común con la córnea, no propiamente enfermedades, son las abrasiones (cortes en la córnea). Estas pueden ser producidas por objetos tales como arena, polvo o viruta de madera o metal. La córnea también puede dañarse con una uña, con la rama de un árbol o con un lente de contacto. Incluso frotarse los ojos con mucha fuerza es otra forma de producir una abrasión. En algunas personas, las capas externas de la córnea son débiles. Estas personas pueden tener una abrasión en la córnea sin ningún motivo aparente [6].

Las dos principales enfermedades en la córnea son el edema y la queratitis. Cuando fallan los mecanismos que controlan la hidratación de la córnea se produce el edema que clínicamente responde a una alteración del epitelio. (Edema Circunscrito) o del endotelio (Edema Difuso).

La sintomatología puede ir desde molestias oculares poco precisas, hasta dolor muy intenso, especialmente cuando se rompen las vesículas dejando expuestas al exterior las terminaciones nerviosas sensitivas. Existe fotofobia (molestias con la luz) en mayor o menor intensidad, sensación de cuerpo extraño, enrojecimiento ocular, molestias oculares y dolor intermitente. Frecuentemente se deben a traumatismos por cuerpos extraños, radiaciones, procesos inflamatorios, lentes de contacto, etc.

La queratitis se puede dividir en superficial (úlceras corneales, queratitis punteada, queratitis degenerativa) e intersticial (difusa, disciforme) [7].

En estudios previos a una corrección de curvatura de córnea, se coloca un tonómetro de indentación o de aplanación para medir la presión intraocular. Estos tonómetros entran en contacto con la córnea presionándola en el centro y así obteniendo la presión intraocular promedio. La desventaja de esta técnica se encuentra en los casos en que la córnea tiene una rigidez elevada, o cuando tiene un espesor mayor pero es blanda en rigidez. En estos casos se obtienen datos falsos de la presión intraocular. Con OCT, se obtiene la rigidez y grosor de la córnea para cada punto del campo de visión (FOV: Field of View) teniendo datos más exactos.

La birrefringencia (tema que se abordará en la sección 2.4) presente en la córnea afecta las mediciones ópticas, por lo que al medirla se obtiene información del ordenamiento de la estructura de la córnea y del eje en el cual se presenta menos densidad de átomos.

2.2 DIFRACCIÓN

La difracción es una característica general de los fenómenos ondulatorios que ocurre donde quiera que una parte del frente de onda, ya sea sonido o luz, se obstruya de alguna manera [8].

El frente de onda que se sigue propagando al haber encontrado una obstrucción, será modificado en amplitud y/o fase, provocando el fenómeno de interferencia que se muestra en la Figura 2.8.

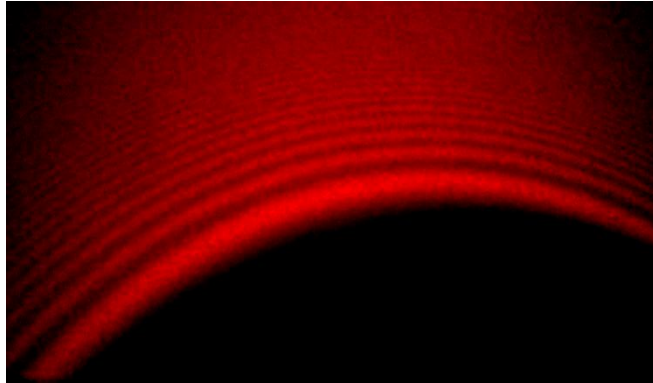


Figura 2.8 Patrón de difracción de fresnel de un balón metálico, iluminado con un láser He-Ne con longitud de onda de 632.8 nm.

Un frente de onda puede tomarse como un conjunto de fuentes diminutas que generan un nuevo frente de onda, y que la envolvente de estos (frentes de onda secundarios), conforman el primer frente de onda propagado en el espacio. Lo anterior se denomina principio de Huygens (ver Figura 2.9).

De esta forma un frente de onda cambiará su fase y amplitud al encontrarse con los bordes de un objeto, generando interferencia entre cada uno de los frentes de onda secundarios.

Una aportación significativa al principio de Huygens fue la de Fresnel, quien tomó en cuenta la longitud de onda del frente que se propaga: Si la longitud de onda es grande comparada con la abertura las ondas se extenderán según ángulos grandes en la región más allá de la obstrucción.

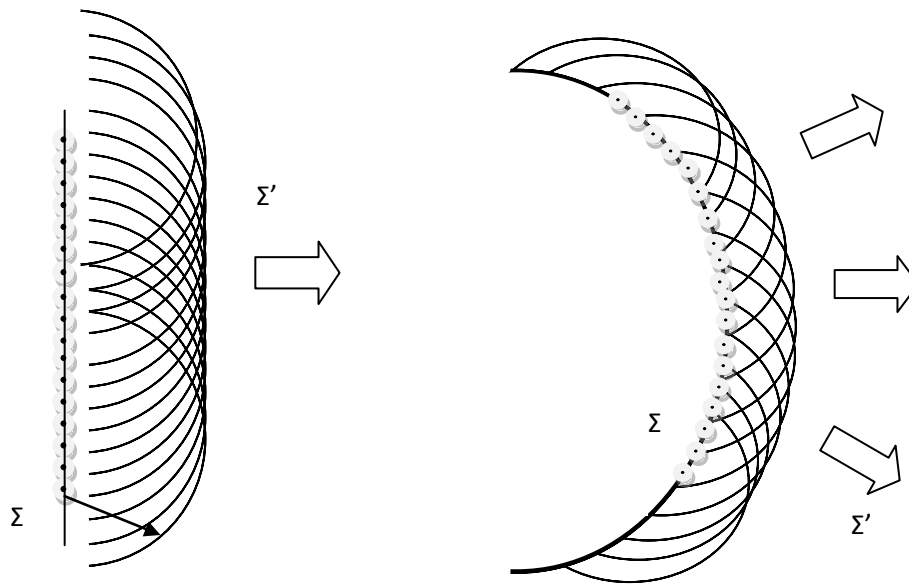


Figura 2.9 Principio de Huygens. Σ es el frente de onda. Cada frente de onda secundario se origina en un punto del frente de onda principal. Donde la envolvente $\Sigma' = \Sigma$.

2.2.1.1 REJILLA DE DIFRACCIÓN

Una rejilla de difracción es un elemento óptico que difracta y divide un haz de luz en varios órdenes de difracción en diferentes direcciones, estas direcciones dependen de la longitud de onda del haz y de la frecuencia de la rejilla (l/mm) (Figura 2.10).

La ecuación de la rejilla determina la relación entre la frecuencia de la rejilla y el ángulo de incidencia y difracción de los haces (Ecuación 2.13).

Una rejilla ideal se puede considerar como un conjunto infinito de ranuras con espaciamiento bien definido (con una frecuencia única). Cuando una onda de

longitud λ incide normalmente sobre una rejilla, cada abertura actúa como una fuente que propaga un frente de onda en todas direcciones. La luz que viaja en un ángulo θ_m está compuesta por la contribución de todas las fuentes puntuales provenientes de las ranuras.

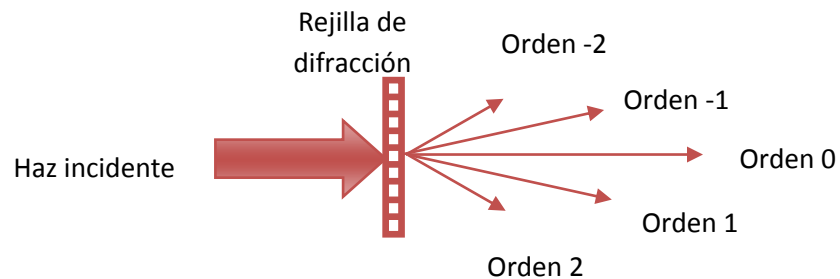


Figura 2.10 Rejilla de difracción. El haz incidente se divide en varios haces denominados órdenes de difracción. Cada orden superior tiene un ángulo mayor que el anterior dado por la ecuación de la rejilla.

La fase de cada frente de onda proveniente de las distintas ranuras, variará dependiendo del camino óptico que tome llegar hasta ese punto. Como se mencionó anteriormente, la intensidad resultante en ese punto proviene de la interferencia producida por cada frente de onda, pudiendo ser esta constructiva o destructiva. Para que la interferencia sea constructiva debe existir una diferencia de fase que sea múltiplo entero de la longitud de onda λ , esto ocurre cuando se satisface la condición [9]:

$$d \sin \theta_m = m \lambda \quad \text{Ecuación 2.12}$$

Donde d es el espaciamiento de la rejilla y m es el orden de difracción.

Ahora si la onda que incide sobre la rejilla, es plana y lo hace a un ángulo θ_i , la ecuación de la rejilla se convierte en:

$$d (\sin \theta_m - \sin \theta_i) = m \lambda \quad \text{Ecuación 2.13}$$

La luz que se transmite directamente, en el caso de las rejillas de transmisión, o la que se refleja directamente en el caso de las rejillas de reflexión, se le denomina orden cero.

La dispersión lineal de una rejilla, determina la separación que tendrá cada línea espectral de un cierto haz con un ancho de banda. Por ejemplo, si una rejilla dispersa un segmento espectral de 0.1 nm en 1mm, y otra dispersa un segmento espectral de 10 nm en 1 mm, se podrá identificar el detalle espectral más fácilmente en la primera rejilla que en la segunda.

El rango espectral libre (FSR: Free Spectral Range), es el ancho de banda máximo que se puede obtener en un orden sin que se presente interferencia con el espectro de otro orden de difracción. Cuanto mayor sea la frecuencia de la rejilla, el rango espectral libre aumentará. Como puede imaginarse, el rango espectral libre decrece conforme el orden sea de mayor grado.

Si λ_1 y λ_2 son los límites superior e inferior respectivamente, entonces el rango espectral libre será:

$$FSR = \lambda_2 - \lambda_1 = \frac{\lambda_1}{n} \quad \text{Ecuación 2.14}$$

Donde n es el orden de difracción de la rejilla.

Como se ha visto hasta ahora, las rejillas de difracción, separan la intensidad en diversos órdenes de difracción. Obteniendo menor intensidad conforme el orden de difracción es mayor. Para resolver este problema, se crearon las rejillas ráfaga (blazed gratings en inglés), las cuales concentran la intensidad del haz en un cierto orden. Este tipo de rejillas son fabricadas de forma que se produzca la eficiencia máxima a una cierta longitud de onda.

Las rejillas ráfaga, tienen un perfil triangular con un ángulo ω , conocido como ángulo ráfaga (blaze angle en inglés). Los perfiles de las ondas de las rejillas ráfaga, son calculados de tal forma que el ángulo incidente y el difractado estén autocolimados. La Ecuación 2.15 da la relación que existe entre el ángulo ráfaga y el orden de difracción, número de líneas por mm y la longitud de onda para la cual fue fabricada la rejilla [10].

$$2 \sin \omega = k d \lambda_B 10^{-6} \quad \text{Ecuación 2.15}$$

Donde ω = ángulo ráfaga.

k = orden de difracción.

d = número de líneas por mm.

λ_B = longitud de onda de especificación.

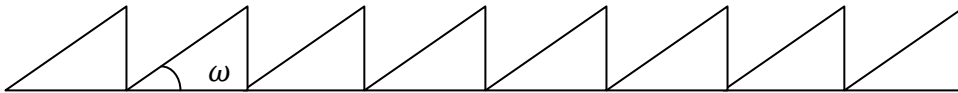


Figura 2.11 Perfil de una rejilla ráfaga. ω es el ángulo ráfaga.

2.3 LUZ POLARIZADA

Para efectos de simplificación se han tomado en cuenta las ondas que están linealmente polarizadas (con orientación constante). Sin embargo la luz proveniente de cuerpos celestes o lámparas es no polarizada, esto quiere decir que su orientación o plano de vibración es variable en el tiempo.

Si se tienen dos ondas linealmente polarizadas con la misma orientación, estas serán capaces de presentar el efecto de interferencia mencionado en la sección 2.1.2. En cambio si las dos ondas, vibran en planos distintos, la onda resultante será la suma vectorial de ambas (Figura 2.12).

Del ejemplo anterior, se puede observar que una onda linealmente polarizada puede definirse como la suma de dos ondas vibrando en planos ortogonales (tal como sucede con vectores). Es aquí donde entra otro concepto, los estados de polarización ortogonales.

Estos estados de polarización son definidos como aquellos donde sus campos eléctricos son perpendiculares entre sí, a estos estados de polarización se les denomina “p” y “s”.

Dependiendo de la diferencia de fase entre las componentes ortogonales de una onda, estas generarán una onda polarizada lineal, circular o elíptica. La Tabla 2-2 muestra los valores de fase para lograr estos estados de polarización.

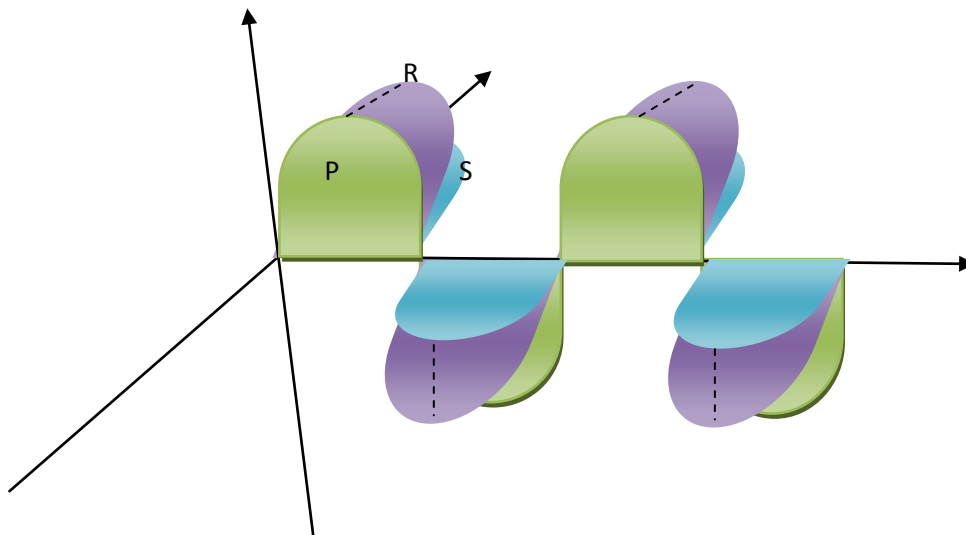


Figura 2.12 R= onda resultante, P= onda polarización P, S = onda polarización S (ortogonal a P).

POLARIZACIÓN	DIFERENCIA DE FASE
Lineal	$0, \pi$
Circular	$-\pi/2, \pi/2$
Elíptica	Cualquier otro valor

Tabla 2-2 Estados de polarización.

Una onda polarizada circular no cuenta con un plano de vibración, más bien, las componentes eléctrica y magnética describen una circunferencia perpendicular a la dirección de propagación (Figura 2.13).

El sentido en el que gire el campo eléctrico de una onda dependerá del defasamiento existente entre las componentes de las dos ondas linealmente polarizadas que la conformen. Si se tiene un defasamiento de $\pi/2$ la onda tendrá polarización circular a la derecha; mientras que, si se tiene un defasamiento de $-\pi/2$ la onda tendrá polarización circular a la izquierda.

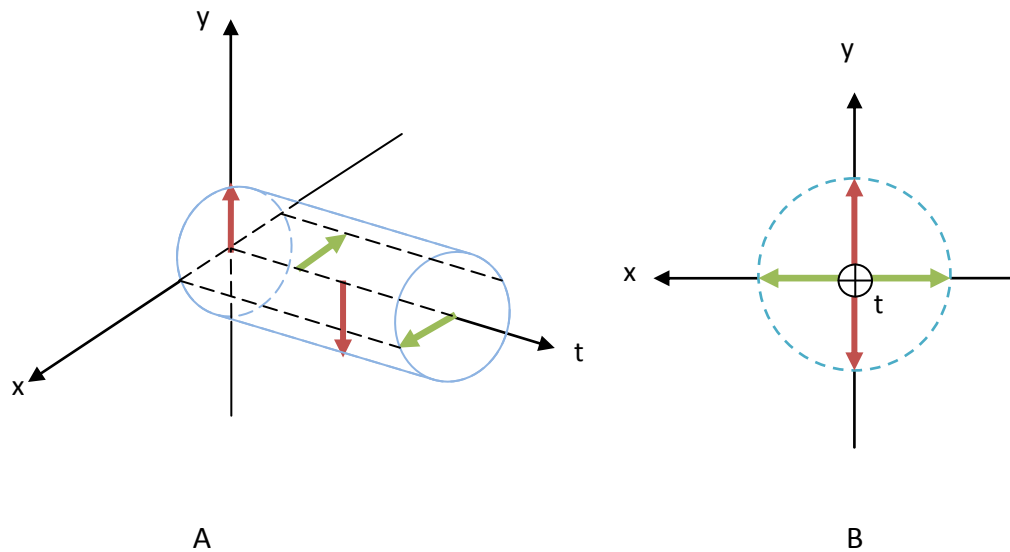


Figura 2.13 Onda con polarización circular derecha. La línea punteada representa la magnitud del campo eléctrico de la onda en el tiempo (magnitud constante), las flechas rojas representan la magnitud del campo eléctrico cuando se alinea con los ejes correspondientes a los estados de polarización p y s.

2.3.1.1 POLARIZADORES DICROICOS

Entendiendo el concepto de polarización, la idea de un polarizador es comprensible. El polarizador más sencillo es el polarizador lineal. Un polarizador lineal tiene un eje de transmisión y uno de extinción. El eje de transmisión permite que la luz que viene vibrando sobre él, lo atraviese; mientras que el eje de extinción, es el que bloquea la luz que vibra en ese plano (Figura 2.14), a éste tipo de polarizadores se les conoce como dicroicos.

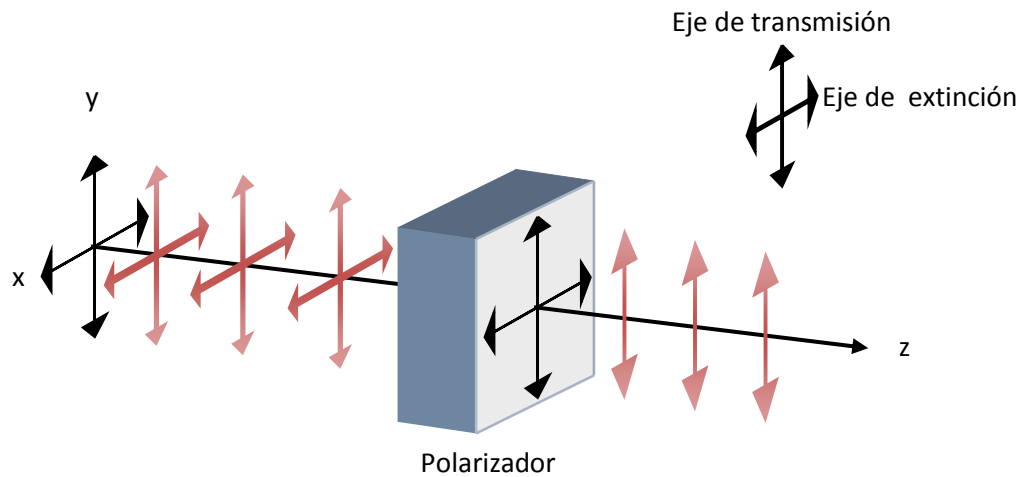


Figura 2.14 Polarizador lineal. El eje de transmisión permite el paso de la luz, el eje de extinción bloquea la luz.

Recordando que una onda de luz no polarizada puede representarse como dos ondas polarizadas ortogonales, el polarizador lineal permitirá la transmisión de la componente que se encuentre propagándose sobre ese eje.

Con la ley de Malus (Ecuación 2.16) se puede determinar la irradiancia que será transmitida por un polarizador, cuando el eje de transmisión no se encuentre alineado con el plano de vibración de la onda.

$$I(\theta) = I(0)\cos^2(\theta)$$

Ecuación 2.16

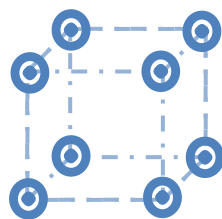
Donde $I(0)$ es la irradiancia del haz incidente en el polarizador y θ es el ángulo entre el plano de vibración del haz y el eje de transmisión.

2.4 BIRREFRINGENCIA

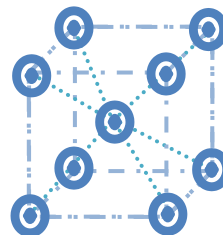
La birrefringencia es un fenómeno que presentan los materiales, generalmente los sólidos cristalinos, cuyas propiedades ópticas no son las mismas en todas las direcciones (Figura 2.15). Esto se debe a asimetrías en la fuerza de ligadura de las moléculas que forman el cristal, lo cual se manifiesta en los índices de refracción para cada estado de polarización.

Los materiales isotrópicos presentan siempre el mismo comportamiento independientemente de la dirección, mientras que en las anisotrópicas las propiedades varían con la dirección. En el caso de la luz, los cristales anisótropos presentan distintos valores de sus índices de refracción en función de la dirección en que vibre la luz al atravesar el cristal.

La anisotropía es una consecuencia de la estructura interna del material. Si presenta una organización interna muy regular o carece de ella se denomina isotrópico, aquellos que presentan una organización irregular (densidad de átomos distinta para cada eje) se denominan anisótropos.



Cúbica simple



Cúbica centrada

Figura 2.15 Estructuras cristalinas simétricas (isótropos).

Los materiales que cristalizan en el Sistema Cúbico (ver Figura 2.15), es decir, el de máxima simetría, con sus átomos o iones igualmente distribuidos en las tres direcciones principales del espacio, son isótropos. Los pertenecientes al resto de los sistemas cristalinos (hexagonal, trigonal, tetragonal, etc.) son anisótropos, las disposiciones de sus elementos constituyentes varían con la dirección y por tanto su elasticidad para las ondas luminosas también es diferente.

Los medios en que el índice de refracción es el mismo para dos direcciones (por ejemplo: x e y), pero difiere para la tercera dirección (z) (denominado eje óptico) se conocen como medios uniáxicos y tienen aplicación en la manipulación de la polarización. Ejemplos de este tipo de medio son la calcita, el cuarzo y los plásticos poliméricos orgánicos (celofán).

Si se envía un haz de luz, con componentes para ambos estados de polarización p y s, a un material anisotrópico (Figura 2.16), la polarización correspondiente al campo eléctrico perpendicular al plano de incidencia (E_n) es a su vez perpendicular al eje óptico, por lo que el material se comporta como si fuera un material isotrópico:

$$n_i \text{sen}(\phi_i) = n_0 \text{sen}(\phi_0) \quad \text{Ecuación 2.17}$$

Donde n_i es el índice de refracción del aire, ϕ_i es el ángulo de incidencia del haz respecto a la normal del plano donde incide, n_0 es el índice de refracción del medio, y ϕ_0 es el ángulo del rayo refractado correspondiente a la componente E_n del campo eléctrico.

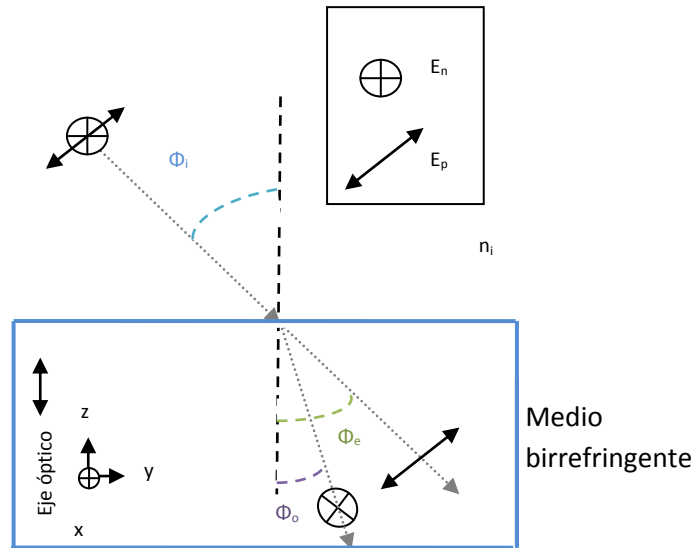


Figura 2.16 Comportamiento de la luz en un medio anisotrópico. Las líneas grises representan dirección de propagación. ϕ_i es el ángulo de incidencia del haz. ϕ_e y ϕ_o son los ángulos de refracción de las componentes eléctricas E_n y E_p .

Sin embargo, la otra polarización (E_p), no es perpendicular al eje óptico y ‘ve’ un índice de refracción, diferente al otro eje, que depende del ángulo que forma con el eje óptico:

$$n_i \text{sen}(\phi_i) = n_e(\phi_i) \text{sen}(\phi_e) \quad \text{Ecuación 2.18}$$

Donde ϕ_e es el ángulo del haz refractado correspondiente a la componente E_p del campo eléctrico, y n_e es el índice de refracción del medio en el eje de vibración del campo eléctrico E_p .

El rayo que se comporta como si el medio fuese isotrópico es llamado rayo ordinario. Al otro se le conoce como rayo extraordinario.

Se observa que debido a la birrefringencia se tiene un método que permite separar luz con distintos estados de polarización. Un ejemplo de un sistema basado en birrefringencia para separar el rayo ordinario y el rayo extraordinario y por tanto las dos polarizaciones, es el prisma de Nikol (Figura 2.17). En este dispositivo se hace pasar el rayo extraordinario sin que experimente desviación (incidencia normal), mientras, se busca la condición para que el rayo ordinario sufra reflexión total en la interfaz. Otros dispositivos son: el prisma de Wollaston y el de Rochon.

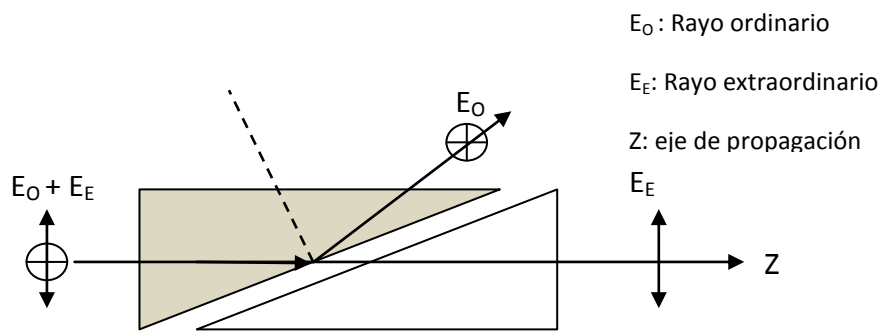


Figura 2.17 Prisma de Nikol.

2.4.1.1 RETARDADORES

Los retardadores (Figura 2.18) son una aplicación directa del fenómeno de birrefringencia, son sistemas que introducen un desfase en una de las componentes del campo eléctrico y así, permiten cambiar el estado de polarización de la onda.

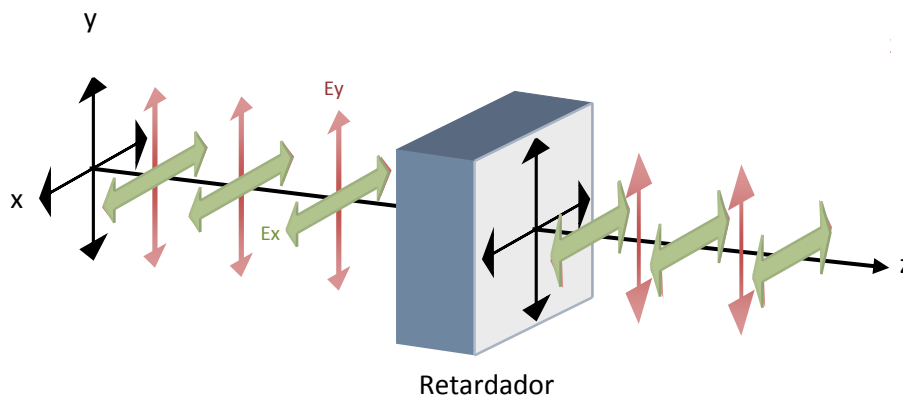


Figura 2.18 Retardador de onda. La componente E_x (verde) se retrasa con respecto a la componente E_y (rojo) al pasar por el retardador.

De esta forma hay dos ondas planas monocromáticas con polarizaciones perpendiculares que se propagan paralelamente por el cristal a distinta velocidad. Así pues, tras atravesar una lámina de espesor d , ambas ondas volverán a superponerse dando lugar a una onda cuya polarización depende del desfase introducido por el retardador:

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi}{\lambda_0} d |n_0 - n_e|$$

Ecuación 2.19

Donde n_0 es el índice de refracción del medio para el rayo ordinario y n_e es el índice de refracción del medio para el rayo extraordinario.

La dirección que corresponde a una velocidad mayor (en este caso, la que corresponde a la onda extraordinaria) se llama eje rápido y la perpendicular, eje lento. Variando el valor de d se puede controlar el defase y obtener los siguientes tipos de retardadores:

- Retardador de media onda: la diferencia de fase relativa es de π entre las ondas ordinaria y extraordinaria. De esta forma, al pasar la luz por un retardador de media onda, un campo E inicialmente orientado θ respecto de la vertical, rotará un ángulo 2θ con respecto a la vertical del campo eléctrico (Figura 2.19). Estos retardadores se utilizan para invertir el sentido de la luz elíptica o circular cambiándola de derecha a izquierda o viceversa. Para que un retardador se comporte como uno de media onda para una longitud de onda λ específica, el espesor d del material deberá ser:

$$(2m + 1) \frac{\lambda}{4} = d|n_o - n_e| \quad m = 0, 1, 2 \dots \quad \text{Ecuación 2.20}$$

Un retardador de media onda fácil de conseguir es el papel celofán. El eje rápido se encuentra paralelo a su anchura y el eje lento paralelo a su longitud.

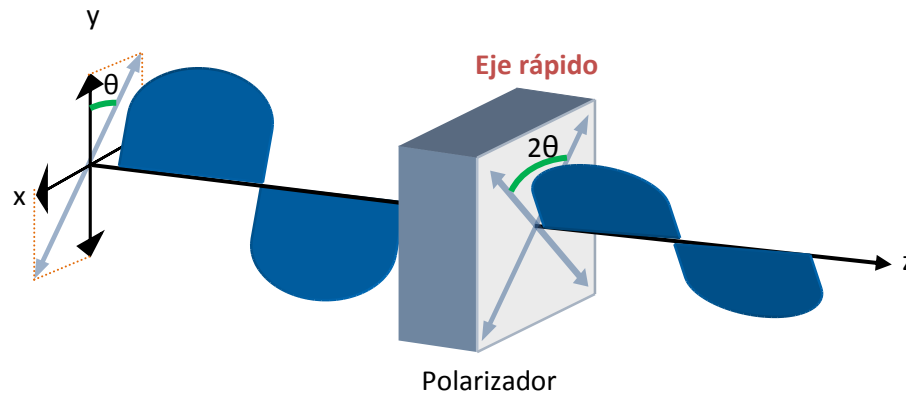


Figura 2.19 Retardador $\lambda/2$. La componente E_x es defasada π radianes.

- Retardador de cuarto de onda (ver Figura 2.20): el defasamiento que produce entre las componentes E_x y E_y es de $\pi/2$ y se utiliza para pasar de luz lineal a circular y viceversa. El espesor debe satisfacer la siguiente expresión:

$$(4m + 1) \frac{\lambda_0}{4} = d|n_o - n_e| \quad m = 0,1,2 \quad \text{Ecuación 2.21}$$

Los retardadores comerciales se designan generalmente por su retraso lineal en nm. Por ejemplo, un retardador de cuarto de onda de espesor 140 nm, inducirá un retardo de $\pi/2$ solo para luz verde ($\lambda=560\text{nm}$).

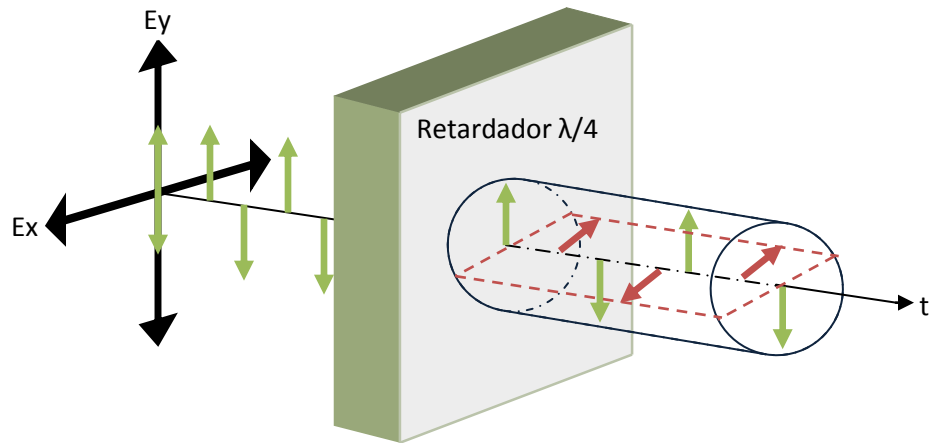


Figura 2.20 Retardador $\lambda/4$. 'Ey' y 'Ex' son las componentes 'y' y 'x' del campo eléctrico. 't' es el tiempo.

2.5 FUENTES DE ILUMINACIÓN EN OCT

Las consideraciones más importantes para la elección de la fuente son: frecuencia central, ancho de banda, potencia y estabilidad.

- La frecuencia central es un requisito, ya que debe ser una longitud de onda no absorbida por la muestra. También se debe considerar que la longitud de onda no debe dañar el tejido.
- Referente al ancho de banda, este tiene que ver con la resolución que se desee.

- Al aumentar la potencia de la fuente, se logra detectar el esparcimiento hacia atrás más débil en la muestra, sin embargo, no se debe exceder el límite que la muestra soporta.
- La estabilidad, incluye aspectos como la facilidad de uso, el tamaño. En esta categoría se incluye la estabilidad en la potencia de salida.

La coherencia espacial juega un papel importante en la resolución lateral y de profundidad. Mientras que la coherencia temporal, lo hace sólo en la resolución de profundidad. Tomando en cuenta la Ecuación 2.4 que relaciona estas dos variables, la longitud de coherencia para fuentes de luz térmica es muy pequeña, y esto es precisamente lo que las hace atractivas para OCT.

Una fuente de iluminación que tiene una baja longitud de coherencia son los láseres ultrarrápidos. De ellos, uno de los más prometedores para OCT es el de Ti-Za con la técnica Kerr-lens de amarre de fase.

Otro tipo de fuentes de iluminación son las fibras de cristal fotónico (PCF: Photonic Crystal Fibers). Estas PCF están hechas con recubrimiento de silica pura rodeado por un arreglo de túneles de aire microscópicos (Figura 2.21). El gran salto de índice de refracción entre la silica y el aire, permite que la luz se concentre en un área muy pequeña, generando efectos no lineales, ampliando el espectro. Ha sido demostrado que para la generación de supercontinuo (luz láser blanca) en fibras de cristal fotónico, no es necesario el uso de pulsos ultrarrápidos [11].

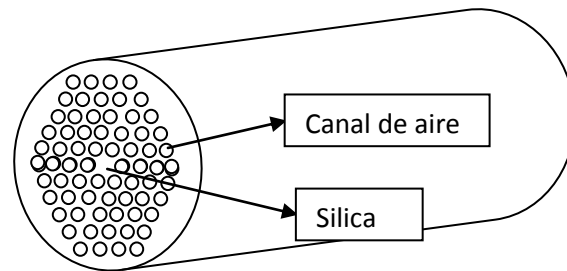


Figura 2.21 Fibra de cristal fotónico

La fuente preferida por muchos por su bajo costo y alta irradiancia es el SLD. Es una fuente de iluminación basada en la emisión espontánea amplificada (ASE: Amplified Spontaneous Emission).

El SLD es una buena elección para obtener imágenes de un objeto simple como el ojo, pero la longitud de coherencia es demasiado grande para observar células y sus núcleos. Una forma de superar esta limitante es cambiar la fuente a un láser pulsado de femtosegundos [12], el cual tiene un ancho de banda muy grande, y una longitud de coherencia del orden de $1\mu\text{m}$. La desventaja es su elevado costo.

Un SLD, es un emisor infrarrojo que posee las ventajas tanto del diodo láser como del LED, alta densidad de flujo radiante y baja coherencia. El SLD fue desarrollado como un dispositivo que compensa las desventajas de los diodos láseres como el ruido coherente y por lo tanto es ideal para aplicaciones donde una alta relación señal a ruido es esencial.

2.6 ESQUEMA BÁSICO OCT

El arreglo más común para OCT es el del interferómetro de Michelson (Figura 2.22), el cual presenta sensibilidad fuera de plano (profundidad).

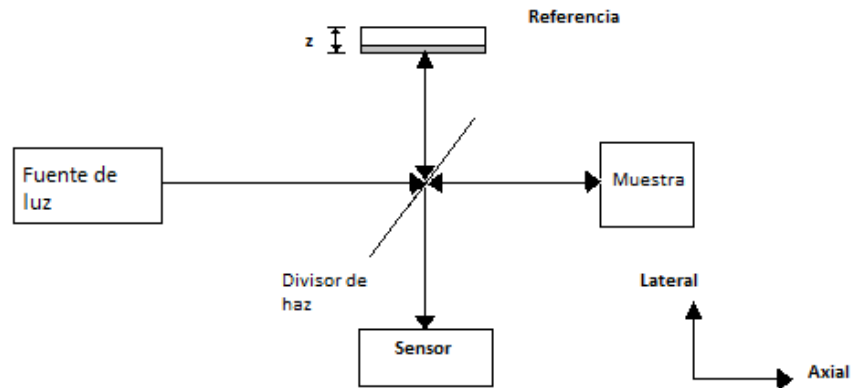


Figura 2.22 Arreglo tipo Michelson. z representa el desplazamiento de la referencia.

Suponiendo que la diferencia de camino óptico entre los brazos de referencia y objeto es cero ($z=0$), los únicos fotones que pueden interferir son los reflejados con las capas de la muestra cuya diferencia de camino óptico es menor a la longitud de coherencia. Al variar z , las franjas dependen de la reflectancia de la muestra a esa profundidad. De esa forma se puede encontrar el perfil de reflectancia de la muestra en un punto hasta una profundidad dada por el límite de sensibilidad del detector, a este perfil se le denomina A-scan.

La imagen de un "corte" de la muestra se forma con múltiples "A-scan", a este proceso se le llama "B-scan" (Figura 2.23). De la misma forma, múltiples "B-scan"

forman una imagen volumétrica del objeto de estudio. Es de esperarse que la obtención de una imagen volumétrica tome bastante tiempo, para solucionar esta problemática, existe una técnica que permite hacer un “*B-scan*” en una sola toma, reduciendo drásticamente el tiempo de adquisición, a esta técnica se le conoce como Tomografía de coherencia óptica espectral (SOCT: Spectral Optical Coherence Tomography) (ver sección 2.6.2).

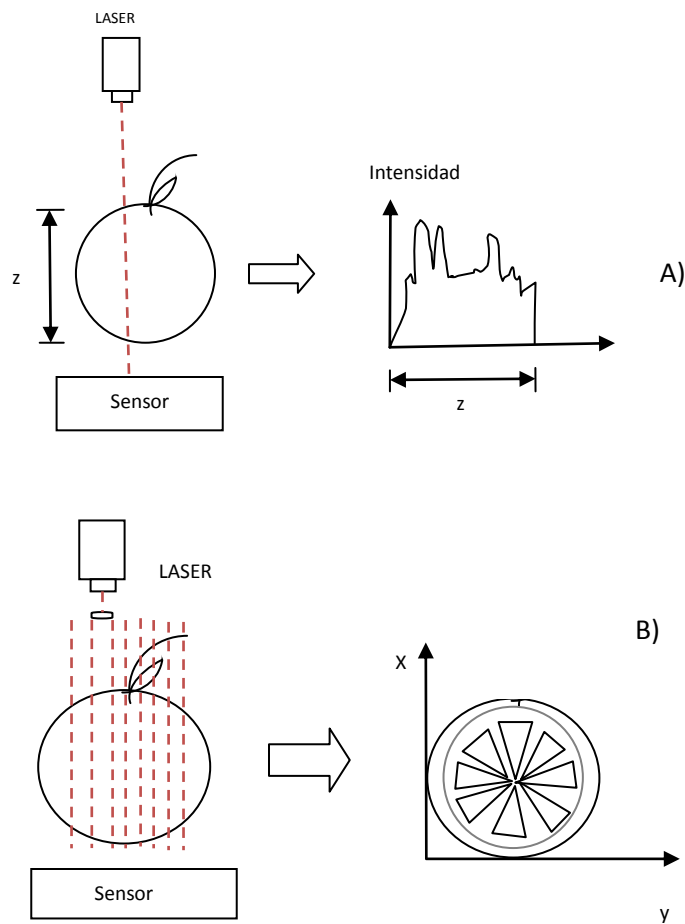


Figura 2.23 A) A-scan. B) B-scan. Cada línea punteada en rojo representa un A-scan. En B) se observa que un conjunto de A-scan representa un B-scan.

2.6.1 OCT TEMPORAL

Existen dos formas de explorar el medio con OCT temporal: OCT lateral y OCT de profundidad. La primera técnica direcciona posiciones adyacentes de la muestra, mientras que la segunda usa la interferometría de baja coherencia (LCI: Low Coherence Interferometry) para detectar la posición de profundidad de los puntos de re-emisión de luz de la muestra.

La interferometría óptica de baja coherencia toma ventaja de la baja coherencia de la luz [13]. La corta longitud de coherencia permite que la luz coherente interfiera solo con un cierto rango, con efectos de interferencia promediada fuera de este.

El poder de resolución de la interferometría de baja coherencia depende de la longitud de coherencia.

La información que se obtiene de un interferograma por reflectometría, puede ser visto como la convolución de la *función de ensanchamiento de punto* de la fuente con los puntos de reflectancia de la muestra.

Existen básicamente dos técnicas de interferometría de baja coherencia en el dominio del tiempo, pero ambas usan la interferometría de dos haces: OCT reflectométrica y OCT de dos haces.

La OCT reflectométrica [14] se basa en el principio de reflectometría de LCI [15]. El caso más simple de esta técnica usa un arreglo tipo Michelson, con un brazo objeto donde se coloca la muestra, y uno de referencia donde se coloca un espejo que se traslada continuamente a lo largo del eje del haz para obtener la información de profundidad (Figura 2.24).

El interferograma obtenido cuando no se coloca una muestra, es igual a dos veces la parte real de la función de coherencia de la fuente de iluminación.

Ahora si en el interferómetro se coloca una muestra, el interferograma será igual a dos veces la convolución de la función de coherencia de la fuente con la función de respuesta de la muestra o perfil de esparcimiento hacia atrás [16].

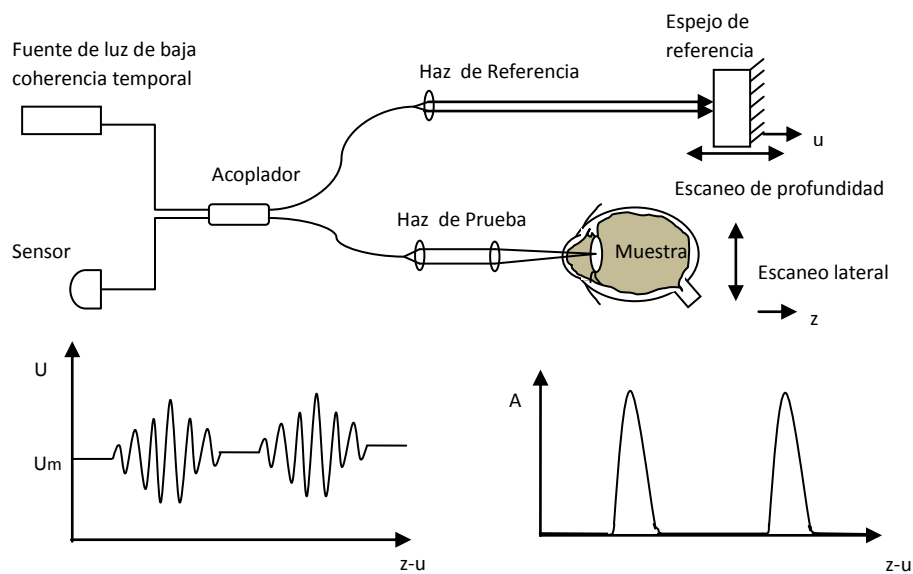


Figura 2.24 Reflectómetro de LCI

El OCT de dos haces está basado en la LCI de dos haces [17]. La muestra es iluminada por dos haces provenientes de un interferómetro Michelson (Figura 2.25). Si la diferencia de camino del interferómetro coincide con la diferencia de camino entre los puntos de re-emisión de luz de la muestra, se podrá observar interferencia. Así, la precisión de la medida de profundidad no es degradada por movimientos inevitables del tejido.

La OCT temporal tiene la facilidad de adaptarse a varios tipos de OCT como la OCT espectroscópica, OCT doppler, etc. La OCT temporal tiene una desventaja principal: El escaneo de profundidad es de tipo puntual.

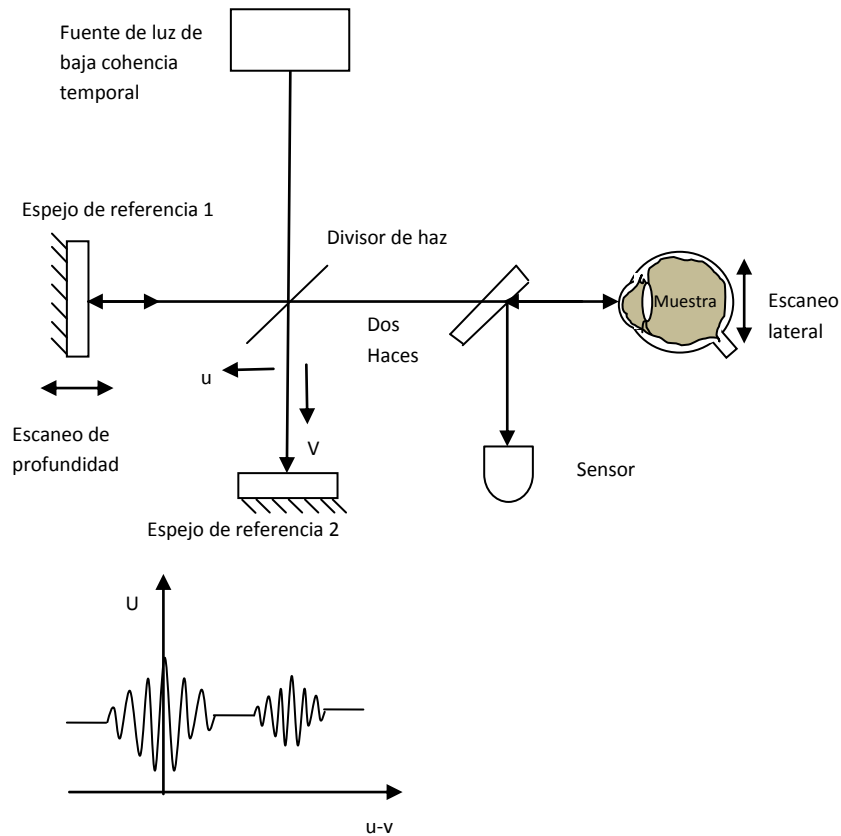


Figura 2.25 Interferómetro de dos haces.

2.6.2 OCT ESPECTRAL

Esta técnica se basa en el descubrimiento de Wolf en 1969, el cual afirma que la luz retroesparcida de un objeto contiene información sobre el potencial dispersor tridimensional del objeto [18]. Esta información puede obtenerse usando la transformada de Fourier en campo lejano.

En 1994, Fercher adaptó la teoría de Wolf para el caso unidimensional [19], con lo cual sentaron las bases para encontrar las distancias entre medios poco dispersores.

La ventaja de este método es que solo requiere captar la intensidad en una toma, evitando la necesidad de partes movibles. Su desventaja se encuentra en el hecho que se requieren fuentes sintonizables o con un cierto ancho de banda, pues es necesario registrar el campo para varios números de onda. Además, en la práctica no se puede obtener el campo eléctrico sino la intensidad, por lo que al hacer la transformada inversa no se encuentra el potencial dispersor, sino su autocorrelación. Por esta razón, la técnica se ve limitada a muestras poco dispersoras. Esta técnica presenta una mayor relación señal-ruido que la OCT convencional [20]. Además, una vez que se obtiene la imagen tomográfica de la muestra, se puede obtener su desplazamiento fuera de plano aplicando una deformación [21].

El arreglo básico de esta técnica se muestra en la Figura 2.26. A diferencia del OCT temporal, en el OCT espectral solo se requiere del escaneo lateral.

La resolución de profundidad tanto en OCT temporal como en OCT espectral depende del ancho espectral de la fuente. Sin embargo, el campo de visión (FOV: Field of View) si cambia. Para el OCT temporal, está limitado por el rango de escaneo

del haz de referencia y la sensibilidad del sistema; mientras que para la OCT espectral, está limitado por la resolución del sensor.

La ventaja principal de la OCT espectral es que no necesita escaneo de profundidad, y por lo tanto la velocidad de adquisición de datos es más rápida [22]. La desventaja es el rango dinámico bajo que se tiene en los sensores y el precio de las cámaras especialmente diseñadas para este propósito.

Otra desventaja de la correlación, es que el ancho de la autocorrelación de la estructura del objeto en el espacio objeto es igual a dos veces el ancho de la estructura del objeto. Por lo tanto, en el espacio objeto, un rango igual a dos veces la profundidad del objeto no está disponible para representar la estructura del objeto.

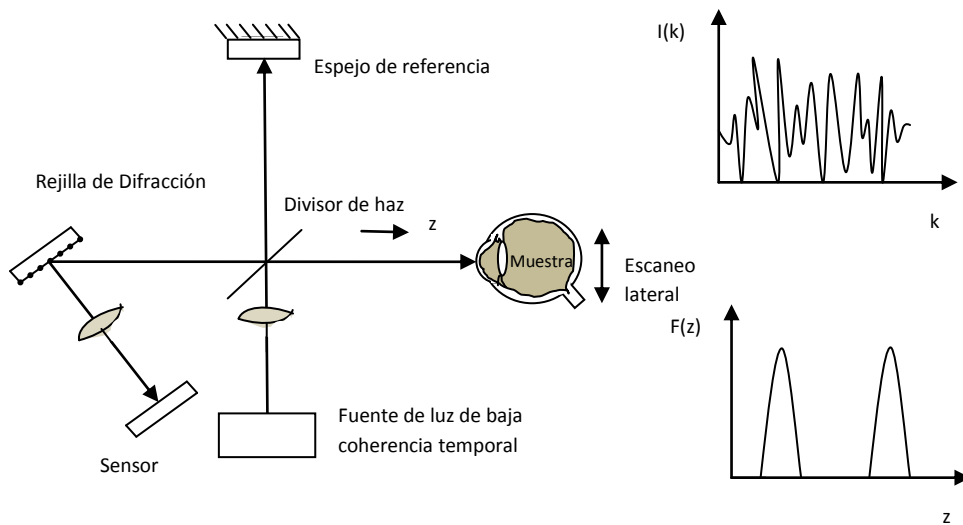


Figura 2.26 Interferómetro espectral básico

Una técnica diferente a la correlación, es la LCI por corrimiento de fase. Esta técnica usa la amplitud compleja espectralmente resuelta. La fase espectral del término de interferencia puede ser obtenida por un proceso de ajuste para la función coseno del interferograma [23]. Al igual que en interferometría, esta técnica de corrimiento de fase requiere al menos 3 imágenes para obtener la fase. Para minimizar los errores de calibración Fercher *et al* [24] adoptaron un método de 5 pasos descrito por Schwider [23] y calcularon la fase del interferograma con la ecuación:

$$\phi(k) = \tan^{-1} \frac{-I_1 + 4 I_2 - 4 I_4 + I_5}{I_1 + I_2 - I_3 + 2 I_4 + I_5} \quad \text{Ecuación 2.22}$$

La ventaja de esta técnica es que toda la profundidad del objeto detectada por el sensor es útil. La desventaja, es que se requieren al menos 3 imágenes para obtener información.

2.7 OCT SENSIBLE A POLARIZACIÓN (PS-OCT)

En los tejidos hay dos tipos de birrefringencia: intrínseca y por forma. La primera es causada por las propiedades anisotrópicas de las moléculas, mientras que la segunda, por la estructura anisotrópica resultado de las estructuras lineales ordenadas, como ejemplo las proteínas (fibras de colágeno, fibras nerviosas).

La primer técnica de LCI sensible a polarización capaz de medir el retardo de fase del esparcimiento hacia atrás entre los estados ortogonales de polarización lineal provenientes de una muestra birrefringente fue descrita por Hee *et al* [25]. Más tarde, De Boer *et al* [26] usaron un sistema PS-OCT para obtener el daño térmico en tejido. En el año 2001, Hitzengerger *et al* [27] usaron un sistema PS-OCT para

generar imágenes que representan el retardo de fase y la orientación del eje rápido en miocardio de pollo.

Tanto el esparcimiento como la birrefringencia pueden producir un cambio en el estado de polarización de la luz que se propaga por un medio.

En [28] [29] [30]] se ha investigado las propiedades de polarización de la luz usando la relación que existe entre el vector de Stokes del esparcimiento hacia atrás P' con el vector de Stokes P de la luz usada para iluminar. Esta relación se da por la matriz de Mueller m :

$$P' = m P$$

Ecuación 2.23

Un problema existente con la PS-OCT es que no puede hacerse uso de las fibras ópticas monomodo, dado que los estados de polarización son degenerados (al menos no de la forma clásica). Las fibras que mantienen la polarización no mantienen la fase relativa de sus componentes.

Con una técnica que modula el haz incidente en 4 estados de polarización distintos, se logra evitar la sensibilidad al retraso de fase diferencial en las fibras tal como lo demuestra Roth *et al* [31] en su artículo, donde usa tres estados de polarización para iluminar la muestra secuencialmente y obtener la medición del esparcimiento hacia atrás que regresa en el mismo estado de polarización.

Otra técnica que no usa fibras ópticas, pero igual provee información de los cambios de polarización debida a la birrefringencia es la descrita por Hee *et al* [25] (Figura 2.27), donde usa la matriz de Jones. Lo que hace es medir el retardo independientemente de la orientación del eje de la muestra. La muestra es

iluminada por un haz con polarización circular. Las intensidades obtenidas en el detector corresponden al esparcimiento hacia atrás para cada estado de polarización. Con esta información, puede obtenerse también la reflectividad de la muestra (Ecuación 2.24) y el retardo de fase (Ecuación 2.25).

$$R(z) = (I_H)^2 + (I_V)^2 \quad \text{Ecuación 2.24}$$

Donde $R(z)$ es la reflectividad de la muestra a una profundidad z , I_H es la irradiancia de la luz polarizada en el eje horizontal, e I_V es la irradiancia en el eje vertical.

$$\phi = \text{atan} \frac{I_V(z)}{I_H(z)} \quad \text{Ecuación 2.25}$$

Donde ϕ es el retardo de fase entre los estados de polarización ortogonales.

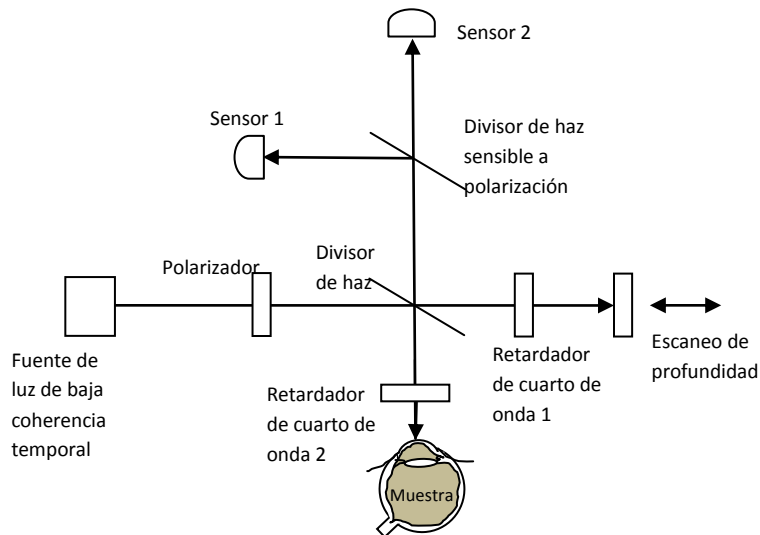


Figura 2.27 PS-OCT descrito por Hee et al.

3 DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se construyó un arreglo SOCT para observar la interferencia existente entre las superficies superior e inferior de un cubreobjetos y así validar el sistema. Una vez obtenida esta interferencia, se hicieron pruebas con polímeros.

Dado que el propósito del trabajo es observar el cambio de fase entre los dos estados de polarización “*p*” y “*s*”, se montó un arreglo sensible a polarización. Con este arreglo se realizaron diversas pruebas experimentales para obtener la imagen tomográfica de cubreobjetos, polímeros dopados con cobre y níquel, y córneas porcinas.

3.1 ALINEACIÓN Y PRUEBAS INICIALES

El arreglo básico que se usó para las pruebas, es el que se observa en la Figura 3.1. Un arreglo tipo Michelson, con un *SLD* (840 nm) como sistema de iluminación y un láser de He-Ne (632.8 nm) para cuestiones de alineación.

Los haces de luz, tanto del láser como del *SLD* son introducidos por fibra óptica para combinarse en un acoplador *FC 50/50 (2x2)*. A la salida de la fibra óptica se coloca un colimador de haz *BC* con eficiencia en el espectro infrarrojo. Este colimador proporciona un haz de 9 mm de diámetro. A continuación se coloca un divisor de haz insensible a la polarización *BS*, que se encarga de dirigir el 45% de la intensidad hacia el brazo objeto, y el restante 55% hacia el brazo referencia. Este divisor de haz trabaja eficientemente en el rango de 700 a 900 nm.

En el brazo de referencia se coloca un filtro neutro de densidad variable *NF* (para controlar la intensidad de luz reflejada) y al final de éste, un espejo con recubrimiento metálico M_1 (oro). La intención es tener una relación 1:1 entre la intensidad obtenida en el sensor proveniente de la muestra y el espejo de referencia. En el brazo objeto, se coloca una lente cilíndrica L_{x1} a su distancia focal (150 mm) de la muestra, con la curvatura sobre el eje “*x*”, con la finalidad de tener el haz enfocado (una línea) sobre la muestra. El haz reflejado por la muestra contiene la información tomográfica (de la línea de luz).

Al regresar el haz objeto y entrar nuevamente en la lente L_{x1} , éste vuelve a viajar colimado y llega al divisor de haz *BS*, donde se recombina con el frente de onda proveniente del haz de referencia y posteriormente se dirige hacia la rejilla de difracción *RG* pasando antes por una lente cilíndrica L_y con distancia focal de 300 mm y la curvatura sobre el eje “*y*”. Ésta lente L_y se coloca a $2f$ de la muestra, de la referencia y del sensor. Esto es para obtener una relación 1:1 de cada punto de la muestra sobre el sensor CMOS C_1 . El haz llega a la rejilla de difracción de reflexión tipo ráfaga (de 600 l/mm), y es “separado” en sus distintas longitudes de onda concentrando la mayor parte de la intensidad en el orden +1. La distancia entre los

patrones de interferencia correspondientes a cada longitud de onda no es idéntica entre ellas, ya que el ángulo al que son difractados crece conforme aumenta la longitud de onda.

Siguiendo la trayectoria de la luz, ésta atraviesa una tercera lente cilíndrica L_{x2} colocada a su distancia focal 200 mm, respecto al sensor C_1 , y curvatura sobre el eje "x" para nuevamente obtener una línea sobre el sensor C_1 por cada longitud de onda.

Finalmente el haz incide sobre el sensor C_1 de una cámara web con resolución de 1280 x 1024 píxeles. Los datos de los componentes ópticos se muestran en la Tabla 3-1 para la obtención de los parámetros.

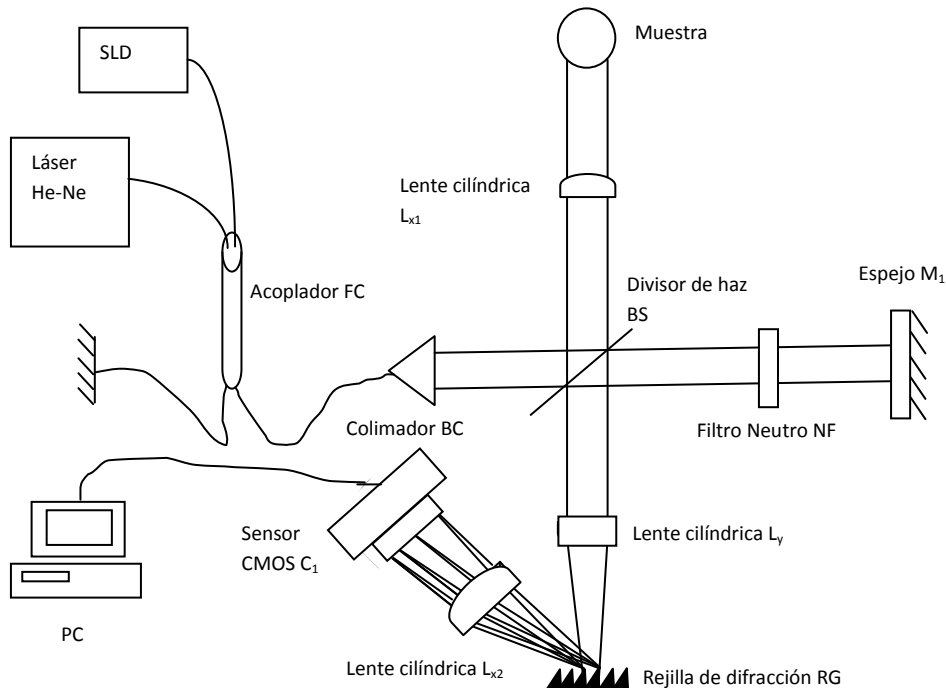


Figura 3.1 Esquemático del arreglo OCT

COMPONENTE	DATOS
SLD	$\lambda = 842 \text{ nm}$
Colimador	F=35.9mm, NA=0.25,842nm
L_{x1}	150 mm
L_y	300 mm
L_{x2}	200 mm
Rejilla	1 μm blaze, 600 l/mm
CMOS	1280x1024 pxl

Tabla 3-1 Datos componentes ópticas.

Con el arreglo SOCT montado se realizaron pruebas a:

- Portaobjetos
- Polímeros dopados con cobre y níquel.

Las imágenes correspondientes a estos objetos de prueba pueden observarse en la Figura 3.2.



Figura 3.2 Muestras. Lado izquierdo polímeros, lado derecho cubreobjetos.

Al portaobjetos se le realizaron pruebas de presión transversal aplicada sobre un punto e inclinación (tilt en inglés) (Figura 3.3).

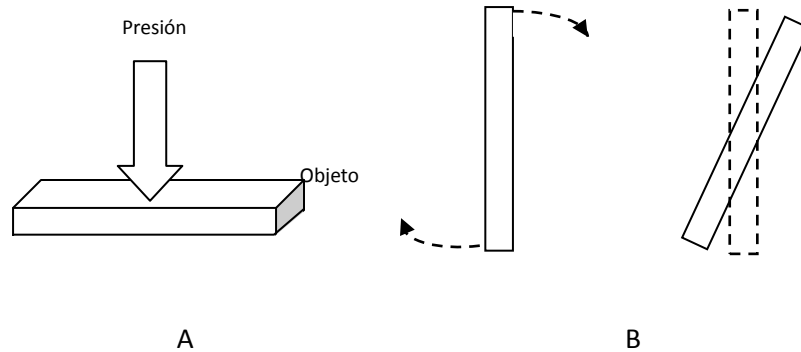


Figura 3.3 Pruebas. A) Presión transversal puntual. B) Inclinación (tilt)

El portaobjetos se usó para facilitar la alineación del sistema y determinar una diferencia de camino óptico que permitiese diferenciar entre la interferencia de las mismas superficies del objeto (autointerferencia) con la de la referencia (Figura 3.4).

Esta prueba se realizó con la intención de simular el experimento realizado por Yuichi [32]. En su trabajo, realiza pruebas sobre ciertos vidrios con un espesor de .16 mm, los cuales son desplazados lentamente sobre el eje z.

De la misma forma, se realizaron pruebas sobre los polímeros para obtener cierta información de la estructura interna de los elementos dispersores correspondientes a las moléculas del material dopante (Figura 3.5).

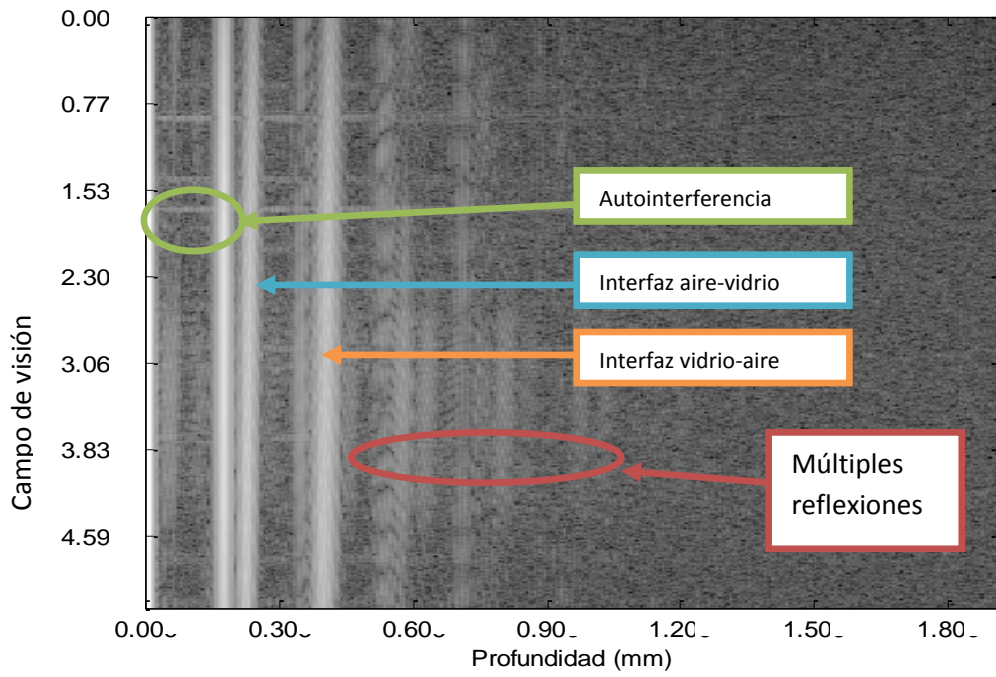


Figura 3.4 Imagen tomográfica del portaobjetos.

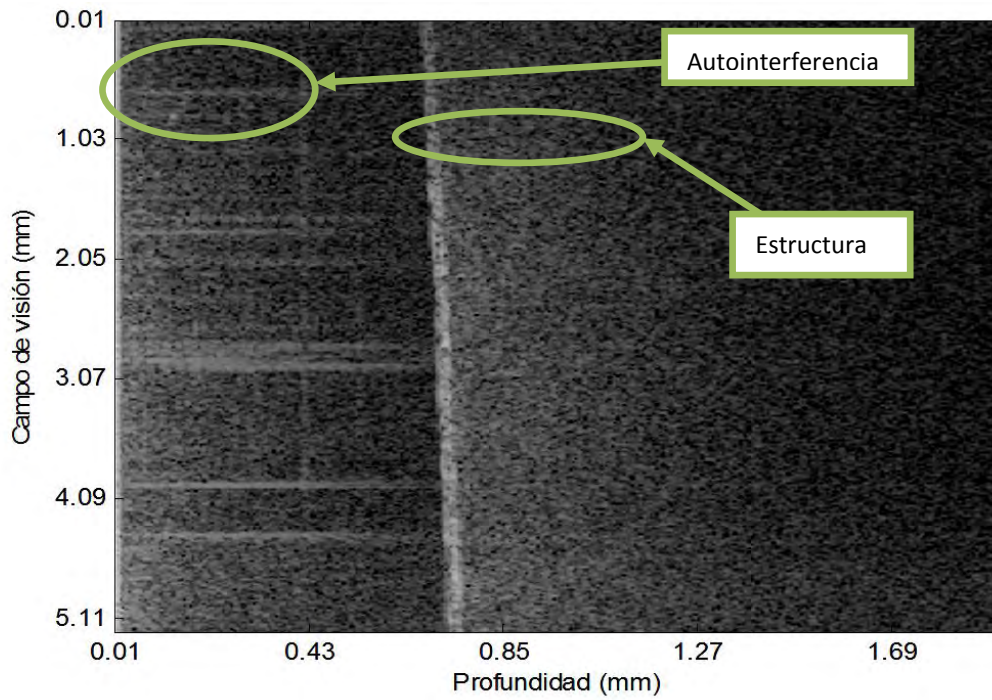


Figura 3.5 Imagen tomográfica del polímero dopado con cobre

3.2 ARREGLO EXPERIMENTAL SOCT SENSIBLE A POLARIZACIÓN (PS-SOCT)

El arreglo sensible a polarización consta de algunas diferencias con respecto al mostrado en la sección 3.1 (Figura 3.7).

Debido a que en el primer arreglo, el brazo objeto se encontraba sobre la mesa, se desmontó, y montó nuevamente cuidando que el brazo objeto quedara hacia la orilla de la mesa holográfica (Figura 3.6). Esto se hizo pensando que la presión en la córnea durante las pruebas futuras podría generar cierta fuga de la solución salina sobre la mesa y dejar uniforme la presión sobre la superficie total de la córnea.

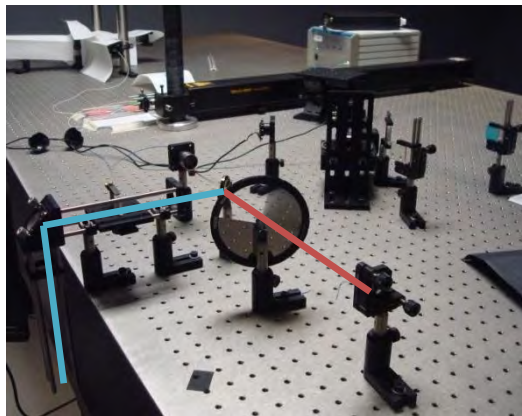


Figura 3.6 Posición brazo objeto. Recorridos del haz. Azul= brazo objeto, rojo= brazo referencia.

En esta parte, se requirió el uso de dos sensores CMOS idénticos C_1 y C_2 para obtener simultáneamente las imágenes correspondientes a las intensidades de las polarizaciones “p” y “s”.

La luz infrarroja que emite el SLD no es polarizada, además, recordando que el haz proveniente del SLD es guiado por un acoplador de fibra óptica *FC*, y como se comentó en la sección 2.7, las fibras ópticas no mantienen el estado de polarización de un haz.

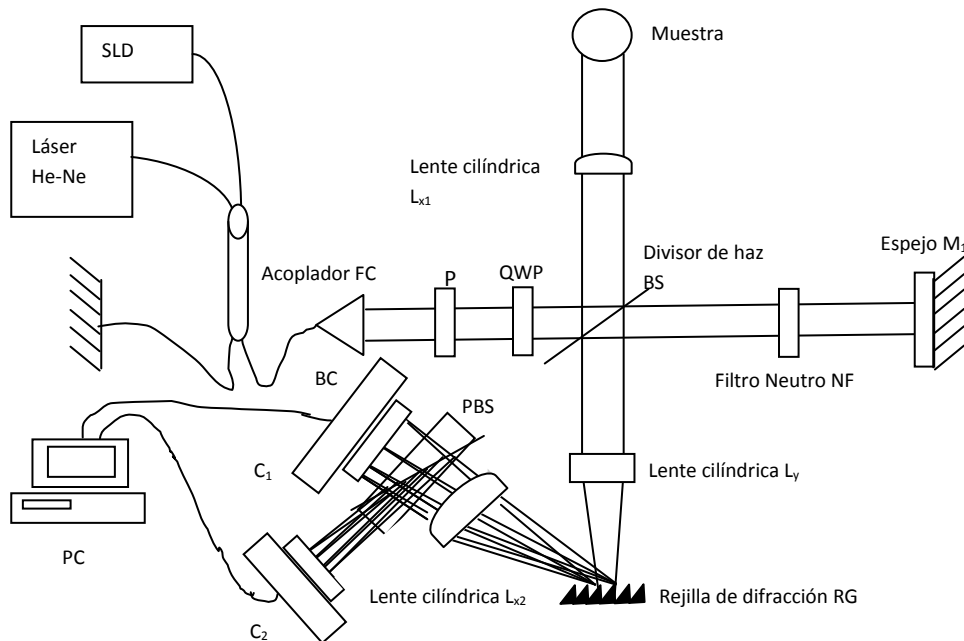


Figura 3.7 Diagrama esquemático del arreglo PS-SOCT1. PBS= divisor de haz polarizado. C_1 = sensor CMOS 1. C_2 = sensor CMOS 2. BC= colimador de haz. P= polarizador

Dado que en esta etapa se requiere el estudio del comportamiento de las muestras con luz polarizada, se colocó un polarizador de calcita P a $+45^\circ$ a la salida del colimador BC para obtener magnitudes idénticas en los estados de polarización “ p ” y “ s ” (Figura 3.8). Delante del polarizador de calcita se colocó un retardador de cuarto de onda QWP para algunas pruebas con la intención de obtener polarización circular.

El cubo divisor de haz polarizado *PBS* se coloca en la trayectoria final del haz reflejado por la rejilla de difracción *RG* para separar las intensidades correspondientes a los estados de polarización que son adquiridos por los sensores CMOS C_1 y C_2 .

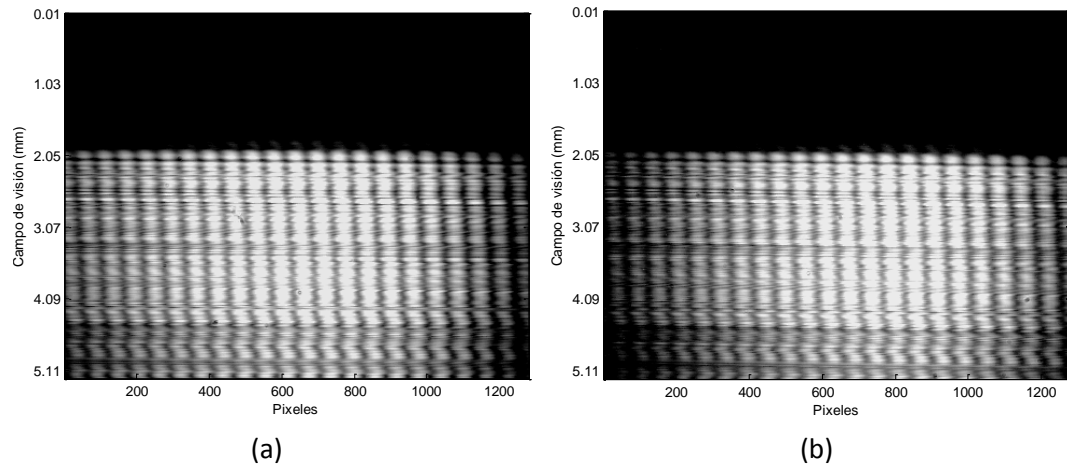


Figura 3.8 Imágenes de intensidad para los sensores a) C_1 y b) C_2

Con este nuevo arreglo se realizaron pruebas en córneas porcinas, por lo que se requirió un sistema que permitiera ejercer presión de forma uniforme sobre éstas, y que lograra mantener su forma esférica.

En la Figura 3.9 puede observarse el sistema para ejercer los cambios de presión sobre las corneas. Las córneas se sujetaban con empaques. El líquido con el que se llenaba la manguera era una solución salina. Esta mezcla sirve para mantener hidratada la córnea, ejercer presión y así mantenga su forma, y tener un índice de refracción similar.

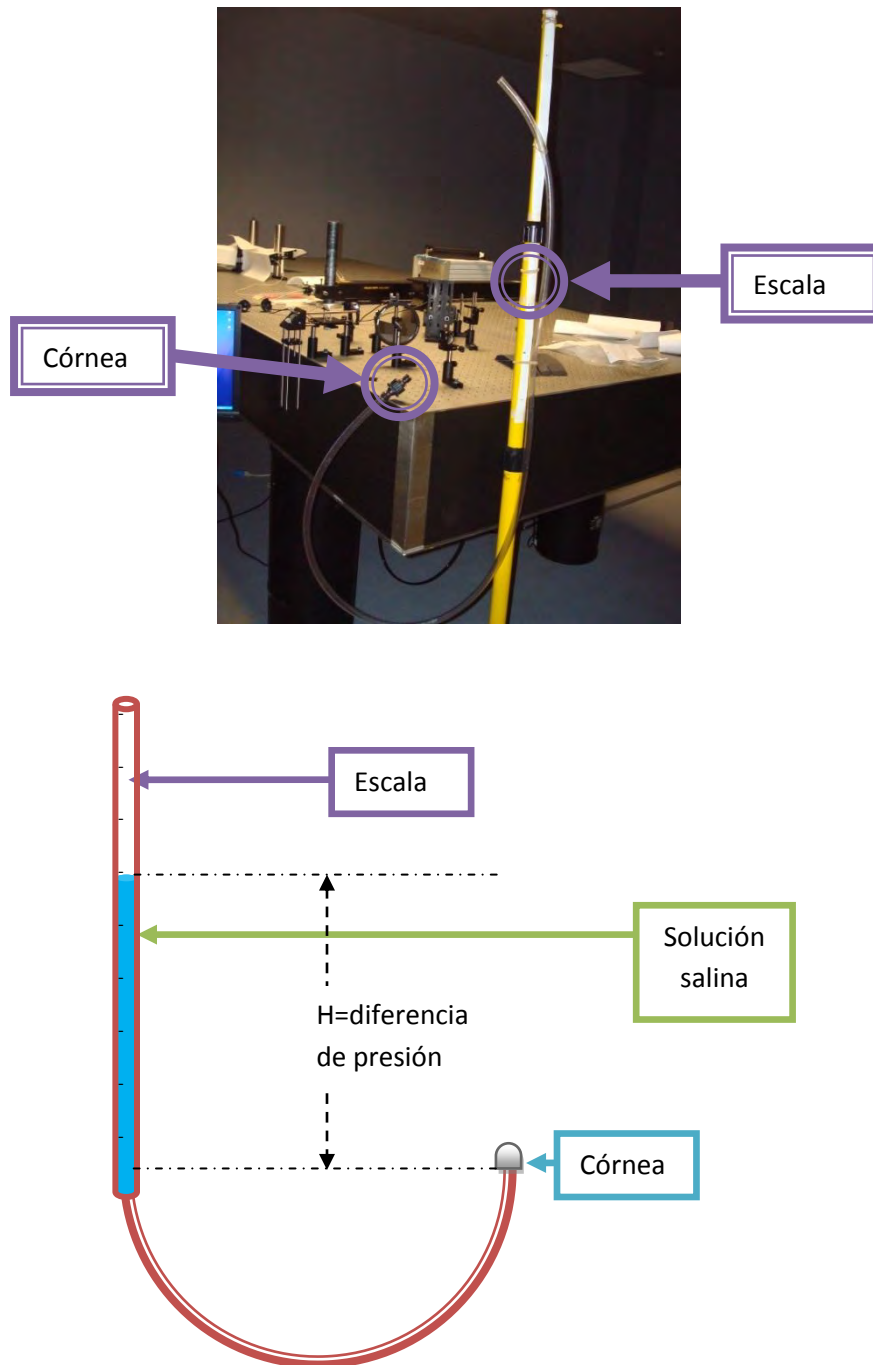


Figura 3.9 Sistema de presión. La córnea se coloca en el extremo indicado de la manguera; el tubo lleva la escala graduada.

La presión que se ejerce es medida en Pascales, donde se toma como presión cero cuando el nivel de agua en el extremo contrario de la manguera es igual en altura a la superficie de la cornea.

Sabiendo que 1 pascal = 0.01019716213 cm de agua, se pueden obtener los valores de presión con sus correspondientes valores de altura mostrados en la Tabla 3-2.

kPa	CmH ₂ O
2	20.39
2.5	25.49
3	30.59
3.5	35.69
4	40.78
4.5	45.88
5	50.98
5.5	56.08
6	61.18
6.5	66.28
7	71.38

Tabla 3-2 Conversión de kPa a cm de agua.

3.2.1 PRUEBAS PS-SOCT

Con este arreglo sensible a polarización se realizaron pruebas con el portaobjetos, los polímeros y las córneas.

El portaobjetos se usó para alinear el sistema OCT y demostrar que una muestra isotrópica, no presenta cambio alguno en la fase relativa para los estados de polarización p y s (Figura 3.10). Las pruebas aplicadas al portaobjetos fueron de inclinación y presión transversal en un punto.

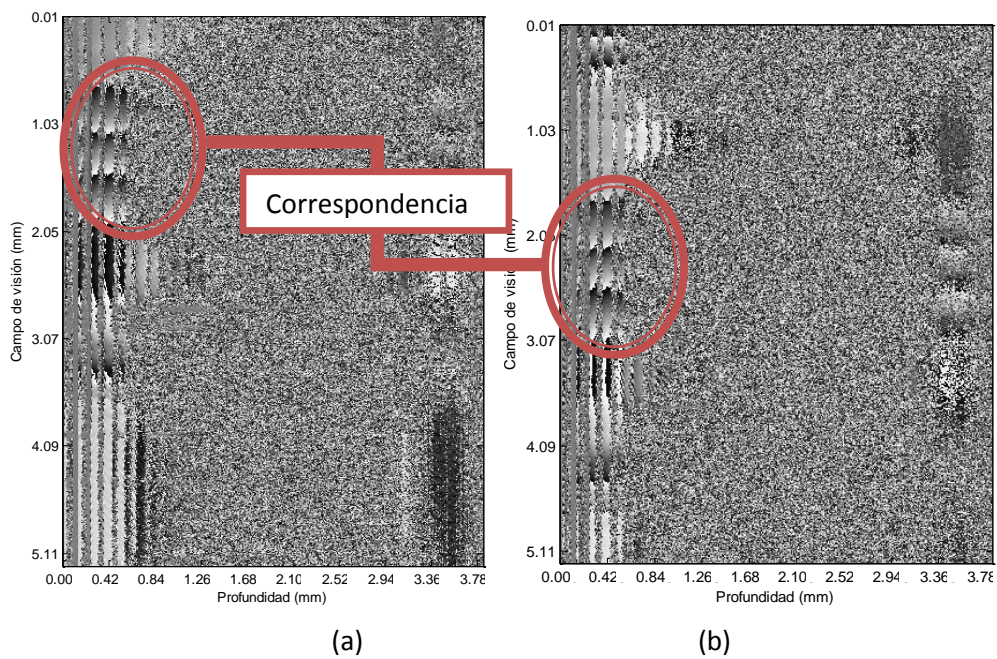


Figura 3.10 Diagramas de fase del portaobjetos. a) C_1 y b) C_2

En la Figura 3.10 puede observarse que existe un cierto offset entre una cámara y otra. En pruebas posteriores se ajustaron las cámaras, hasta compensar este offset.

Respecto a los polímeros dopados, se realizaron pruebas de inclinación y se obtuvieron imágenes de la estructura interna para cada estado de polarización (Figura 3.11).

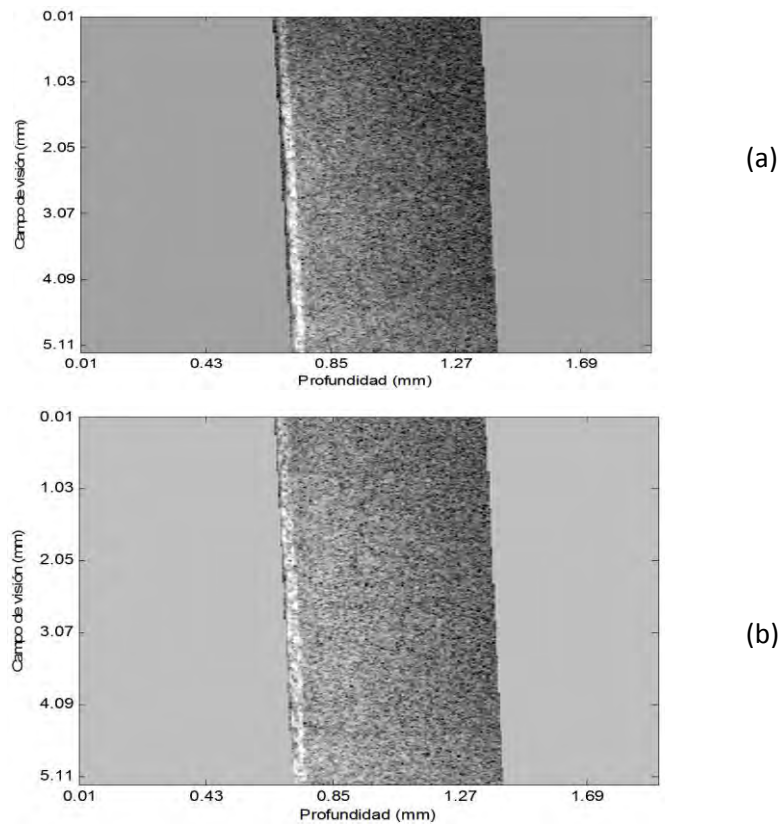


Figura 3.11 Estructuras del polímero dopado con cobre para los sensores a) C_1 y b) C_2 .

Pasemos ahora a la parte principal de este trabajo, las pruebas realizadas a las córneas porcinas. Estas pruebas fueron exclusivamente cambios de presión, y todas ellas se hicieron a temperatura ambiente para evitar las vibraciones producidas por el acondicionador de aire del laboratorio. A diferencia de las pruebas realizadas anteriormente donde no se tenía una medición de la cantidad de presión ejercida sobre las muestras, estas pruebas si fueron controladas, a excepción de la última,

ejerciéndose presión superficial puntual en el centro (véase sección 4.2.4). Los parámetros que se controlaron en las pruebas fueron: iluminación, presión y polarización. Los rangos de presión que podían ser aplicadas a las córneas se muestran en la Tabla 3-2 (Página 59).

Para aplicar el cambio de presión a las córneas, se colocaban en el arreglo y se dejaba reposar el líquido, una vez reposado y en la presión inicial deseada para comenzar la prueba, se realizaba el cambio de presión y se comenzaba a grabar la serie de imágenes por alrededor de 60 segundos, tiempo en el cual se estabilizaba la solución salina nuevamente.

En las primeras pruebas realizadas, la diferencia de caminos ópticos era tal que el brazo objeto estaba a una distancia menor que el brazo referencia. En la Figura 3.12 puede observarse la situación mencionada. Para este caso, no podía diferenciarse correctamente el grosor de la córnea y, por ende, la estructura de ésta se mezclaba con la autointerferencia.

Una vez arreglada la diferencia de caminos ópticos, de tal forma que el camino óptico del brazo objeto fuera mayor a la del espejo de referencia, se realizaron las pruebas correspondientes obteniendo imágenes espectrales como las que se muestran en la Figura 3.13.

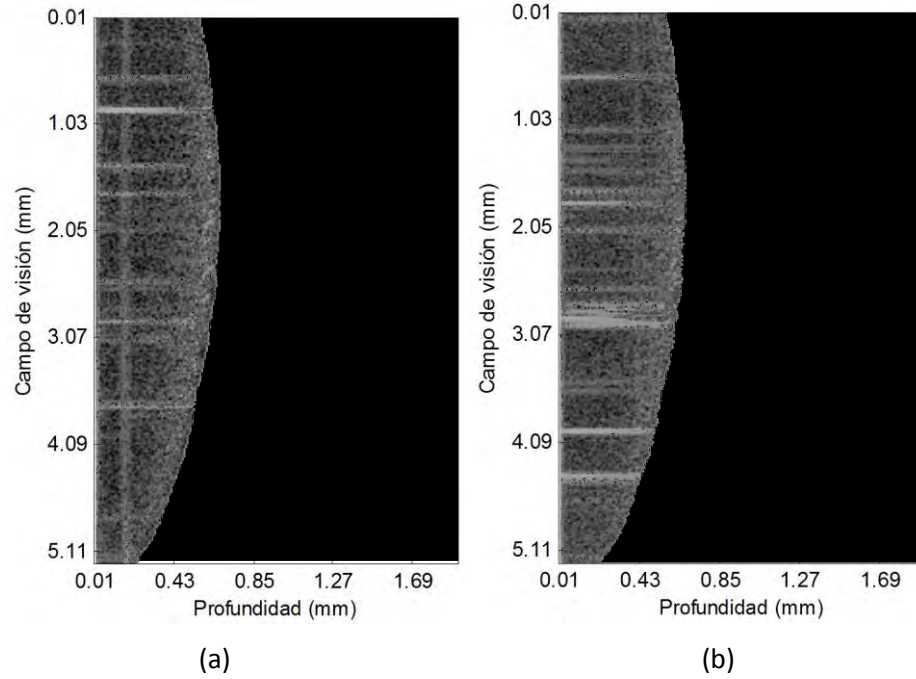


Figura 3.12 Primera prueba córnea. Imágenes tomográficas obtenidas para los sensores a) C_1 y b) C_2 .

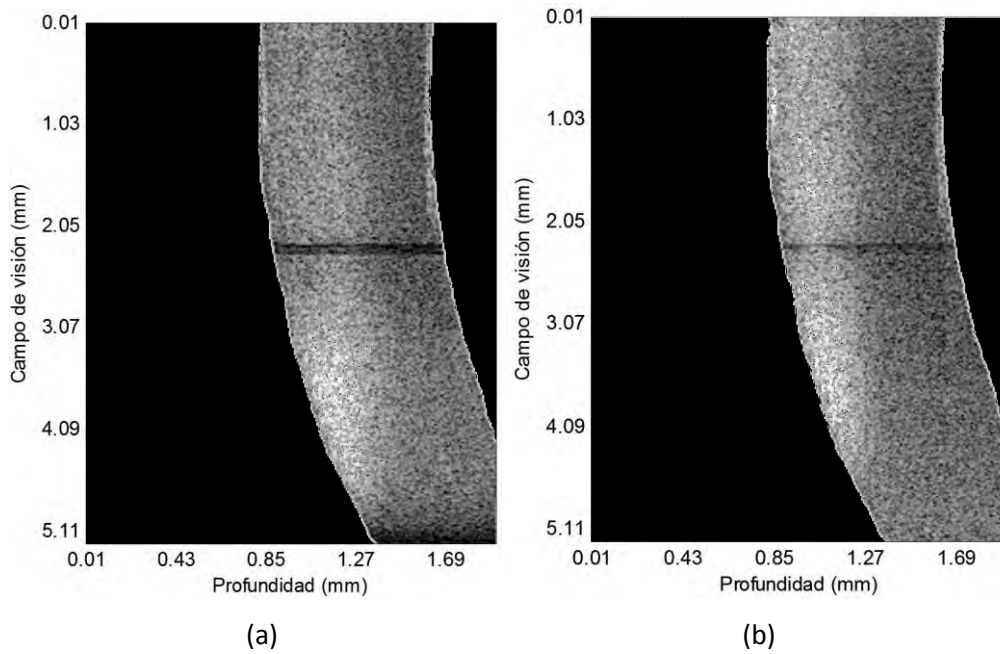


Figura 3.13 Imágenes tomográficas de la córnea después del cambio de camino óptico en el brazo objeto para los sensores a) C_1 y b) C_2 .

Posteriormente se ajusto el arreglo para minimizar las reflexiones múltiples dentro de las lentes cilíndricas, se obtuvieron mejores imágenes tomográficas de la córnea para los estados de polarización que pueden observarse en la Figura 3.14. Estas imágenes corresponden a la prueba de presión superficial puntual aplicada a una córnea con 1 día de haber sido extraída.

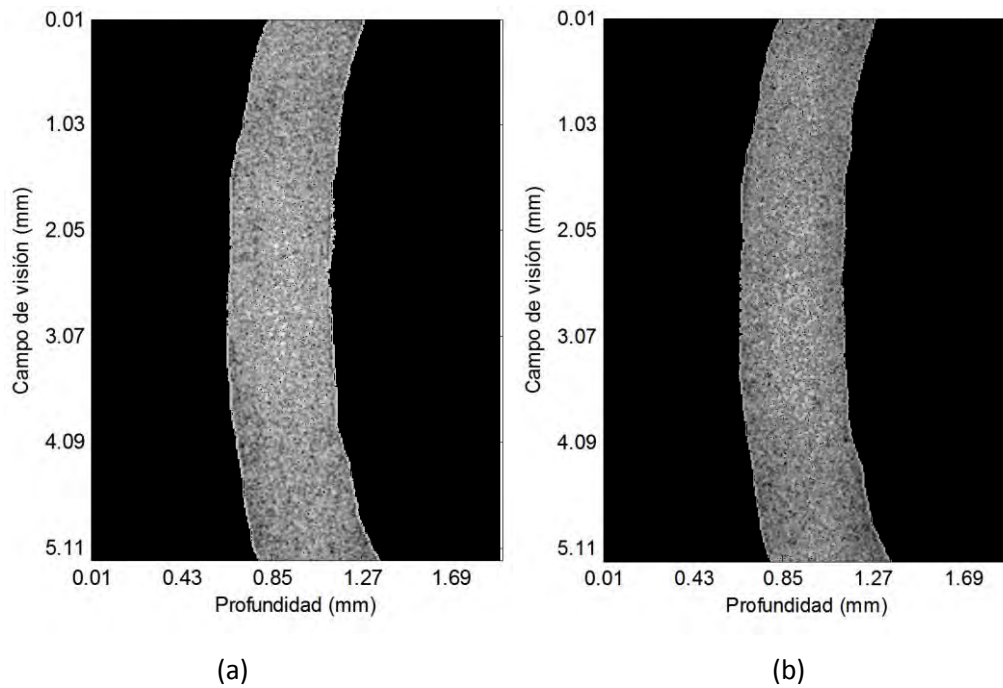


Figura 3.14 Imágenes tomográficas de la córnea para cada estado de polarización aplicando presión superficial en la parte central a) C_1 y b) C_2 .

4 RESULTADOS

En este capítulo se muestran y discuten los resultados obtenidos para cada arreglo, indicando las mejoras que se podrían realizar al sistema para trabajos futuros. La Tabla 4-1 muestra los espesores, medidos con un micrómetro, para las diferentes muestras usadas durante el trabajo experimental que se describe en este capítulo.

Muestra	Espesor
Portaobjetos	.985 mm
Cubreobjetos	.135 mm
Polímero con cobre	0.711 mm
Polímero con níquel	0.543 mm

Tabla 4-1 Espesores de las muestras.

4.1 ARREGLO SOCT

A continuación se muestran los valores obtenidos para el sistema, los cuales son válidos para todos los arreglos.

Resolución lateral:

$$\Delta L = 22.59 \mu m$$

Resolución longitudinal:

$$\Delta L_g = \frac{5.2 \text{ mm}}{1024 \text{ pxl}} = 5.1 \mu m$$

Profundidad de foco:

$$DOF = 0.955 \text{ mm}$$

Profundidad de campo:

$$b = 1.8 \text{ mm}$$

Las pruebas fueron realizadas con el SLD en alta potencia (20mW):

Tiempo de coherencia:

$$\tau_c = 5.22 \times 10^{-14} \text{ S}$$

Longitud de coherencia:

$$\tau_l = 16 \mu m$$

Resolución de profundidad:

$$\delta_{ZFWHM} = 6.2272 \mu m$$

Los resultados obtenidos para el arreglo SOCT de la sección 3.1 se muestran a continuación:

Para la prueba con el cubreobjetos se obtuvieron imágenes de intensidad (Figura 4.1), donde se pueden observar claramente las franjas de interferencia y su patrón bien definido. Esta prueba se realizó con el SLD a baja potencia debido a la alta reflectancia del vidrio. La potencia con la que fue iluminada puede determinarse de la misma imagen, donde alcanza a distinguirse el perfil Gaussiano de intensidad.

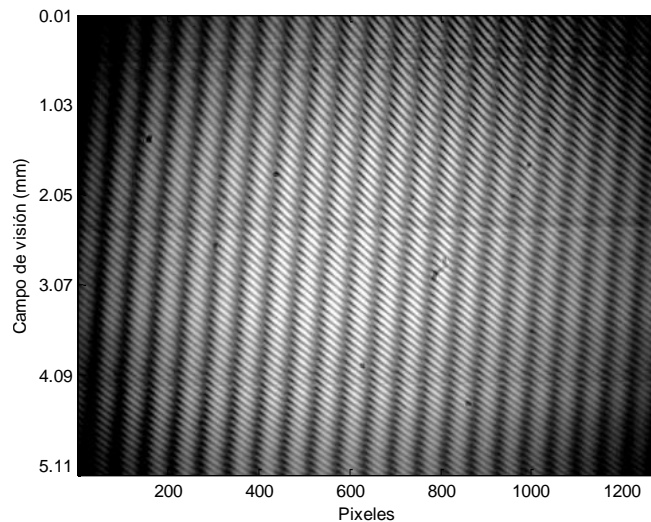


Figura 4.1 Patrón de interferencia de un cubreobjetos de .13 mm de espesor.

La correspondiente imagen tomográfica de la Figura 4.1 se puede observar en la Figura 4.2. En esta figura el eje x representa la profundidad del objeto en mm, mientras que el eje y es la altura observada del objeto. En esta prueba el grosor resultante fue de 0.145 mm, lo que da un error de .015 mm. El error es pequeño tomando en cuenta la resolución de profundidad y que la cámara es de bajo costo.

El correspondiente diagrama de fase por deformación se puede observar en la Figura 4.3.

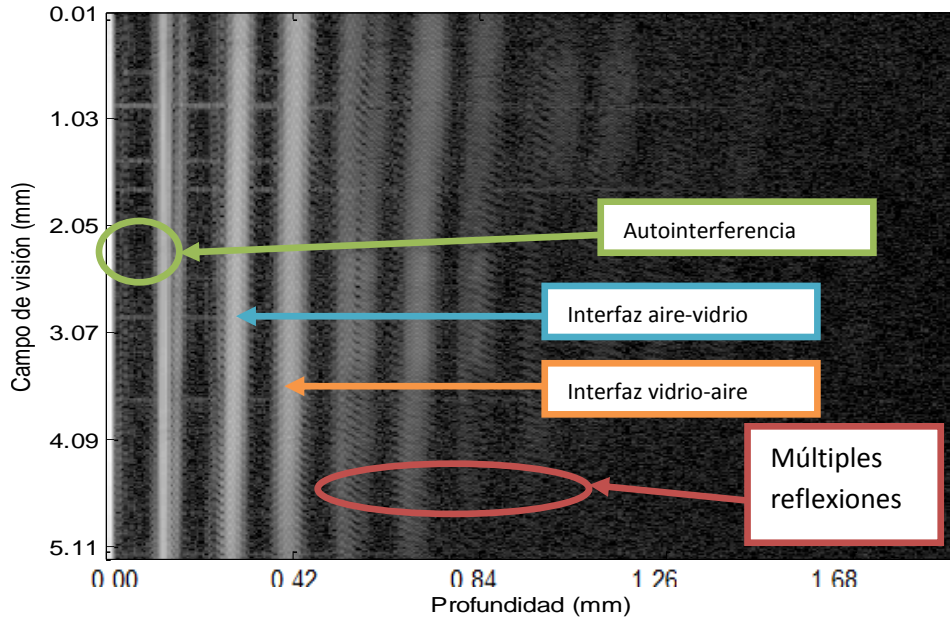


Figura 4.2 B-Scan cubreobjetos.

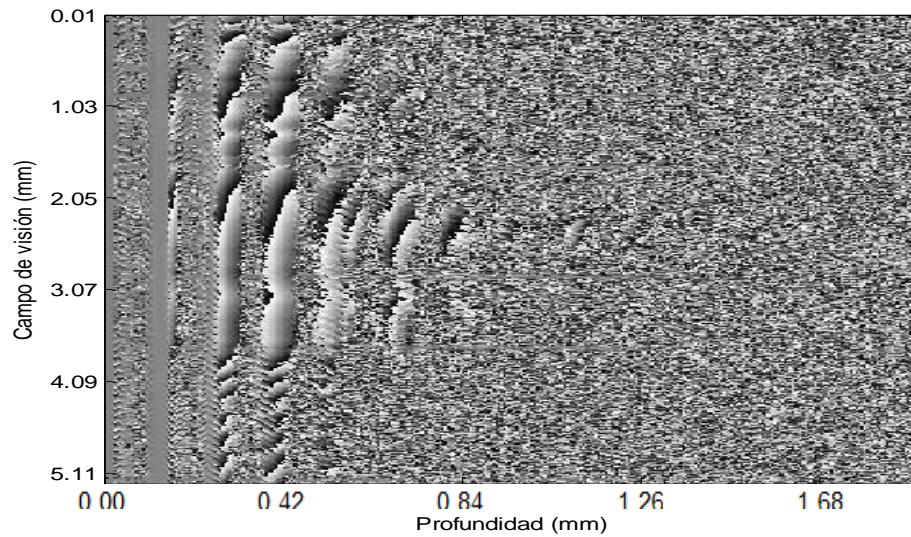


Figura 4.3 Deformación del cubreobjetos.

Las imágenes anteriores representan una de las pruebas finales aplicadas al cubreobjetos. En la Figura 4.4 se puede observar la prueba aplicada al mismo cubreobjetos por 30 segundos, pero sin presión, para observar si aparecía un cambio de fase por desplazamiento o ruido del arreglo. Como puede observarse no existe tal, con lo cual podemos asegurar que el arreglo era estable y la fase obtenida corresponde a la fase por deformación.

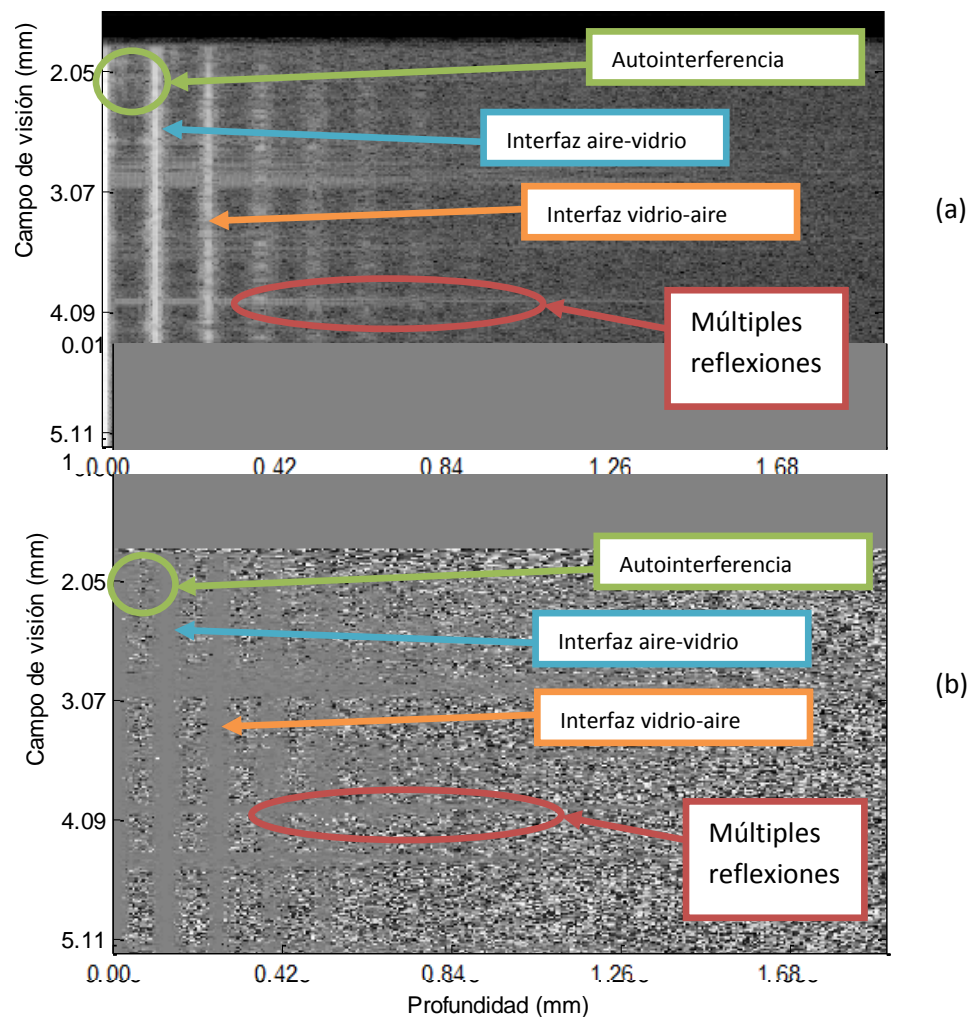


Figura 4.4 Prueba de estabilidad del sistema, a) Imagen tomográfica, b) imagen de fase por deformación.

4.2 ARREGLO PS-SOCT

La Figura 4.5 muestra la intensidad obtenida para la cámara C_2 proveniente del cubreobjetos. Dentro de las franjas de baja frecuencia pueden alcanzarse franjas de mayor frecuencia que corresponden a la interferencia objeto-referencia.

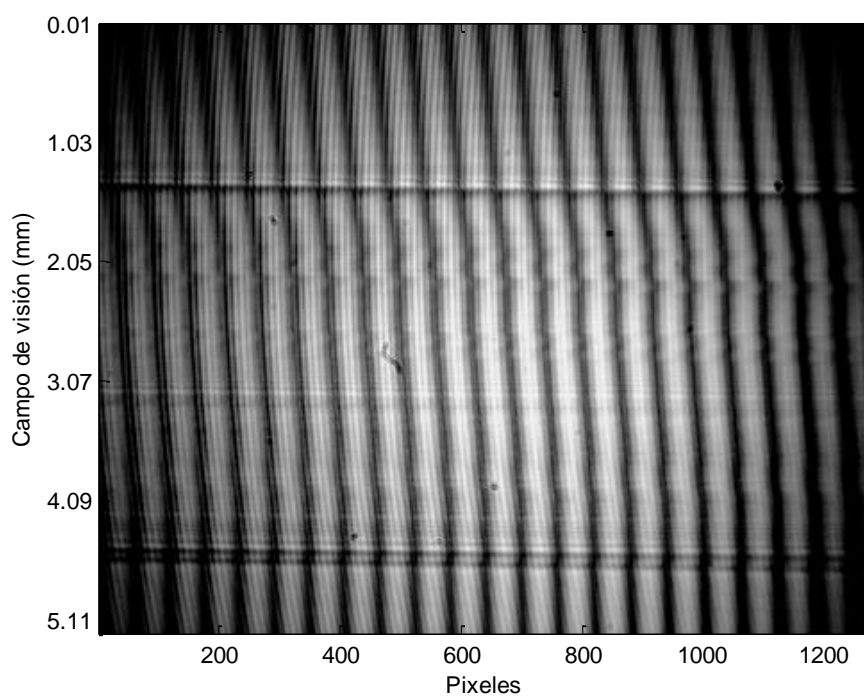


Figura 4.5 Intensidad C_2 Cubreobjetos.

Su correspondiente imagen tomográfica se observa en la Figura 4.6. La zona de franjas a la izquierda corresponde a la autointerferencia, y la de la derecha a la interferencia objeto-referencia. Se alejó la muestra, para evitar la interferencia con las mismas reflexiones provenientes del cubreobjetos.

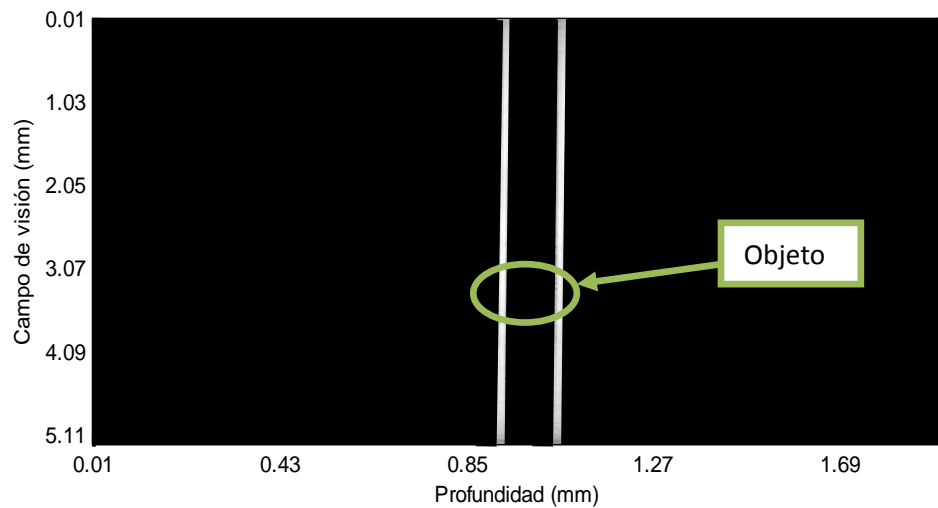


Figura 4.6 B-scan cubreobjetos PS-SOCT1

En la Figura 4.7 se observa la fase por deformación del cobre objetos para la cámara C_2 correspondiente a la polarización s. El grosor obtenido para el cubreobjetos fue de 0.13 mm en la parte central de la muestra. La medición se realiza en la zona central, ya que ahí se encuentra mejor enfocada la imagen.

Su correspondiente diagrama de fase por polarización se observa en la Figura 4.8. En esta figura puede verse que no existe cambio de fase por polarización en este objeto. En el vidrio comercial, a pesar de que su estructura no es simétrica, el material es tan aleatorio que la luz al atravesar por cualquiera de sus ejes, solo “verá” un desorden total en los átomos, lo que provoca (para fines prácticos) una estructura idéntica en cada uno de los ejes de propagación dentro del vidrio.

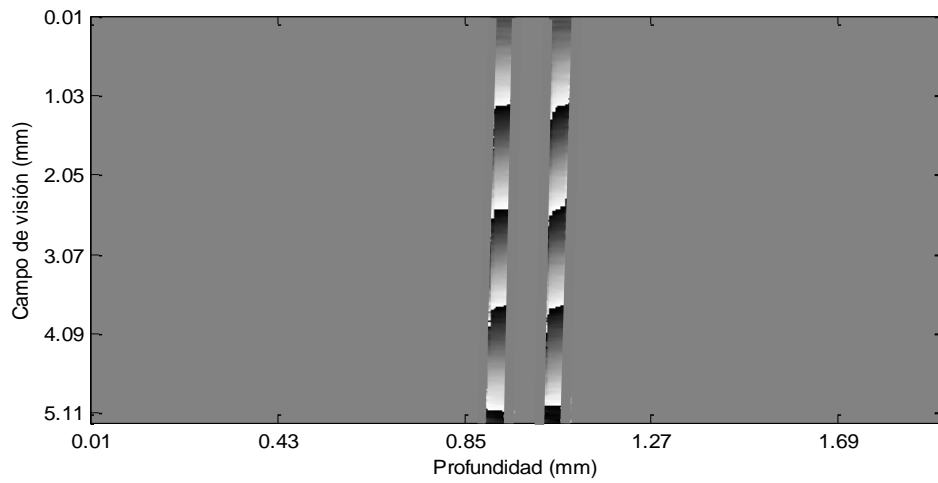


Figura 4.7 Fase por deformación cubreobjetos PS-SOCT1.

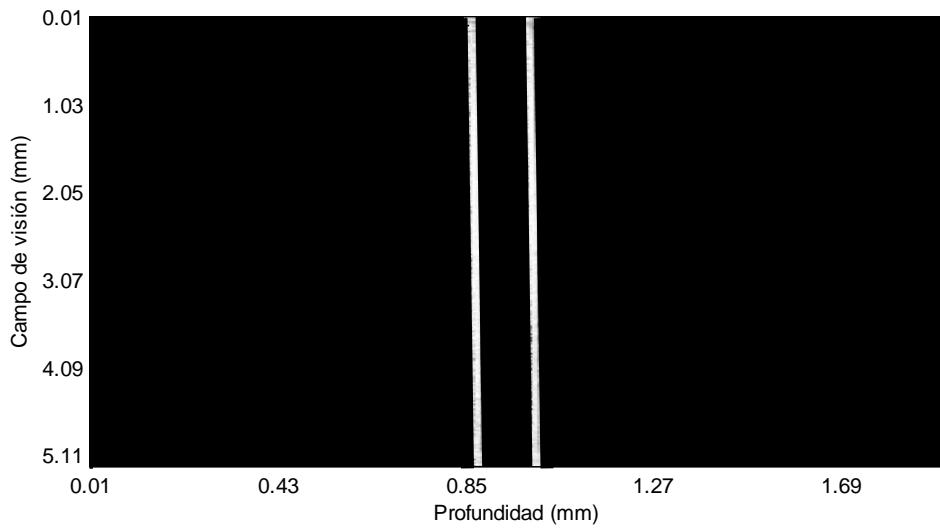


Figura 4.8 Diagrama de fase por polarización para el cubreobjetos.

Para las pruebas realizadas a los polímeros con Níquel y Cobre, se obtuvieron las imágenes de fase por deformación y polarización mostradas en la Figura 4.9 y Figura 4.10, respectivamente.

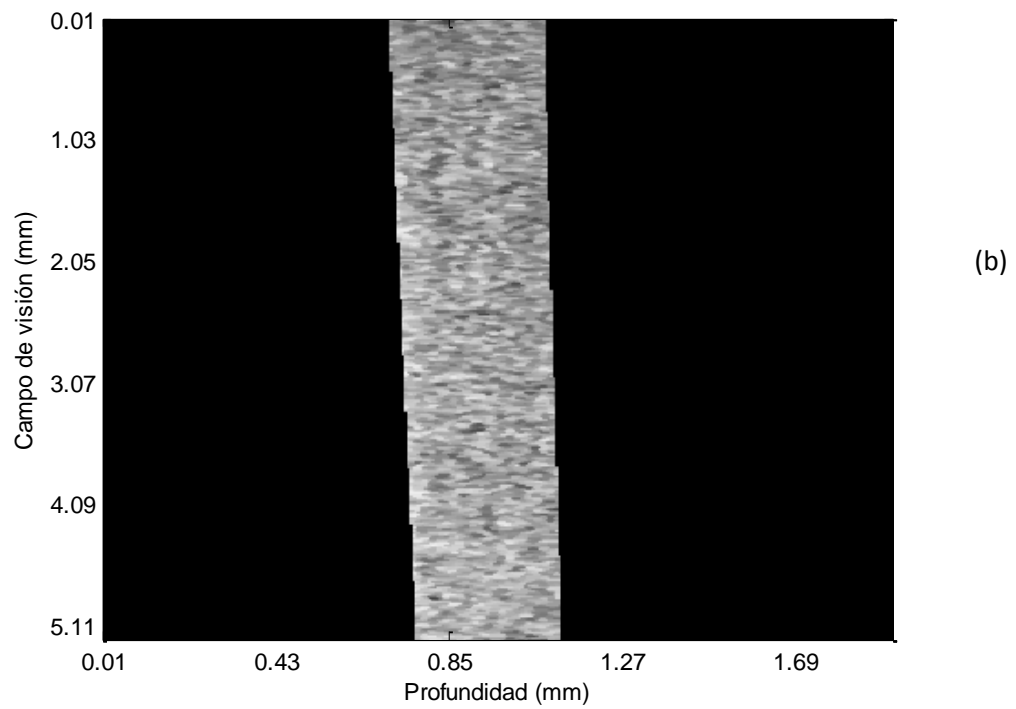
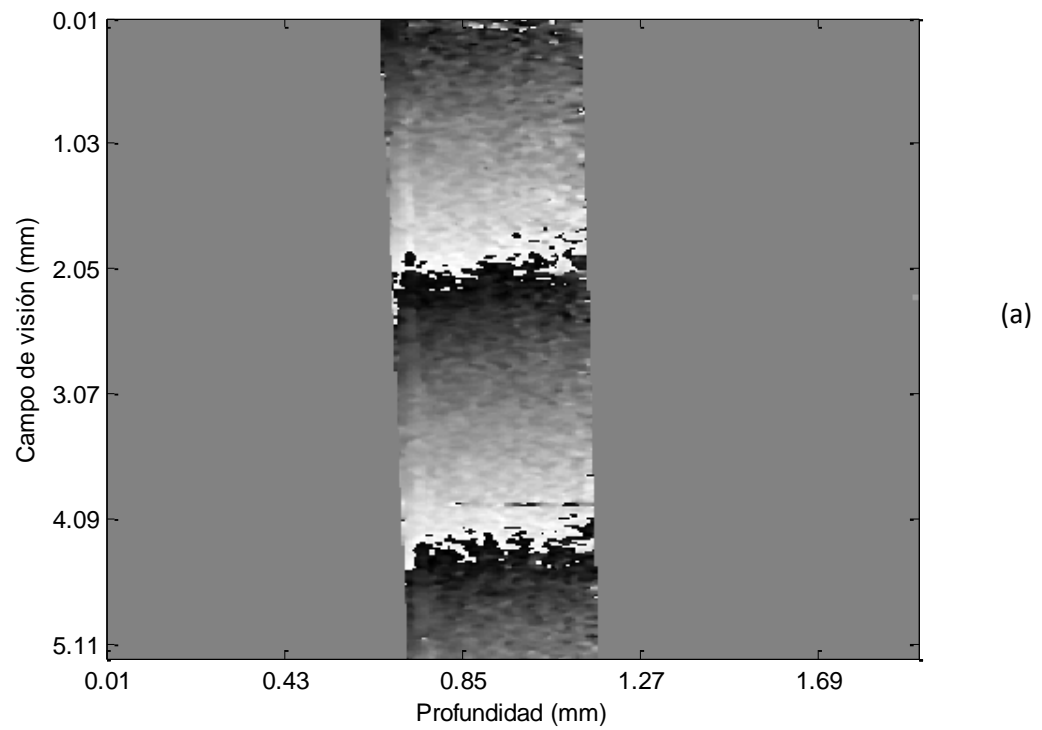


Figura 4.9. a) Fase por deformación y b) fase por polarización para el polímero de cobre (Cu).

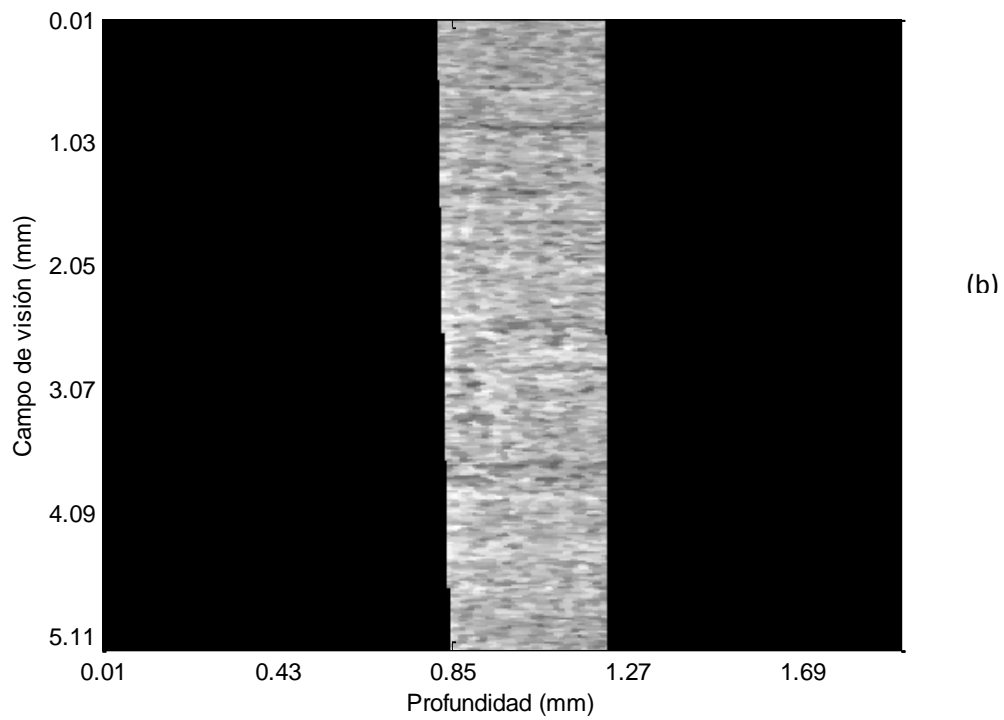
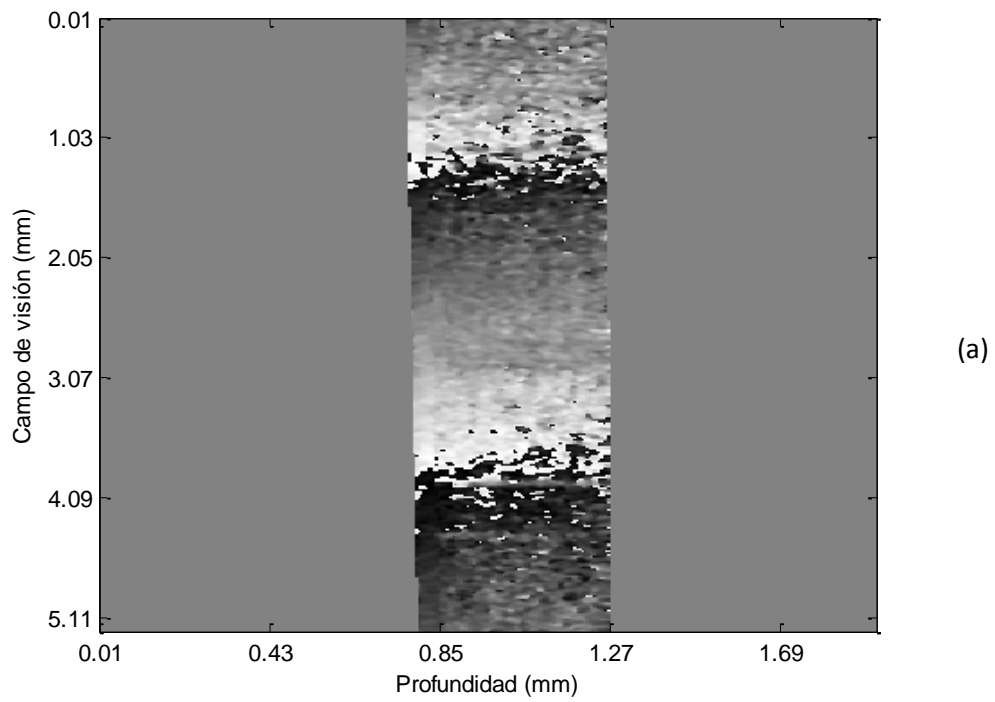


Figura 4.10. a) Fase por deformación y b) fase por polarización para el polímero de níquel (Ni).

De las figuras anteriores se puede observar que no existe diferencia de fase entre los estados de polarización de la luz. Como se había mencionado en la sección 2.4, para que exista el fenómeno de birrefringencia, debe existir cierta alineación en la estructura de un material para poder ejercer un cambio significativo en los índices de refracción para los planos de propagación. Los polímeros que sirvieron de muestra presentan un acomodo aleatorio en las partículas dopantes dentro del material, tal como sucede con el vidrio.

Pasemos ahora a las pruebas principales de este proyecto. Las imágenes de intensidad correspondientes a las córneas, muestran franjas que no son precisamente de la forma que pueden observarse en los objetos especulares de estructura bien definida como el caso del vidrio o la superficie de un espejo. Estas franjas de interferencia son más complejas. Esto mismo se debe a la estructura de la córnea. Las frecuencias provenientes de cada elemento esparcidor dentro de ella se mezclan para formar el patrón complejo de interferencia.

Se realizaron pruebas con un arreglo como el que se describe en [26], donde usan dos cuartos de onda, uno de ellos colocado en el brazo de referencia a 22.5° y el segundo a 45° en el brazo objeto.

Las pruebas realizadas a las córneas con los diferentes arreglos no muestran diferencia en los mapas de birrefringencia tal como se muestra en la Figura 4.11.

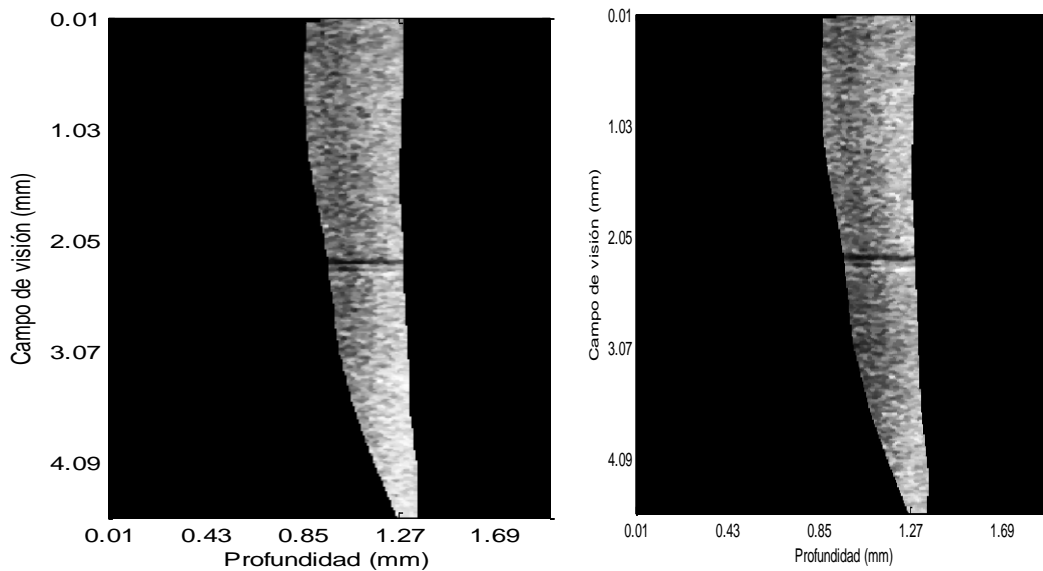


Figura 4.11 Mapas de birrefringencia para los arreglos B)PS-SOCT y B) De Boer.

En este trabajo se logran obtener las 3 capas de la córnea dada la resolución de profundidad que se tiene. Como bien se sabe, esta resolución puede cambiarse para obtener mejor detalle sacrificando la profundidad de campo. El problema con esto recae en que la córnea tiene un espesor entre los 500 y 800 micrómetros. Así que la profundidad de campo mínima que se podría tener en un sistema sería de 1 mm. Tomando en cuenta que se debe dejar un espacio igual al grosor de la córnea para su autointerferencia y el restante para la interferencia objeto-referencia. Las pruebas mostradas en las secciones 4.2.1 a 4.2.4 son de presión intraocular (IOP: Internal Ocular Pressure) y fueron realizadas con un tiempo post-mortem de 6, 27, 29 y 33 horas respectivamente.

4.2.1 IOP 1kPa A 4kPa

La imagen tomográfica y la fase por deformación de esta prueba se muestran en la Figura 4.12, para un cambio de presión de 1kPa a 4kPa. El grosor de la córnea que se obtuvo fue de 0.744 mm y puede observarse que la córnea se encontraba en el límite de enfoque aceptable (profundidad de campo). La fase por polarización obtenida para esta prueba se puede observar en la Figura 4.13.

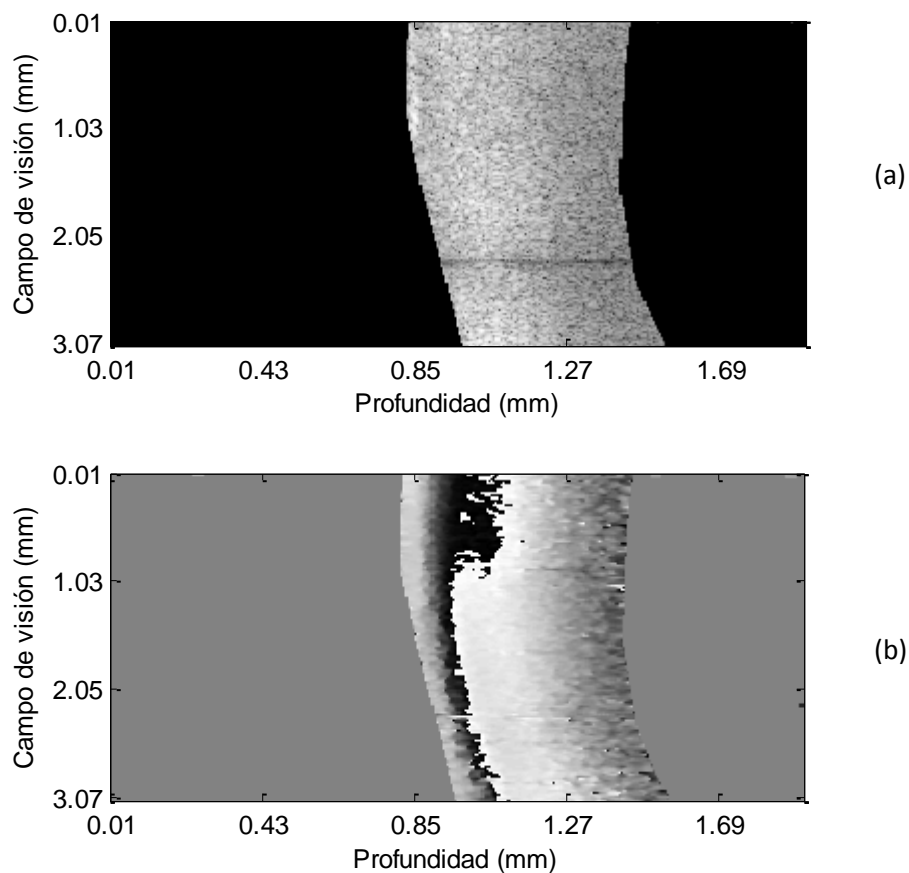


Figura 4.12 resultados Prueba IOP1kPa a 4kPa. a) Imagen tomográfica de la córnea y b) Fase por deformación.

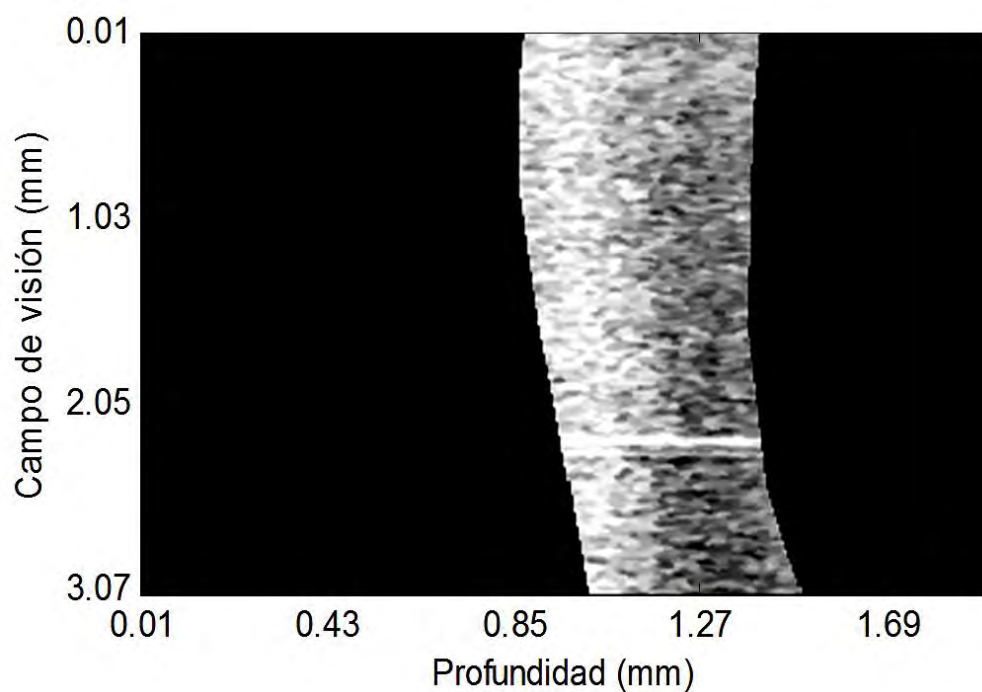


Figura 4.13 Imagen de fase por polarización de la prueba IOP 1kPa a 4kPa.

4.2.2 IOP 2kPa A 2.5kPa

La prueba correspondiente a la Figura 4.14 se realizó al día siguiente de haber obtenido la córnea. El grosor medido fue de 0.534 mm. Esta prueba corresponde a un cambio de presión de 2kPa a 2.5kPa.

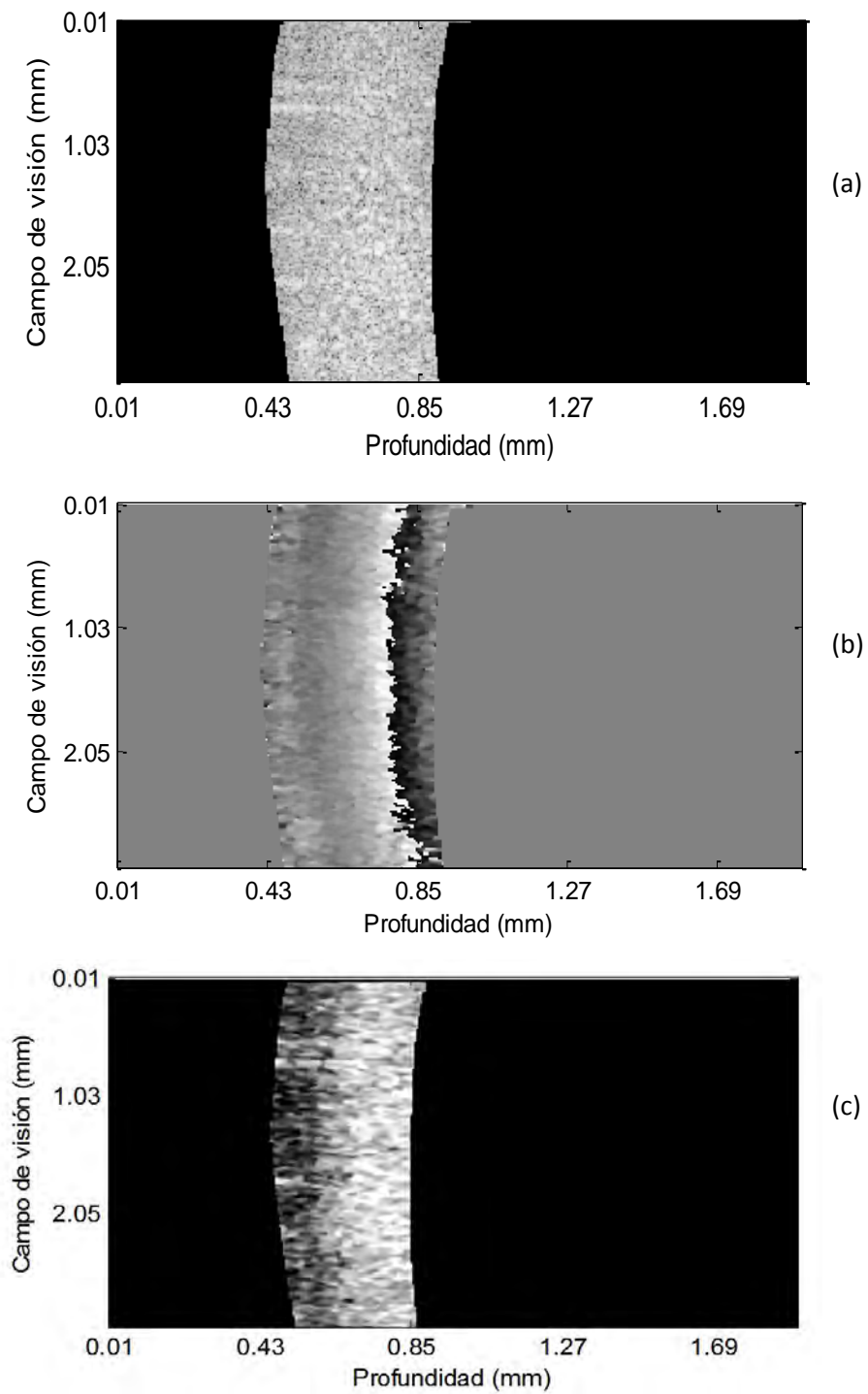


Figura 4.14 Prueba de presión intraocular con cambio de presión de 2kPa a 2.5kPa aplicada a la córnea. a) imagen tomográfica; b) fase por deformación; c) fase por polarización.

4.2.3 IOP 3kPa A 6kPa

Esta prueba corresponde a la córnea con un tiempo post-mortem de 29 horas. El cambio de presión aplicado fue de 3kPa a 6kPa. Sus imágenes de estructura y fase se observan en la Figura 4.15, y su fase por polarización se observa en la Figura 4.16. El grosor obtenido para esta prueba fue de 0.732 mm. Comparando el espesor obtenido en esta prueba con la anterior:

$$0.744 \text{ mm} - 0.732 \text{ mm} = 0.012 \text{ mm}$$

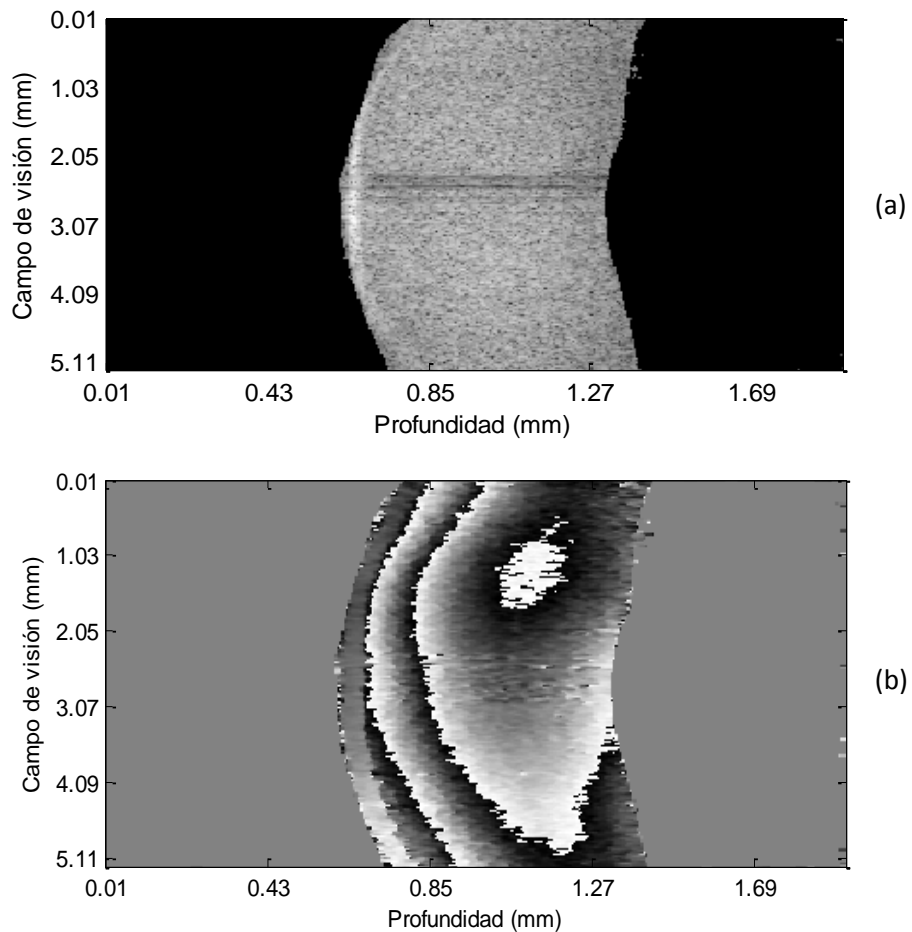


Figura 4.15. Prueba IOP aplicada a la córnea. a) Imagen tomográfica y b) Fase por deformación.

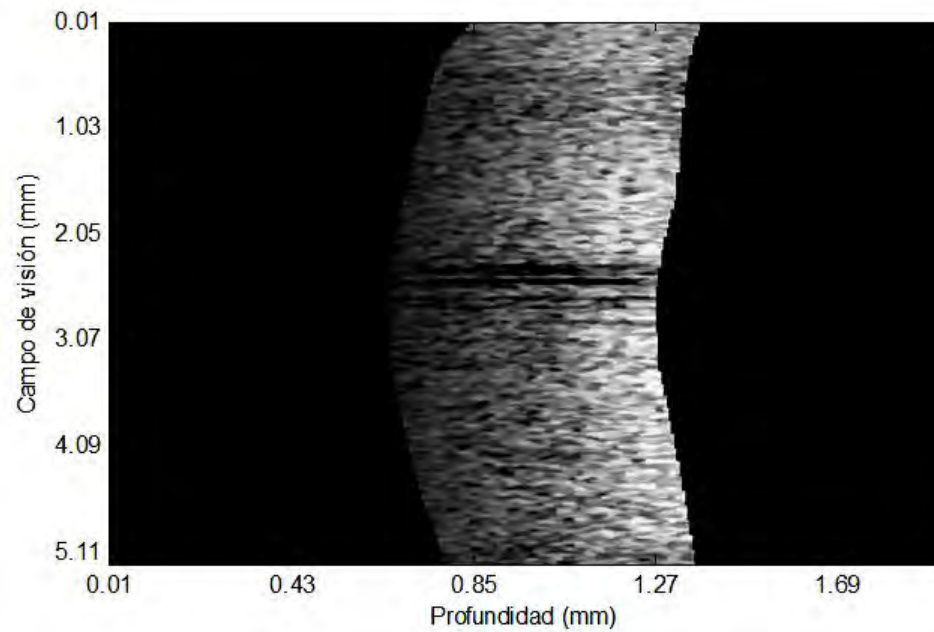


Figura 4.16 Fase por polarización de la cornea para la prueba IOP 3kPa a 6kPa.

4.2.4 IOP 3kPa a 5kPa

En esta prueba final se generó un cambio de presión a 3kPa a 5kPa y se observó, como muestran las imágenes de la Figura 4.17, una deformación no simétrica. Esto demuestra que la rigidez de la córnea no es idéntica en todas partes.

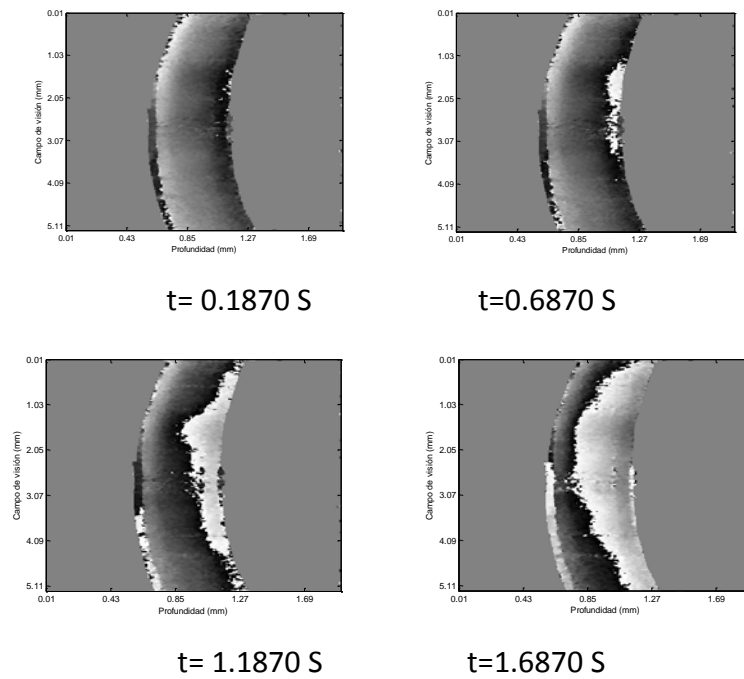


Figura 4.17 Imágenes de fase por deformación de la prueba de presión central aplicada a la córnea.

Con los resultados obtenidos de las pruebas realizadas a las córneas. Se observó que era mucho más fácil de ver los límites de las distintas capas cuanto más hidratada se encontrara la córnea. Sin embargo, esto es producto de un comportamiento diferente.

5 CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

El SOCT se usa para observar la estructura interna de una muestra con una resolución de unos cuantos nanómetros. Recientemente se ha logrado obtener información de desplazamiento e información de la birrefringencia de algunos tejidos biológicos. El sistema desarrollado en esta ocasión provee imágenes bidimensionales de la estructura interna de las córneas en una sola toma. Una ventaja de éste es que no cuenta con partes móviles y se usaron sensores CMOS económicos provenientes de cámaras web.

Haciendo uso de los conocimientos teóricos descritos en el capítulo 2, se desarrolló un sistema SOCT para la validación del proyecto. Durante esta etapa se obtuvo el grosor de un cubreobjetos con un error de 15 micrómetros, el cual es bastante bajo tomando en cuenta los sensores CMOS económicos utilizados que introducían ruido a las imágenes de interferencia obtenidas.

Una vez alineado el sistema, se armó el arreglo SOCT sensible a polarización. Con este sistema se obtuvo la deformación para cada estado de polarización 'p' y 's', así como el cambio de fase causado por la birrefringencia en córneas porcinas. Durante

el desarrollo de las pruebas experimentales se observó el efecto del área de enfoque limitado que se tiene en este tipo de sistemas dada la apertura numérica de la lente.

Se realizaron pruebas con un arreglo como el que se describe en [26] donde usan dos cuartos de onda, uno de ellos colocado en el brazo de referencia a 22.5° y el segundo a 45° en el brazo objeto.

Los resultados sugieren que las imágenes de fase por polarización obtenidas para cada arreglo son similares, excepto en la intensidad recibida en los sensores CMOS, las cuales disminuyen para el arreglo desarrollado por De Boer [26]. Aun faltan algunas pruebas para determinar si estos arreglos son efectivamente equivalentes, tal como lo indica la teoría.

Las pruebas a diferentes presiones se usaron para obtener los mapas de deformación de las córneas, simulando las diferentes presiones intraoculares existentes en las personas. Estos cambios de presión suelen ser un indicador de que existe algún problema y debe ser atendido antes de que las enfermedades tales como el glaucoma se presenten.

La ventaja que presenta el estudio de la birrefringencia, es que ciertas enfermedades del sistema visual generan cambios en su estructura, provocando así un grado de birrefringencia que puede ser estudiado para contra-restar el avance de éstas y evitar así la pérdida de la vista.

Una ventaja de este sistema respecto a otros métodos para la medición de espesor como lo es la tonometría, es que no necesita hacer contacto con la córnea, ni la aplicación de un gel especial para lograr su objetivo.

De los resultados obtenidos se logró demostrar, como se observa, que la rigidez de la córnea no es idéntica en todas direcciones, obteniendo así otra ventaja significativa frente a otras técnicas donde suponen una rigidez constante para todo el volumen. Esto es de vital importancia en casos donde suponen una rigidez proporcional al espesor de la córnea, para la corrección de deformaciones en la curvatura de ésta.

6 TRABAJO A FUTURO

Los siguientes pasos en este trabajo serán:

- Comprobación de equivalencia de arreglos.
- Miniaturización del sistema.
- Mejora en la robustez.
- Optimización del sistema para ser usado con otras muestras.

Como se mencionó en el capítulo anterior, se realizaron pruebas con tres arreglos distintos, en uno de ellos se usaba un solo polarizador lineal a 45° , en el segundo de ellos se usaban el polarizador lineal a 0° y un retardador de cuarto de onda a 45° , y finalmente el tercer arreglo se usó el descrito por De Boer usando dos retardadores de cuarto de onda, uno en el brazo referencia a 22.5° y el segundo a 45° en el brazo objeto. A pesar de las pruebas y que la teoría menciona que estos arreglos son

equivalentes, hace falta corroborar estos datos con un estudio exhaustivo y de acuerdo a las especificaciones del divisor de haz sensible a polarización.

La miniaturización del sistema es para propósitos de comercialización (obtención de la patente, producción y venta del sistema). Muchas de las aplicaciones potenciales que tiene la OCT requieren de un sistema portátil.

En cuanto a la robustez del sistema, como se puede intuir, para cuestiones prácticas, se requiere que el sistema sea estable en diferentes circunstancias, y bajo condiciones distintas. El sistema desarrollado en este trabajo es estable en ambiente de laboratorio, pero en el exterior se debe contar con cierto grado de tolerancia a las vibraciones, iluminación, etc. Este punto es quizás el más complicado y la razón por la cual muchos sistemas no han podido ser comercializados.

Las aplicaciones potenciales captadas durante el proceso de maestría fueron diversas. Así como las características que cada aplicación requiere. Si se quisiera continuar con el proyecto se puede enfocar en alguna aplicación que puede diferir de la oftalmológica. Se optimizará el sistema para poder medir distintos objetos con el mismo sistema. Aunque para eso, se deberá hacer el estudio correspondiente.

REFERENCIAS

1. Hee MR, Puliafito CA, Wong C, et al. "Optical coherence tomography of macular holes", *Ophthalmology* 102, 748-756 (1995).
2. A F Fercher, "Optical coherence tomography - principles and applications", *Institute of physics publishing* 66, 239-303 (2003).
3. John A Parrish, "New Concepts in Therapeutic Photomedicine; Photochemistry, Optical Targeting and the Therapeutic Window", *Inv. Dermatological* 77, 45-50(1981).
4. J Cuesta, "Anatomía y Fisiología del Ojo Humano", <http://www.tarso.com>.
5. D Malacara, "Óptica Básica" (FCE 2004).
6. Academia estadounidense de médicos, "Abrasiones en la córnea", familydoctor.org.
7. C Ortíz, "Córnea", *Instituto de Cirugía oftalmológica*.
8. E Hetch, "Optics" (Addison-Wesley 1987).
9. "Federal standard 1037C", *General Services Administration* (1996).
10. J Zamorano, "Espectroscopía" (Físicas UCM 2003).
11. Stéphane Coen et al, "White-light supercontinuum generation with 60-ps pump pulses in a photonic crystal fiber," *Opt. Lett.* 26, 1356-1358 (2001).
12. U. Morgner, W. Drexler, F. X. Kärtner, X. D. Li, C. Pitris, E. P. Ippen, and J. G. Fujimoto, "Spectroscopic optical coherence tomography," *Opt. Lett.* 25, 111-113 (2000).
13. RC Youngquist, S Carr and DEN Davies, "Optical coherence-domain reflectometry: A new optical evaluation technique", *Opt. Lett* 12, 158-160 (1987).
14. D Huang et al., "Optical coherence tomography", *Science* 254, 1178-1181 (1991). s.l. : Science.
15. B. L. Danielson and C. D. Whittenberg, "Guided-wave reflectometry with micrometer resolution," *Appl. Opt.* 26, 2836-2842 (1987).
16. Takao Fuji, Motohisa Miyata, Sakae Kawato, Toshiaki Hattori, and Hiroki Nakatsuka, "Linear propagation of light investigated with a white-light Michelson interferometer," *J. Opt. Soc. Am. B* 14, 1074-1078 (1997).

17. A. F. Fercher and E. Roth, "Ophthalmic laser interferometry," *Proc. SPIE* 658, 48-51 (1986).
18. E. Wolf, "Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data," *Opt. Commun.* 1, 153–156 (1969).
19. A F Fercher, "Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry", *Opt. Comm.* 117, 43-48 (1995).
20. R A Leitgeb et al., "Performance of Fourier domain vs time domain optical coherence tomography", *Opt Express* 11, 889 (2003).
21. M H De La Torre, P D Ruiz, J M Huntley, "Simultaneous measurement of in-plane and out-of-plane displacement fields in scattering media using phase-contrast spectral optical coherence tomography", *Optics Lett.* 34, 806-808 (2009).
22. M H De La torre, P D Ruiz, and J M Huntley: "Doble-shot depth-resolved displacement field measurement using phase-contrast spectral optical coherence tomography", *Opt Express* 14, 9643-9656 (2006).
23. J. Schwider, R. Burow, K.-E. Elssner, J. Grzanna, R. Spolaczyk, and K. Merkel, "Digital wave-front measuring interferometry: some systematic error sources," *Appl. Opt.* 22, 3421-3432 (1983) .
24. A. F. Fercher, R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, H. Sattmann, M. Wojtkowski, "Complex Spectral Interferometry OCT," *Proc. SPIE* 3564, 173-178 (1998).
25. Michael R. Hee, David Huang, Eric A. Swanson, and James G. Fujimoto, "Polarization-sensitive low-coherence reflectometer for birefringence characterization and ranging," *J. Opt. Soc. Am. B* 9, 903-908 (1992).
26. Johannes F. de Boer, Thomas E. Milner, Martin J. C. van Gemert, and J. Stuart Nelson, "Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography," *Opt. Lett.* 22, 934-936 (1997) .
27. Christoph K. Hitzenberger, Markus Sticker, Rainer Leitgeb, and Adolf F. Fercher, "Differential phase measurements in low-coherence interferometry without 2π ambiguity," *Opt. Lett.* 26, 1864-1866 (2001) .
28. Gang Yao and Lihong V. Wang, "Two-dimensional depth-resolved Mueller matrix characterization of biological tissue by optical coherence tomography," *Opt. Lett.* 24, 537-539 (1999) .

29. Y. Yasuno, S. Makita, Y. Sutoh, M. Itoh, and T. Yatagai, "Birefringence imaging of human skin by polarization-sensitive spectral interferometric optical coherence tomography," *Opt. Lett.* 27, 1803-1805 (2002) .
30. Johannes F. de Boer, Thomas E. Milner, and J. Stuart Nelson, "Determination of the depth-resolved Stokes parameters of light backscattered from turbid media by use of polarization-sensitive optical coherence tomography," *Opt. Lett.* 24, 300-302 (1999) .
31. Jonathan E. Roth, Jennifer A. Kozak, Siavash Yazdanfar, Andrew M. Rollins, and Joseph A. Izatt, "Simplified method for polarization-sensitive optical coherence tomography," *Opt. Lett.* 26, 1069-1071 (2001) .
32. Y Teramura et al, "Two-dimensional optical coherence tomography using spectral domain interferometry", *Appl. Optics* 2, 21-26 (2000).

APÉNDICE A

Obtuve las córneas siguiendo el protocolo:

1.- Se acudió al rastro donde se sacrifican los cerdos. Una vez sacrificados, se extrajeron los ojos y se almacenaron en un recipiente dentro de una hielera para mantenerlos frescos hasta llegar al laboratorio donde se separó la córnea y esclerótica del resto del ojo.

2.- Una vez en laboratorio, se realizó una limpieza (se retiró el músculo y nervio óptico), después, los ojos se abrieron por la parte posterior (donde se encontraba el nervio óptico) haciendo un corte en forma de cruz sobre la esclerótica hasta 1 cm antes de alcanzar la córnea (Figura A.0.1).

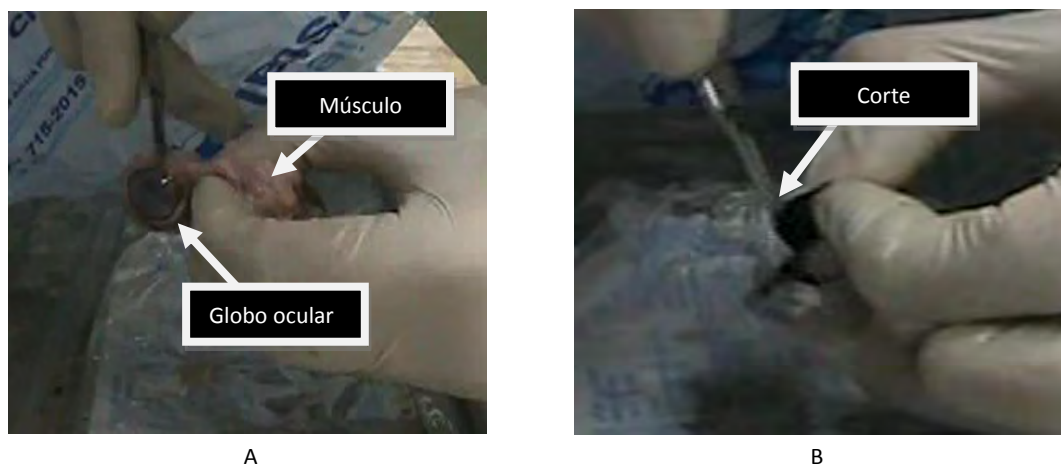


Figura A.0.1. A) Retirando el músculo y nervio óptico del globo ocular y B) corte en cruz por el nervio óptico.

3.- A continuación se extrajo el humor vítreo y el cristalino (Figura A.0.2.A). Para retirar la zónula, se introdujo el bisturí por la pupila, hacia un costado por la sección de la conjuntiva, y se realizó el corte de forma circular (Figura A.0.2.B).

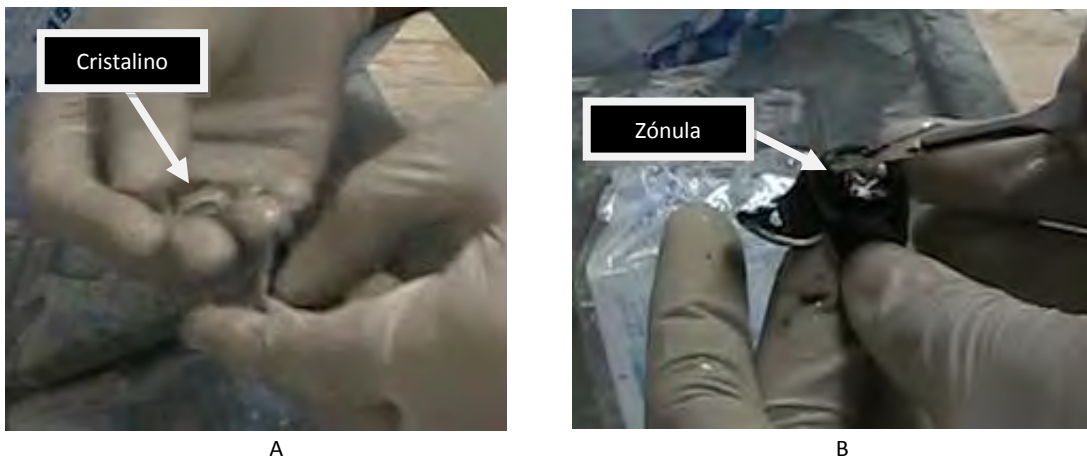


Figura A.0.2. A) Retirando el cristalino y B) Corte para retirar la zónula.

4.- Con mucho cuidado se retiró el humor acuoso de la cámara anterior y el iris (Figura A.0.3), dejando así la córnea y esclerótica.



Figura A.0.3 Corte para retirar el iris.

5.- Una vez separada la córnea y esclerótica, se limpió con agua, y nuevamente se almacenó en un recipiente dentro de la hielera, hasta ser utilizadas para realizar las pruebas correspondientes.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	TEORÍA BÁSICA	3
2.1	PRINCIPIOS DE ÓPTICA	4
2.1.1	COHERENCIA PARCIAL	4
2.1.2	LONGITUD DE ONDA	7
2.1.3	ANCHO ESPECTRAL	7
2.1.4	INTERFERENCIA DE DOS HACES	8
2.1.5	ESPARCIMIENTO	10
2.1.6	RESOLUCIÓN	12
2.1.7	OJO HUMANO	14
2.1.7.1	CÓRNEA	17
2.2	DIFRACCIÓN	19
2.2.1.1	REJILLA DE DIFRACCIÓN	21
2.3	LUZ POLARIZADA	25
2.3.1.1	POLARIZADORES DICROICOS	27
2.4	BIRREFRINGENCIA	29
2.4.1.1	RETARDADORES	32
2.5	FUENTES DE ILUMINACIÓN EN OCT	36
2.6	ESQUEMA BÁSICO OCT	39
2.6.1	OCT TEMPORAL	41
2.6.2	OCT ESPECTRAL	44
2.7	OCT SENSIBLE A POLARIZACIÓN (PS-OCT)	46
3	DESARROLLO EXPERIMENTAL	49
3.1	ALINEACIÓN Y PRUEBAS INICIALES	49
3.2	ARREGLO EXPERIMENTAL SOCT SENSIBLE A POLARIZACIÓN (PS-SOCT)	55
3.2.1	PRUEBAS PS-SOCT	59
4	RESULTADOS	65
4.1	ARREGLO SOCT	66
4.2	ARREGLO PS-SOCT	70
4.2.1	IOP 1kPa A 4kPa	77
4.2.2	IOP 2kPa A 2.5kPa	78
4.2.3	IOP 3kPa A 6kPa	80

4.2.4 IOP 3kPa a 5kPa	81
5 CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN	83
6 TRABAJO A FUTURO	87
REFERENCIAS	89
APÉNDICE A	93

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 2.1 Imagen tomográfica de una córnea usando la transformada de Fourier.</i>	3
<i>Figura 2.2 Representación del backscattering o esparcimiento hacia atrás.</i>	6
<i>Figura 2.3 Función de ensanchamiento de pulso.</i>	8
<i>Figura 2.4 Trayectorias de fotones en un medio esparcidor.</i>	11
<i>Figura 2.5 Efecto de la apertura numérica</i>	13
<i>Figura 2.6 Partes del ojo humano.</i>	14
<i>Figura 2.7 Capas de la córnea</i>	17
<i>Figura 2.8 Patrón de difracción de fresnel de un balín metálico.</i>	20
<i>Figura 2.9 Principio de Huygens.</i>	21
<i>Figura 2.10 Rejilla de difracción.</i>	22
<i>Figura 2.11 Perfil de una rejilla ráfaga.</i>	24
<i>Figura 2.12 R= onda resultante, P= onda polarización P, S = onda polarización S (ortogonal a P).</i>	26
<i>Figura 2.13 Onda con polarización circular derecha.</i>	27
<i>Figura 2.14 Polarizador lineal.</i>	28
<i>Figura 2.15 Estructuras cristalinas simétricas (isótropos).</i>	29
<i>Figura 2.16 Comportamiento de la luz en un medio anisotrópico.</i>	31
<i>Figura 2.17 Prisma de Nikol.</i>	32
<i>Figura 2.18 Retardador de onda.</i>	33
<i>Figura 2.19 Retardador $\lambda/2$.</i>	35
<i>Figura 2.20 Retardador $\lambda/4$.</i>	36
<i>Figura 2.21 Fibra de cristal fotónico</i>	38
<i>Figura 2.22 Arreglo tipo Michelson.</i>	39
<i>Figura 2.23 A-scan y B-Scan.</i>	40
<i>Figura 2.24 Reflectómetro de LCI</i>	42
<i>Figura 2.25 Interferómetro de dos haces.</i>	43
<i>Figura 2.26 Interferómetro espectral básico</i>	45
<i>Figura 2.27 PS-OCT descrito por Hee et al.</i>	48
<i>Figura 3.1 Esquemático del arreglo OCT</i>	51
<i>Figura 3.2 Muestras. Lado izquierdo polímeros, lado derecho cubreobjetos.</i>	52
<i>Figura 3.3 Pruebas.</i>	53
<i>Figura 3.4 Imagen tomográfica del portaobjetos.</i>	54
<i>Figura 3.5 Imagen tomográfica del polímero dopado con cobre</i>	54
<i>Figura 3.6 Posición brazo objeto.</i>	55
<i>Figura 3.7 Diagrama esquemático del arreglo PS-SOCT</i>	56
<i>Figura 3.8 Imágenes de intensidad para los sensores C_1 y C_2</i>	57
<i>Figura 3.9 Sistema de presión.</i>	58
<i>Figura 3.10 Diagramas de fase del portaobjetos.</i>	60
<i>Figura 3.11 Estructuras del polímero dopado con cobre para los sensores a) C_1 y b) C_2.</i>	61
<i>Figura 3.12 Primera prueba córnea.</i>	63
<i>Figura 3.13 Imágenes tomográficas de la córnea.</i>	63
<i>Figura 3.14 Imágenes tomográficas de la córnea para cada estado de polarización.</i>	64

Figura 4.1 Patrón de interferencia de un cubreobjetos de .13 mm de espesor.	67
Figura 4.2 B-Scan cubreobjetos.	68
Figura 4.3 Deformación del cubreobjetos.	68
Figura 4.4 Prueba estabilidad sistema.	69
Figura 4.5 Intensidad C_2 Cubreobjetos.	70
Figura 4.6 B-scan cubreobjetos PS-SOCT1	71
Figura 4.7 Fase por deformación cubreobjetos PS-SOCT1.	72
Figura 4.8 Diagrama de fase por polarización para el cubreobjetos.	72
Figura 4.9. Polímero de cobre (Cu).	73
Figura 4.10. Polímero de níquel (Ni).	74
Figura 4.11 Mapas de birrefringencia para los arreglos B)PS-SOCT y B) De Boer.	76
Figura 4.12 Resultados Prueba IOP 1kPa a 4kPa.	77
Figura 4.13 Imagen de fase por polarización de la prueba IOP 1kPa a 4kPa.	78
Figura 4.14 Prueba de presión intraocular con cambio de presión de 2kPa a 2.5kPa.	79
Figura 4.15. Prueba IOP aplicada a la córnea	80
Figura 4.16 Fase por polarización de la cornea para la prueba IOP 3kPa a 6kPa.	81
Figura 4.17 Fase por deformación de la prueba de presión central aplicada a la córnea.	82
Figura A.0.1.Retirando el músculo.	93
Figura A.0.2. Cristalino.	94
Figura A.0.3 Corte para retirar el iris.	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1 índices de refracción de algunas partes del ojo.	14
Tabla 2-2 Estados de polarización.	26
Tabla 3-1 Datos componentes ópticas.	52
Tabla 3-2 Conversión de kPa a cm de agua.	59
Tabla 4-1 Espesores de las muestras.	65