

Estudio de arterias porcinas obstruidas utilizando tomografía de coherencia óptica espectral.

Tesis presentada por:

Ing. Juan Manuel Luna Hernández.

Para la obtención del grado de: Maestro en Optomecatrónica.

Asesor:

Dr. Manuel Humberto De la Torre Ibarra

NOVIEMBRE 2012

"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: La voluntad" -Albert Einstein

_

Agradecimientos

A mi asesor el Dr. Manuel H. De la Torre Ibarra su apoyo incondicional, por compartir sus experiencias y conocimientos, por guiarme en este proceso formativo, su paciencia y por su amistad sinceramente gracias.

Al Dr. Fernando Mendoza Santoyo, Dr. Daniel Malacara Hernández, Dr. Francisco Sánchez Marín, Dr. Rafael Luna, Dr. Ramón Carriles, Dra. Amalia Martínez, Dr. David Moreno y al M.C Gerardo, quienes hicieron una diferencia muy marcada durante mis estudios de maestría.

A mis padres, por incentivarme a superarme siempre por su apoyo incondicional pese a cualquier circunstancia siendo siempre ejemplos a seguir.

Eunice por estar siempre a mi lado no tengo palabras para agradecerte todo, a mis compañeros de generación Bernon, Monse, Esaú, Emmanuel y Ulises que juntos soportamos extensas jornadas de trabajo desvelos, alegrías y tristezas, también por saber siempre guiarme y demostrarme que es la amistad sincera.

A todos los que hicieron posible este trabajo de tesis:

- Dra. Debra Haber Borsuk, subdirectora de planeación en CONACYT.
- M.C. Dr. Juan Manuel Luna Gómez, Subdirector académico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Guerrero.
- Dr. Humberto Guerrero, Cardiólogo del Hospital Aranda de la Parra, León, Gto.
- M.V.Z Álvaro López Muñoz, Médico veterinario Director del Rastro Municipal de León Gto. Administración.
- Dra. María de Lourdes Sosa del Rio, Jefe del departamento de Transfusión Sanguínea de la Secretaria de Salud del Estado de Guerreo.
- Dra. Ma. Hilda Hernández Muñuzurí, Medico General del ISEM jurisdicción Atizapan C. Salud Lomas de Sn Miguel Estado de México.
- Dr. Eloy Esquivel, Director de las materias de cirugía experimental de la Facultad de Medicina, Universidad de Guanajuato, Director de Residentes en el Hospital regional de León.
- Dr. Jesús Hernández Muñuzurí, Medico Cardiólogo, Hospital del Pacifico, Acapulco, Gro.
- Dr. Aniceto Leguizamo Dimas, Director de la C.A.A.P.S., Clínica Avanzada de Atención Primaria a la Salud, Secretaria de Salud del Estado de Guerreo.
- Dra. Fabiola Hernández Muñuzurí, Cirujano Dentista del ISEM jurisdicción Atizapan C. Salud Lomas de Sn Miguel Estado de México.
- Dr. Francisco Sánchez Nava, Jefe Representantes médicos de la Secretaria de Salud del Estado de Guerreo, C.A.A.P.S. Clínica Avanzada de Atención Primaria a la Salud.
- Dra. Ma. Montserrat Luna Hernández, Medico general del Hospital Militar de Acapulco de Juarez, Gro.

Resumen.

El campo de diagnostico medico tiene como objetivo mediante imágenes dar al médico las herramientas necesarias para tener un diagnóstico confiable creando así la rama de la medicina conocida como imagenología, la cual obtiene su nombre gracias a que utiliza la tecnología imagenológica para diagnosticar y tratar una enfermedad.

El objetivo de éste trabajo de tesis es la obtención de imágenes tomográficas de tejido arterial para el estudio de arterosclerosis con un sistema de Tomografía de Coherencia Óptica (OCT por sus siglas en inglés), con la finalidad de presentar una ayuda para el diagnostico de esta.

Este trabajo de tesis esta justificado por el gran aumento de las enfermedades cardiovasculares a nivel mundial, las cuales son la principal causa de muerte en México -Marzo del 2012- debido a que son asintomáticas y se detecta su padecimiento muy tarde.

El sistema desarrollado se utiliza para estudiar la presencia o la ausencia de colesterol en las arterias ayudando a determinar el grado de obstrucción arterial. Este sistema utiliza una configuración de disparo único para reconstruir la vista tomográfica de la sección de la arteria muestra con una sola imagen.

Para probar el sistema tomográfico se utilizan arterias porcinas debido a la similitud que guardan el sistema circulatorio humano y éste. El estudio requirió preparar muestras que presentaran cuadros de aterosclerosis en distintos grados a fin de hacer una comparación.

De los resultados obtenidos se demuestra que es posible tener un sistema OCT de bajo costo que por medio de procesamiento de imágenes y doble sensor, puede detectar en tiempo real colesterol en arterias con una resolución comparable a un sistema comercial.

Índice

1.	Introducción.	1
2.	Óptica.	
	2.1. Conceptos Básicos	3
	2.1.1. Reflexión y refracción.	3
	2.2. Difracción	4
	2.3. Rejillas de Difracción	7
	2.4. Interferometría.	9
	2.5. Lentes Cilíndricas.	11
	2.6. Tomografía de coherencia óptica.	12
	2.6.1. Spectral Optical coherence tomography (SOCT).	15
	2.6.2. Comparación de CCD y CMOS para un sistema de dos cámaras de bajo costo.	17
	2.7. Procesamiento digital de imágenes (PDI).	18
	2.7.1. Filtrado de imágenes.	20
	2.7.2. <i>Tipos de filtros.</i>	20
	2.7.3. Ventanas	21
	2.7.3.1. Rectangular	21
	2.7.3.2. Hann	22
	2.7.3.3. Hamming	22
	2.8. Formación d imagen en sensores CCD y CMOS.	23
	2.8.1. Signal to noise ratio (SNR)	24
3.	Introducción al sistema circulatorio.	24
	3.1. Sistema circulatorio humano.	24
	3.1.1. <i>El corazón.</i>	25
	3.1.2. Arterias, venas y capilares	27
	3.1.2.1. Arterias.	28
	3.1.2.2. Venas.	29
	3.1.2.3. Capilares	31
	3.1.3. Sangre.	31
	3.1.3.1. Flujo sanguíneo.	32

	3.1.3.2. Retorno Venosos	33
	3.2. Parámetros de consideración medica.	34
	3.2.1.Radiología del Corazón	36
	3.2.2. Ecocardiografía	36
	3.2.3.Angiografía	37
	3.2.4. Ecocardiografía Intravascular o Ultrasonido Intravascular	38
	3.2.5.Tomografía Computada	38
	3.3. Comparación entre el sistema circulatorio humano y el porcino.	39
	3.4. Arterosclerosis	40
	3.4.1.Colesterol	42
	3.4.2. Propiedades Ópticas del Colesterol	45
4.	Arreglo experimental y resultados.	47
	4.1. Sistema SOCT con un sensor.	47
	4.2. Sistema SOCT con dos sensores.	52
	4.3. Resultados preliminares: Mejoramiento de imágenes tomográficas	55
	4.3.1. Escala de color para imágenes tomográficas.	59
	4.3.2. Comparación con un sensor vs. dos sensores.	60
	4.4. Resultados finales.	61
5.	Conclusiones.	
	5.1. Discusión y conclusiones generales.	72
	5.2. <i>Trabajo a futuro.</i>	73
6.	Referencias.	
An	exo A: Preparación de la muestra.	A1
An	exo B: Glosario	B1
An	exo C: Interacción de la luz con el Tejido	C1

INDICE DE FIGURAS

2. Óptica.

Figura 2.1.	Distribución del espectro electromagnético.	3
Figura 2.2.	Imágenes donde se observa un (a) haz de luz.	4
Figura 2.3.	Variación de la velocidad de la luz dependiendo del medio.	5
Figura 2.4.	Ejemplificación del fenómeno de difracción.	5
Figura 2.5.	Difracción de la luz blanca.	5
Figura 2.6.	Patrones de difracción generados.	6
Figura 2.7.	Existe una onda propagándose.	6
Figura 2.8.	Esquemático de una rejilla de difracción.	7
Figura 2.9.	Los órdenes de difracción.	7
Figura 2.10.	Esquemático de un haz incidiendo en una rejilla.	8
Figura 2.11.	Perfil de una rejilla ráfaga donde γ es el ángulo ráfaga.	9
Figura 2.12.	Ancho de banda ($\Delta\lambda$) de una fuente de luz.	10
Figura 2.13.	Muestra de (a) dos trenes de onda, los cuales interfieren entre sí.	11
Figura 2.14.	Esquema (a) de un interferómetro de Michelson.	11
Figura 2.15.	En la imagen (a) se presenta una lente cilíndrica.	12
Figura 2.16.	Las imágenes y/o datos obtenidos de un escaneo con OCT	13
Figura 2.17.	Esquemático del ancho espectral de una fuente SLD.	13
Figura 2.18.	Interferómetro de Michelson.	14
Figura 2.19.	Representación del efecto del tamaño de la apertura.	15
Figura 2.20.	Esquemático de un sistema SOCT sencillo.	16
Figura 2.21.	Imagen ejemplificativa de la interacción de la luz en el tejido.	16
Figura 2.22.	Proceso de filtrado de frecuencia de una imagen.	20
Figura 2.23.	Esquemático de una señal y una ventana.	21
Figura 2.24.	Señal original (azul) y señal filtrada (rojo) por una máscara rectangular.	21
Figura 2.25.	Señal original (azul) y señal filtrada (rojo) por una máscara Hann.	22
Figura 2.26.	Señal original (azul) y señal filtrada (rojo) por una máscara Hamming.	23
Figura 2.27.	Tamaño ejemplificativo de un sensor CCD.	23

3. Introducción al sistema circulatorio.

Figura 3.1	Sistema circulatorio humano con las principales arterias y el corazón.	26
Figura 3.2	llustración esquemática del sistema circulatorio del cuerpo humano.	26
Figura 3.3	Imagen donde se muestran los diferentes tipos de musculo.	27
Figura 3.4	Vista del corazón y como se comporta el flujo de sangre dentro de este.	28
Figura 3.5	La arteria consta de tres capas fundamentales	29
Figura 3.6	Estructura general de las arterias sus paredes son gruesas y expandibles.	30
Figura 3.7	Las venas llevan sangre de los tejidos al corazón.	31
Figura 3.8	Imagen donde se observa el retorno de la sangre.	31
Figura 3.9	Elementos que componen la sangre.	32
Figura 3.10	Composición química de la sangre.	33
Figura 3.11	Tipos de flujo que se presentan en la sangre	34

Ξ

Figura 3.12	Esquema de circulación del retorno.	35
Figura 3.13	llustración del sistema Diastólico (a) y Sistólico (b).	36
Figura 3.14	Radiografías utilizadas para el estudio del corazón y su diagnostico.	37
Figura 3.15	Imágenes obtenidas de ultrasonido utilizadas para el estudio y diagnostico.	38
Figura 3.16	Imágenes de angiografías de diferentes tejidos.	38
Figura 3.17	Imágenes en alta resolución de diversos ultrasonidos.	39
Figura 3.18	Imágenes obtenidas por tomografía computada.	39
Figura 3.19	Sistema circulatorio porcino con las principales arterias y el corazón.	40
Figura 3.20	Comparación del corazón humano con el de un espécimen porcino.	40
Figura 3.21	Descripción de la ateroesclerosis arterial.	42
Figura 3.22	El colesterol es una substancia grasa de consistencia similar a la cera.	43
Figura 3.23	Imagen demostrativa de una lipoproteína y su estructura.	44
Figura 3.24	Imagen de diversas campañas hechas en México	45
Figura 3.25	Representación esquemática de la estructura helicoidal	47

4. Arreglo experimental y resultados.

Figura 4.1	Esquema del arreglo óptico SOCT utilizado.	48
Figura 4.2	Interacción del haz del SLD con las dos superficies del cubre objetos. 49	
Figura 4.3	Esquemático de un haz es difractado.	50
Figura 4.4	Imagen donde se observa como el haz del SLD llega al sensor.	50
Figura 4.5	Patrones de interferencia.	51
Figura 4.6	Patrón de interferencia del haz objeto y el haz referencia	51
Figura 4.7	Imagen tomográfica del cubre objetos.	52
Figura 4.8	Diferentes tejidos (a-e) analizados en el sistema de origen porcino.	52
Figura 4.9	Interferencia generada por el haz de referencia y el haz reflejado	53
Figura 4.10	Imagen tomográfica de la arteria obtenida con el sistema diseñado.	53
Figura 4.11	Señal la cual es captada por el sensor.	54
Figura 4.12	Imagen de los sensores usados ambos sensores.	54
Figura 4.13	Esquema del arreglo SOCT con dos sensores y la muestra de tejido arterial.	55
Figura 4.14	Ejemplos de los diferentes casos en como el sensor registra el haz del SLD.	55
Figura 4.15	Patrón de interferencia de tejido orgánico, calibrado manualmente.	56
Figura 4.16	Imagen obtenida con resolución aumentada gracias a los dos sensores.	56
Figura 4.17	Muestras utilizadas (a) en forma cilíndrica y (b) arteria abierta para escaneo.	57
Figura 4.18	Imagen con (a) un haz con mayor intensidad.	57
Figura 4.19	Imagen de espectro completo con algoritmo de igualación de intensidades.	58
Figura 4.20	Imagen del espectro obtenido del sistema SOCT con dos cámaras.	58
Figura 4.21	Imagen obtenida del sistema de las dos cámaras.	59
Figura 4.22	Filtro Hann y Hamming.	59
Figura 4.23	Imagen tomográfica de una arteria con el sistema SOCT de 2 sensores	60
Figura 4.24	Imagen tomográfica con algoritmos de estratificación y espaciales.	60
Figura 4.25	Diagrama de flujo del algoritmo diseñado para el mejoramiento de imágenes.	61
Figura 4.26	Diferentes imágenes del mismo segmento de arteria.	62
Figura 4.27	Imagen tomográfica obtenida con una cámara y PDI.	62
Figura 4.28	Imagen tomográfica obtenida de la -Figura 4.15- con el algoritmo PDI aplicado.	63
Figura 4.29	Comparación de imágenes obtenidas con(a) un sensor sin PDI.	63
Figura 4.30	Inserción de colesterol dentro de las paredes de la arteria.	64
Figura 4.31	Diferentes muestras de arteria pulmonar analizadas.	64

-

Figura 4.32	Señal tomográfica de un tejido hidratado y de un tejido deshidratado.	65
Figura 4.33	Imagen tomográfica de tejido arterial sano.	65
Figura 4.34	Imagen tomográfica de tejido arterial sano escaneado en la trayectoria 2.	66
Figura 4.35	Imagen tomográfica de tejido arterial sano escaneado en la trayectoria 3.	66
Figura 4.36	Imagen tomográfica de la arteria con colesterol.	67
Figura 4.37	Absceso de colesterol registrado por el sistema en la trayectoria 2.	67
Figura 4.38	Imagen tomográfica de la arteria con el absceso encontrado.	68
Figura 4.39	Imagen tomográfica del lado impermeable de la arteria en la trayectoria 4.	68
Figura 4.40	Imagen donde se puede observar el inicio del segmento arterial.	69
Figura 4.41	Reconstrucción tomográfica donde se observan varias secciones.	69
Figura 4.42	Segmento de arteria con colesterol emulado usada para el escaneo continúo.	70
Figura 4.43	Imagen de la arteria en un instante.	70
Figura 4.44	Imagen de la arteria en un instante posterior al mostrado	71
Figura 4.45	Imagen obtenida de un segmento del escaneo continúo aproximadamente.	71
Figura 4.46	Imagen obtenida del escaneo continúo realizado a la arteria.	72
Figura 4.47	Imagen tomográfica de la arteria en trayecto completo de 8 mm.	72

Anexo A: Preparación de la muestra.

Figura A.1	En esta imagen se muestra el corazón obtenido.		
Figura A.2	Diferentes muestras de las diversas substancias.		
Figura A.3	La imagen (a) muestra el corazón obtenido y su ubicación.	A3	
Figura A.4	Diversas imágenes del corazón utilizado para la extracción de la muestra.	A3	
Figura A.5	Imagen donde se muestra la ubicación de las arterias a extraer.	A4	
Figura A.6	Tres vistas del proceso de ubicación.	A4	
Figura A.7	Diferencia de tejidos.	A5	
Figura A.8	En esta imagen se puede observar la ubicación de una vena.	A5	
Figura A.9	En estas imágenes se observa cómo se realizo el corte para liberar tejido.	A6	
Figura A.10 Retracción del tejido para permitir poco a poco la liberación de la arteria.		A6	
Figura A.11	Imagen donde (a) se observan las dimensiones de la arteria.	A7	
Figura A.12	Vista de la arteria (a) hasta su raíz, (x) arteria extraída desde raíz.	A7	
Figura A.13	Arterias limpias las cuales se revisaron visualmente.	A7	
Figura A.14	Diversos tejidos extraídos y observados mediante el sistema SOCT	A8	
Figura A.15	Imagen del (a) Proceso de inspección de la arteria, (b) arteria sin colesterol.	A8	
Figura A.16	Imagen en la que se observa la (a) solución en la cual se mantenía el tejido.	A9	
Figura A.17	Imagen donde se puede observar cómo (a) se infiltraba la emulsión.	A9	
Figura A.18 Muestras con diversas concentraciones de emulsión de colesterol.		A10	
Figura A.19 Diversos esquemas de sujeción de muestra.		A10	

Anexo C: Interacción de la luz con el tejido.

Figura C.1	Imagen descriptiva de las ondas electromagnéticas.	C1
Figura C.2	Coeficiente de absorción como función de la longitud de onda.	C2
Figura C.3	Grafica tomada de Tuan Vo-Dinh, "Biomedical Photonics Handbook".	C2
Figura C.4	Grafica donde se muestra el índice de atenuación del espectro de absorción.	C3

Ξ

INDICE DE TABLAS

TABLA 2.1	COMPARACIÓN DE LAS TECNOLOGÍAS DE ADQUISICIÓN.	18
TABLA 2.2	TIPOS DE PDI Y EJEMPLOS DE LAS DIVERSAS OPERACIONES.	18
TABLA 3.1	COMPARACIÓN DE DIVERSAS ESPECIES DE ANIMALES.	36
TABLA 3.2	ADAPTADO DE LA PUBLICACIÓN NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION	41
TABLA A.1	COMPARACIÓN DE LAS DIFERENTES MEZCLAS PARA CONSERVACIÓN	A1

Capitulo 1.-

Introducción

1.- Introducción.

Actualmente hay un gran interés en dispositivos y técnicas que permitan obtener información útil para diagnóstico médico de forma mínimamente invasiva. Esto debido al gran aumento de los padecimientos actuales y el tiempo que requiere hacer un diagnóstico acertado. Un ejemplo de lo anterior son las enfermedades cardiovasculares, que hoy en día son la principal causa de muerte a nivel mundial. En el entorno nacional, en 2011 eran la segunda causa de muerte en México, pasando al primer lugar en Marzo del 2012.

Varios esfuerzos se han realizado en este campo, a fin de dar al médico las herramientas necesarias para tener un diagnóstico confiable. El enfoque ha sido tanto en el diagnóstico preventivo como en el de intervención, creando así la rama de la medicina conocida como imagenología.

La imagenología, antes conocida como radiología, obtiene su nombre gracias a que utiliza la tecnología imagenológica para diagnosticar y tratar una enfermedad, esta abarca la radiología, las ciencias radiológicas, la endoscopia, la termografía médica, la fotografía médica, la tomografía y la microscopía. Todas las anteriores pueden ser en forma invasiva o no invasiva.

En las técnicas no invasivas se encuentra el ultra sonido, el cual obtiene información de los tejidos internos sin necesidad de cortes o introducción de sondas. Esta técnica presenta una resolución promedio de 150 micrones, que no es una resolución alta comparada con la obtenida de otras técnicas de imagenología médica. Sin embargo es una de las más extendidas en su uso actualmente.

Una técnica no invasiva de reciente introducción en este campo, es la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT por sus siglas en inglés), la cual puede generar vistas internas del tejido. OCT puede ser utilizada para guiar diversas intervenciones quirúrgicas. También permite obtener imágenes de diagnóstico en tiempo real en 2D (imagen de una rebanada interna del tejido) y 3D (volumen dentro del tejido). La resolución de ésta técnica es en promedio de 10 micrones y tiene una penetración dentro del tejido de entre 1 a 3 milímetros. Una ventaja de utilizar OCT, es que funciona en el infrarrojo cercano y no produce daño en el tejido analizado. A lo anterior se le denomina "Biopsia Óptica".

Originalmente esta técnica fue empleada en Oftalmología, debido a su implementación relativamente sencilla, recientemente se ha aplicado exitosamente en áreas de cardiología, biología, odontología, oncología, etc. El desarrollo de sistemas OCT para cardiología, ha sido constante y con resultados que los han llevado a aplicaciones clínicas en donde se complementan

con ultrasonido. Estas imágenes sirven de ayuda para el diagnostico médico y por su resolución son útiles en la prevención de enfermedades. Lo anterior es de especial interés ya que muchas de las enfermedades cardiovasculares son asintomáticas, haciendo difícil tratarlas a tiempo.

El objetivo de éste trabajo de tesis es la obtención de imágenes tomografícas de tejido arterial para el estudio de arterosclerosis. Debido a que un equipo comercial de OCT para este fin es sumamente costoso, se propone un sistema de bajo costo que incluye algoritmos de mejoramiento de imágenes. Además se incrementa la resolución del sistema propuesto con el uso de dos cámaras CMOS.

Para probar el sistema tomográfico se utilizan arterias porcinas debido a la similitud que guardan el sistema circulatorio humano y éste. Lo anterior queda patente en el hecho de que actualmente se realizan xenotransplantes. El estudio requirió preparar muestras que presentaran cuadros de aterosclerosis en distintos grados a fin de hacer una comparación.

De los resultados obtenidos se demuestra que es posible tener un sistema OCT de bajo costo que por medio de procesamiento de imágenes y doble sensor, puede detectar en tiempo real colesterol en arterias con una resolución comparable a un sistema comercial.

En el capítulo 2 se describen los conceptos de la teoría básica y el funcionamiento de un sistema OCT. Posteriormente, en el capítulo 3, se da una descripción anatómica y fisiológica del tejido arterial y una descripción de la generación del colesterol. En el capítulo 4 se explica el procedimiento experimental para la obtención de imágenes tomografías describiendo cada parte. Finalmente, el capítulo 5 presenta las conclusiones del trabajo y el trabajo a futuro que se desprende de la presente investigación y aplicación tecnológica.

Capitulo 2.-

Óptica

2.- Óptica

2.1.- Conceptos Básicos.

La naturaleza de la luz es compleja y ha sido debatida por años, poniendo en conflicto evidencia experimental que sugiere que es una partícula o una onda. Para evitar este debate [1] y para uso práctico se dejará establecido que la luz se comporta como ambas.

Siendo el término luz generalmente usado para referirse a una onda electromagnética que tiene frecuencias en el espectro electromagnético como se observa en la *-Figura 2.1-*. Esta es una distribución energética del conjunto de todas las ondas electromagnéticas, extendiéndose desde la radiación de menor longitud de onda hasta la radiación de mayor longitud de onda, como los rayos gamma y los rayos X, pasando por la luz ultravioleta, la luz visible y el infrarrojo.



Figura 2.1. Distribución del espectro electromagnético en donde se destaca la ventana de visión humana, siendo el ojo humano un sensor que tiene más sensibilidad en cierta región del visible (por lo general entre la luz verde y la amarilla a una longitud de onda de 550nm).

Los distintos espectros se pueden observar mediante espectroscopios que permiten realizar medidas sobre estos, como su longitud de onda, su frecuencia y su intensidad de radiación.

Para el estudio de tejidos orgánicos se utilizan diversas longitudes de onda, -este trabajo se enfoca en la región del infrarrojo- tomando como parámetros, la absorción de la luz generada por el agua contenida en el tejido, la luz esparcida y la luz reflejada.

2.1.1.- Reflexión y refracción.

La reflexión es el cambio de dirección de un rayo de luz o una onda que ocurre en la superficie de separación entre dos medios, de tal forma que regresa al medio inicial. Este fenómeno óptico está presente en nuestra vida desde la primera vez que se observa algo en un espejo. Esta se puede dar de forma especular o difusa, dependiendo de la superficie del material con la cual interactúa una onda [2].

La reflexión especular es cuando una superficie de un material es ópticamente lisa y plana – ejemplo: el vidrio-, en este tipo de superficies los haces de luz incidentes reflejados crean un mismo ángulo con una normal a la superficie de reflexión, en la -*Figura 2.2 (a)*- se observa este fenómeno.

La reflexión difusa que se muestra en la - *Figura 2.2 (b)*- ocurre cuando un haz de luz incide en la superficie de un material rugoso -no ópticamente liso- como los tejidos biológicos.

En este tipo de reflexión cada rayo de luz que cae en una partícula de la superficie obedecerá la ley básica de la reflexión, por lo tanto como las partículas están orientadas de manera aleatoria, las reflexiones se distribuirán de manera aleatoria también.



Figura 2.2. Imagen donde se observa (a) un haz de luz incide con un ángulo de incidencia θ_i en una superficie lisa, el cual rebota en la superficie con un ángulo de reflexión θ_r , en (b) se observa un haz de luz el cual incide en una superficie rugosa, esparciéndose en varias direcciones al azar.

La ley de reflexión y la refracción, dice que el rayo incidente, el rayo reflejado y el rayo refractado residen en el mismo plano y el ángulo del rayo reflejado, será igual al ángulo del rayo incidente.

Por lo tanto al incidir un haz de luz en una superficie, parte de este se transmitirá y otra parte se reflejará como se ve en las *-Figuras 2.2 y 2.3-*. Esto rigiéndose por la ley de Snell, que relaciona los índices de refracción de dos medios, el ángulo de incidencia y el ángulo refractado.

$$n_i \sin \theta_i = n_t \sin \theta_t$$
 Ec.2.1
 $n = \frac{c}{n}$ Ec.2.2

La *Ecuación 2.1* es la ley de Snell, siendo θ_i el ángulo con el cual incide el haz de luz en el medio y θ_t el ángulo con el cual se transmite dentro de este, n_i y n_t son los índices de refracción del medio en el cual incide el haz y del medio en el cual es reflejado. La velocidad con la cual la luz viaja dentro de un medio físico, queda determinada por la velocidad de fase (v) y la velocidad de la luz (c) en el vacio como se dicta en la *-Ecuación 2.2-*.

En el vacio la velocidad de la luz es aproximadamente $3x10^8 \frac{m}{s}$, mientras que en el agua y en otro tipo de medios la velocidad de la luz disminuye de acuerdo al índice de refracción, que se muestra gráficamente y se puede observar en la *-Figura 2.3-*.



Figura 2.3. Variación de la velocidad de la luz dependiendo del medio, entre más delgada sea la flecha la luz viaja más rápido, alcanzando en el vacio una velocidad aproximada de $3 \times 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}$.

2.2.- Difracción

"El efecto diffractio es una característica general de los fenómenos ondulatorios que ocurren donde quiera que una parte de un frente de onda ya sea sonido, onda material o luz, este obstruida de alguna manera", en otras palabras si al encontrar un obstáculo transparente u opaco se altera la amplitud o la fase de una región de frente de onda, esto producirá difracción [3], pudiéndose observar en la -Figura 2.4- donde dependiendo del tamaño de la apertura se presentara el fenómeno de difracción





A la difracción de la luz blanca *-Figura 2.5-* se le conoce comúnmente como arcoíris, pudiendo reproducir este efecto con un CD y una linterna.



Figura 2.5. Difracción de la luz blanca, (a) con un CD y (b) con una linterna.

Los segmentos del frente de onda que se propagan más allá del obstáculo interfieren, produciendo una distribución de la energía en formas particulares denominadas figura de difracción como las presentadas en la *-Figura 2.6-*.



Figura 2.6. Patrones de difracción generados por una (a) apertura cuadrada, (b) una apertura circular y (c) una línea.

Las figuras de difracción se generan como lo indica el principio de Huygens-Fresnel [4]:

"Cada punto sin obstrucción de un frente de onda, en un instante de tiempo determinado sirve como fuente de trenes de onda secundarios -Figura 2.7-, de la misma frecuencia que la onda primaria. La amplitud del campo óptico en cualquier punto más allá es la superposición de todos estos trenes de onda.".





El efecto de difracción se clasifica en dos tipos: Fresnel y Fraunhofer [5]. El primero es referente a lo que sucede con la luz en campo cercano, este campo cercano se define cuando la fuente de luz está muy cercana a la apertura de difracción. Para la difracción de Fraunhofer se refiere a la luz esparcida por una apertura iluminada por una fuente coherente en campo lejano.

2.3.- Rejillas de Difracción.

Una rejilla de difracción es una superficie con surcos o barras regularmente espaciadas como se observa en la *-Figura 2.8-*, estos espacios determinan la frecuencia de la rejilla la cual se mide en líneas por milímetro, siendo este un factor determinante en la eficiencia de la rejilla y la dispersión que esta produce [6].



Figura 2.8. Esquemático de una rejilla de difracción, formada por barras espaciadas en el orden de varias líneas/mm.

Las rejillas de difracción funcionan difractando un haz de luz que incide en su superficie *-Figura 2.9-*, siendo dividido en varios órdenes -trenes de ondas - de difracción con diferentes direcciones, pero con el mismo sentido.

Si a la rejilla de la *-Figura 2.9-* le incide un haz en su superficie, el resultado se podrá observar en una pantalla situada perpendicularmente a una distancia *A*, en esta aparece un conjunto de máximos de intensidad sucesivamente decreciente agrupados a ciertas distancias a ambos lados de un máximo principal.

Este máximo principal corresponde al camino original del haz luminoso incidente, denominado en la - *Figura 2.9*- como orden 0, los dos máximos inmediatos a ambos lados del principal se denominan de primer orden; los dos que les siguen son los máximos de segundo orden, y así sucesivamente [7].



Figura 2.9. Los órdenes de difracción se dan cuando un haz de luz incide en la rejilla y cada abertura actuará como una nueva fuente, esta luz es transmitida o reflejada dependiendo del tipo de rejilla.

En la rejilla se debe tener que la diferencia de fase sea múltiplo de λ , satisfaciendo la siguiente condición.

$$d(\sin\theta_m) = m\lambda$$
 Ec.2.3

Donde d será el espaciamiento de la rejilla y m el orden de difracción, si la rejilla recibe un haz de luz que viene con un ángulo como se muestra en la -*Figura 2.10*-, se tendrá la siguiente relación.



Figura 2.10. Esquemático de un haz incidiendo en una rejilla con un ángulo θ_i respecto a la normal de la superficie, la rejilla difracta el haz en diferentes órdenes de difracción cada orden con un ángulo θ_m respecto del orden que lo sucede.

Esto está directamente relacionado con el rango espectral libre (FSR por sus siglas en Inglés), el cual es el ancho de banda máximo que puede obtener un orden sin que se presente un traslape con otro orden, dependiendo del la cantidad de líneas que tiene la rejilla ya que al decrecer el número de líneas él FSR aumenta.

Para determinar el FSR es necesario conocer el rango de la fuente de luz, lo cual será determinado por λ_1 y λ_2 respectivamente, siendo *m* el orden de difracción de la rejilla.

$$FSR = \lambda_2 - \lambda_1 = \frac{\lambda_1}{m}$$
 Ec.2.5

Las rejillas están elaboradas para trabajar de manera más eficiente en cierta longitud de onda, dependiendo del material del cual está hecha la rejilla y el sustrato utilizado para generar la reflexión y/o transmisión.

Como se ha visto, las rejillas de difracción separan la intensidad en diversos órdenes de difracción. Obteniendo menor intensidad conforme el orden de difracción aumenta. Para resolver este problema, se crearon las rejillas ráfaga (Blazed gratings en inglés), las cuales concentran la intensidad del haz en un cierto orden.

Las rejillas Blazed tienen un perfil triangular como se observa en la – *Figura 2.11*- con un ángulo γ conocido como ángulo ráfaga (blazed angle en inglés). Los perfiles de las ondas de la rejilla ráfaga son calculados de tal forma que el ángulo incidente y el difractado están auto colimados. La ecuación 2.6 muestra la relación que existe entre el ángulo ráfaga y el orden de difracción, numero de líneas por mm y la longitud de onda para la cual está fabricada la rejilla.

$$2 \operatorname{sen} \gamma = k \alpha \lambda_b 10^{-6}$$
 Ec. 2.6

Donde γ es el angulo rafaga, k el orden de difracción y d el número de líneas por milímetro y λ_b la longitud de onda de especificación.



Figura 2.11. Perfil de una rejilla ráfaga donde γ es el ángulo ráfaga.

Existen dos tipos de rejillas: las de transmisión y las de reflexión.

En el caso de rejillas de transmisión, la luz incidente pasa a través de la misma; los haces incidentes y difractados aparecen en lados opuestos de la rejilla.

En las rejillas de reflexión, los haces mencionados se encuentran en el mismo lado y el substrato es reflejante.

Los puntos importantes que se consideran en las rejillas son

- Revisión del orden cero.
- Rango espectral libre
- Frecuencia de la rejilla

- Dispersión de la rejilla
- Longitud de onda para la cual se diseño.

2.4.- Interferometría.

La Interferometría es el procedimiento por el cual se hacen interferir dos ondas o señales y se registra ó se toman medidas sobre el patrón de interferencia que se produce.

Para esto es necesario conocer el termino de coherencia, el cual es definido entendiendo de antemano que las fuentes de luz monocromática no existen, sino que son cuasi-monocromáticas ya que poseen un ancho de banda mostrado en la *-Figura 2.12-*, es decir un principio (λ_{min}) y un fin (λ_{max}) , recordando también que la luz viaja en pequeños paquetes de ondas los cuales se denominan trenes de onda, estos poseen fases aleatorias, debido a la fluctuación de la frecuencia y de la amplitud, también poseen cierta longitud, la cual se conoce como longitud de coherencia.

Estos trenes de onda vienen de una misma fuente, estos son divididos y se vuelven a juntar generando interferencia debida a la diferencia de caminos ópticos, medios que atravesaron y la fase existente entre ellos [8].

La interferencia se puede clasificar en dos extremos: destructiva y constructiva, se dice que es destructiva cuando las ondas se anulan unas con las otras y constructiva cuando obtenemos una intensidad máxima.



Figura 2.12. Ancho de banda (λ) de una fuente de luz, que consta de un inicio del ancho de banda llamado λ_{min} , y un final llamado λ_{max}

Aplicando el principio de superposición a dos trenes de ondas (uno y dos) u_1 y u_2 .

$$u_2 = U_2 e^{i\phi_2} \qquad \qquad \text{Ec.2.8}$$

Se asume que el resultado será la suma de ambas ondas.

Pero lo que se registra en realidad es la intensidad la cual está dada por la Ec. 2.10

Sustituyendo y realizando el algebra se tiene que la intensidad es

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos \Delta \emptyset \qquad \qquad \text{Ec.2.11}$$

De la Ecuación 2.11 el tercer término de la ecuación es el término de interferencia, analizando el término $\Delta \phi$, se observan los términos de interferencia destructiva y constructiva.

$$\Delta \phi = \phi_1 - \phi_2 \qquad \qquad \text{Ec.2.12}$$

Si el termino $\Delta \emptyset$ esta dado por $(2n + 1)\pi$ cuando n= 0,1,2,3,4... ∞ , se obtiene que cos $\Delta \emptyset = -1$, indicando que el termino de interferencia será menor que cero por lo tanto no habrá interferencia para ese valor, debido a que ambas ondas se anulan siendo esto una interferencia destructiva.

Tomando el valor de $\Delta \emptyset$ cuando es $2n\pi$ para n= 0,1,2,3,4.. ∞ se tendrá que $\cos \Delta \emptyset = 1$ indicando que se tiene un máximo generando una interferencia constructiva.

En la *Figura* 2.13 se observan ilustrativamente los conceptos definidos de interferencia constructiva y destructiva.



Figura 2.13. Muestra de (a) dos trenes de onda, los cuales interfieren entre sí obteniendo una interferencia destructiva ya que las crestas del tren de ondas verde coincidan con los valles del tren de ondas rojo, obteniendo así un cero 1-1=0, en (b) los valles del tren de ondas verde coinciden con los valles del tren de ondas rojo al igual que sus crestas, obteniendo como resultado una interferencia constructiva.

La interferencia se puede dar dividiendo la amplitud de una onda o su frente, para ambos casos se obtienen patrones de franjas.

Los patrones de franjas indican la existencia de interferencia como se observa en la -Figura 2.14-, entre más delgadas las franjas se dice que la imagen es de alta frecuencia y entre más gruesas y separadas son de baja frecuencia.



Figura 2.14. Esquema (a) de un interferómetro de Michelson, (b) un patrón de interferencia de dos haces.

2.5.- Lentes Cilíndricas.

Se denomina lente a un cuerpo de material transparente, generalmente vidrio o plástico, con al menos una superficie no plana que se utiliza para cambiar la dirección de los rayos de luz, al pasar a través de él. Las lentes se clasifican por su forma geométrica o por la modificación que introducen en la dirección de los rayos de luz [9].

Las lentes cilíndricas poseen un eje curvo y otro recto para dar lugar a su radio de curvatura como se puede observar en la *-Figura 2.15-*. Este tipo de lentes generan una línea paralela al centro de su radio de curvatura, esto permite un control por separado de los ejes de la lente.

Sus usos y aplicaciones son variadas, desde corregir el astigmatismo hasta colimar la salida de un diodo laser permitiendo el enfoque lineal en lugar del puntual, a diferencia de las lentes esféricas que actúan simétricamente en dos dimensiones cuando un haz de luz incide sobre ellas. Una

aplicación de uso común se puede observar en los lectores de código de barras, en los cuales solo se ve una línea del lector laser.



Figura 2.15. En la imagen (a) se presenta una lente cilíndrica, y se puede observar como entra el haz de luz colimado en forma circular y sale enfocado en una línea, (b) la imagen muestra los diferentes enfoques que genera una lente cilíndrica en comparación de una esférica.

2.6.- Tomografía de coherencia óptica.

La tomografía de coherencia óptica (OCT por sus siglas en inglés), es una tecnología nueva desarrollada como una alternativa para la obtención de imágenes internas de tejido vivo, y que a encontrando su mayor aplicación en la medicina [10].

Las imágenes se obtienen realizando cortes ópticos transversales de la muestra obteniendo de esta manera imágenes tomográficas de la micro estructura interna del tejido analizado, las resoluciones de las imágenes pueden llegar a ser de 1µm hasta 5µm siendo dos veces mayor que las obtenidas con ultrasonido clásico [11].

Un sistema OCT está formado a grandes rasgos por una fuente de baja coherencia acoplada a un arreglo óptico y un sensor, siendo el conjunto de estos lo que permite la obtención de las imágenes tomográficas y define los parámetros de diseño. La información de la imagen se forma electrónicamente gracias al sensor permitiendo procesar, analizar, almacenar y recuperar la imagen como una señal electrónica.

Estas características hacen a OCT una técnica óptica poderosa para la obtención de imágenes, funcionando similar al ultrasonido, OCT permite obtener imágenes midiendo el tiempo de retardo y la magnitud de la señal reflejada por la muestra, usando luz a diferencia del ultrasonido que utiliza el sonido. Esto es posible gracias a la aplicación de los principios de interferencia de baja coherencia (LCI por sus siglas en inglés), permitiendo al sistema OCT obtener una resolución axial grande y una sensibilidad a la poca luz reflejada por la muestra.

Las muestras son iluminadas con luz infrarroja, esto se debe a que las longitudes de onda ubicadas del rojo en el visible al infrarrojo presentan una absorción en los tejidos orgánicos mínima, debido a la cantidad de agua contenida en ellos, generando una ventana óptica apta para el diagnóstico médico [12].

Las imágenes en OCT se obtienen mediante diversos escaneos de la muestra, dependiendo de la luz reflejada por el tejido analizado y la interacción de la luz en las diferentes capas que forman el tejido, estos escaneos se pueden agrupar en: A-Scan, B-Scan y C-Scan.

Un A-Scan contiene información de las dimensiones espaciales y ubicación de las estructuras de la muestra que se está analizando de un solo punto. Un B-Scan es la combinación de varios A-Scan generando una imagen transversal de la sección, un C-Scan permite la reconstrucción en 3-D de la muestra tomando un conjunto de B-Scans, en la *-Figura 2.16-* se muestran los diferentes ejemplos de escaneos que se pueden realizar con OCT.



Figura 2.16. Las imágenes y/o datos obtenidos de un escaneo con OCT son de 1, 2 y 3 dimensiones las cuales representan diferencias ópticas en su dispersión y en su retro reflexión en un plano perpendicular o en un cierto volumen de tejido o material muestra (a) A-Scan, (b) B-Scan, y (c) C-Scan.

Parte de esta versatilidad la determina la fuente que se utiliza para la obtención de las imágenes, la cual debe de ser de baja coherencia para generar una ventana óptica que permita recolectar la información provocada por el esparcimiento de la muestra. Actualmente existen diversos tipos de fuentes de baja coherencia [13], siendo una de las más utilizadas los diodos súper luminiscentes (SLD por sus siglas en inglés).

Estas poseen un ancho de banda lo bastante amplio para ser aplicadas en OCT, en la *-Figura 2.17-* se puede observar el ancho de banda de una fuente, el cual es también conocido como ancho espectral.



Figura 2.17. Esquemático del ancho espectral de una fuente SLD. (a) vista de la fuente SLD, (b) ancho espectral con λ_{\min} y λ_{\max} además se introduce λ_c como la longitud de onda central.

Para determinar el ancho espectral de un SLD ejemplificado en la *-Figura 2.17 (a)* – se debe de conocer la longitud de onda central (λ_c), la longitud de onda mínima (λ_{min}) y longitud de onda máxima (λ_{max}) que emite la fuente SLD y poder obtener el perfil del haz emitido como se muestra en *-Figura 2.17 (b)* –.

Estos parámetros indicarán cuanto del tejido se podrá reconstruir en la imagen tomográfica, esto debido a que cada longitud de onda será reflejada por una capa de tejido diferente permitiendo la reconstrucción tomográfica de las capas que forman la muestra, esto debido al esparcimiento de la luz dentro del tejido que se está analizando[14].

La profundidad promedio de un sistema OCT va de 1 mm a 3mm, dependiendo del arreglo óptico utilizado y el tipo de sensor, siendo ésta limitada por la longitud de onda en la cual trabaja la fuente y el esparcimiento provocado por el tejido, el esquema básico del arreglo óptico de un sistema OCT es por lo general un interferómetro de Michelson [15] mostrado en la -*Figura 2.18*-.



Figura 2.18. Interferómetro de Michelson.

Un sistema OCT posee dos resoluciones en contraste con la técnica de microscopia, una de ellas es el rango de penetración el cual está determinado por la fuente de iluminación y el sensor, como se muestra en la Ec. 2.13 [13].

$$\Delta z \cong \frac{1}{4} \left(\frac{N \lambda_c^2}{\Delta \lambda} \right)$$
 Ec. 2.13

Donde λ_c es la longitud de onda central producida por la fuente, $\Delta\lambda$ es el ancho de banda de la fuente y N el número de pixeles usados para registrar el espectro. Una aproximación de la resolución en el sentido de la iluminación o resolución axial del sistema OCT se obtiene de la ecuación 2.13 haciendo N=1.

La otra es la resolución lateral o perpendicular al haz de iluminación que es la misma que utiliza la microscopia óptica y está determinada por las propiedades de enfoque del sistema, el tamaño mínimo al cual se puede enfocar el haz siendo inversamente proporcional a la apertura numérica del ángulo de enfoque del haz.

$$\Delta L = \frac{4\lambda}{\pi} \left(\frac{f}{d} \right) = \frac{4\lambda}{\pi} (f\#)$$
 Ec. 2.14

Donde d es el diámetro del haz cuando la lente es mayor al área del haz y f es la distancia focal, una resolución transversal mayor se puede obtener usando una apertura numérica (NA por sus siglas en inglés) mayor y enfocando mejor el haz de la fuente, esta resolución está relacionada a la

profundidad de campo (DOF por sus siglas en inglés) el cual es dos veces el rango de Rayleigh como se puede ver en la Ec. 2.15.

$$DOF = 2z_R = \frac{\pi \Delta L^2}{2\lambda} = \frac{2\lambda}{\pi NA^2}$$
 Ec. 2.15

Al incrementar la resolución transversal se produce un decremento en la profundidad del sistema, siendo una relación similar a la que se presenta en la microscopia convencional.

Para incrementar la profundidad de campo o la penetración se debe tener en cuenta que este parámetro se refiere a la distancia a la cual se puede enfocar la muestra para obtener mejores imágenes, en la *-Figura 2.19*-se observa como la NA afecta este parámetro.

$$b = \frac{2\pi w_0}{\lambda_c} \qquad \text{Ec. 2.16}$$

De la Ec. 2.16 [13], *b* es el parámetro confocal el cual está regido por el ancho de cintura del haz w_0 y la longitud de onda central λ_c , indica como con una apertura numérica mayor se obtendrá una menor profundidad de campo, como resultado de la reducción del ancho de cintura del haz, dando en conjunto una mejor resolución lateral, si se analiza el caso contrario el resultado será un incremento en profundidad y un decremento en la resolución lateral.



Figura 2.19. Representación del efecto del tamaño de la apertura numérica a la resolución del sistema, variado el enfoque dentro del cono descrito en la imagen.

2.6.1.- Tomografía de Coherencia Óptica Espectral (SOCT).

Podemos dividir los sistemas OCT en dos tipos principalmente: "OCT Temporal" TD-OCT y "OCT Espectral" SOCT.

TD-OCT es el sistema que más ha predominado desde los inicios de OCT, debido a que fue el primero en implementarse, esta técnica permite un escaneo rápido del brazo de referencia del interferómetro, el cual es realizado por medio de sistemas mecánicos para obtener un A-Scan de la muestra. Permitiendo tener muy buena resolución axial, determinada por la fuente. Para realizar una imagen 2D con TD-OCT es necesario mover la muestra, lo cual no es muy viable para la obtención de imágenes en tiempo real.

En espectral OCT (SOCT) el principio de funcionamiento es LCI [16], utilizando una rejilla de difracción, el principio de interferencia dice: "Si la diferencia de caminos ópticos del interferómetro coincide con la diferencia de caminos ópticos entre los puntos que refleja la muestra, podremos observar interferencia", el arreglo básico de un sistema SOCT se muestra en la *-Figura 2.20-*.

La rejilla de difracción muestra un campo monocromático, grabando en el sensor un gran número de intensidades provenientes de las propiedades de absorción del objeto. Este tipo de sistemas dependen al 100% de la alineación en todos los ejes en los que se tienen dispositivos ópticos.



Figura 2.20. Esquemático de un sistema SOCT sencillo, con muestra de tejido biológico, como se puede observar la base es un interferómetro de Michelson. Para la obtención de la imagen solo se requiere un escaneo lateral de la muestra, para generar una imagen tomográfica.

La ventaja de este método es que en una sola toma podemos obtener la información tomográfica – con un B-Scan [17-22], eliminando las partes móviles que posee TD-OCT, dependiendo del ancho de banda de la fuente de luz para obtener una mayor penetración dentro del tejido, limitando la resolución del sensor con el cual se recolecta la intensidad de la luz reflejada por la muestra y la referencia *-Figura 2.21-*.



Figura 2.21. Imagen ejemplificativa de la interacción de la luz en el tejido donde se observa cómo penetran las diferentes longitudes de onda (λ) el tejido y se reflejan con información de la estructura.

Las imágenes son obtenidas espectralmente de las diversas capas internas del tejido dependiendo de la dispersión de éste y de la absorción de la luz.

2.6.2.- Comparación de CCD y CMOS para un sistema de dos cámaras de bajo costo.

El sistema de bajo costo es desarrollado utilizando dos sensores CMOS, para esto fue necesario un estudio del funcionamiento de diversos sistemas y arreglos lineales de sensores utilizados en los sistemas comerciales OCT, llegando al desarrollo de un sistema propio de manera que se aumente la resolución, sin afectar la profundidad.

Conociendo las diferencias entre ambos sensores [23,24], se obtiene que los sensores CMOS tienden a ser más económicos que los CCD de acuerdo a cada una de las siguientes características:

<u>Responsividad</u>: Termino utilizado al nivel de señal que es capaz de ofrecer el sensor por cada unidad de energía óptica incidente. Siendo necesario que el sensor tenga una responsividad elevada, para la recolección de la señal que regresa la muestra. Por lo tanto el CMOS presenta una gran ventaja respecto al CCD.

<u>*Rango Dinámico:*</u> (RD) Es el cociente entre el nivel de saturación de los píxeles y el umbral por debajo del cual no captan señal. En este aspecto CCD supera al CMOS, dado que en la actualidad el RD de un sensor CCD es típicamente del doble que el de un CMOS.

<u>*Ruido:*</u> Los sensores CCD aventajan a los de tecnología CMOS en este apartado, ya que debido a su construcción todo el procesado de señal se da fuera del CCD, con lo que se podrá aprovechar la mejor tecnología disponible en convertidores A/D, pudiendo elegir los más rápidos o mejores procesadores. Por su parte, los CMOS al realizar la gran mayoría de las funciones dentro del sensor (amplificación, conversión A/D, etc.) destinan menos espacio para los fotodiodos encargados de recoger la luz, por lo que se produce más ruido en la lectura.

<u>Respuesta Uniforme</u>: Idealmente se espera que un píxel sometido al mismo nivel de excitación de luz que sus vecinos no presente cambios apreciables respecto de ellos. En este aspecto la individualidad de cada píxel de un sensor CMOS los hace más sensibles a sufrir fallos, siendo mayor la uniformidad en los CCD. No obstante mediante la adición de circuitos con realimentación se ha conseguido subsanar en gran medida este problema, aunque los CCD siguen ostentando una ligera ventaja.

<u>Velocidad</u>: La velocidad con la que se captura la imagen, se observa que los CMOS son superiores a los CCD, debido a que muchas funciones, como la propia conversión analógico-digital son realizadas en el propio sensor.

<u>Blooming</u>: Esta palabra define el fenómeno por el cual un píxel que ha alcanzado la saturación, genera saturación en los pixeles vecinos, creando efectos y patrones no deseados. Esto se da principalmente en sensores CCD, que necesitan de algunos trucos de construcción para evitarlos. En cambio, gracias a su construcción los sensores CMOS no sufren de este defecto.

Un punto importante es conocer que longitudes de onda puede detectar el sensor, en este caso es de especial interés que capte el infrarrojo.

Conociendo esto y las características anteriores, es evidente que el CCD es superior a un CMOS, reflejándose esto en el costo, si se implementa el uso de dos sensores CMOS, se puede llegar a emular las ventajas de un sensor CCD como se demuestra en el capítulo 4.

2.7.- Procesamiento digital de imágenes.

Uno de los sentidos más desarrollados del ser humano es el de la vista, el ojo humano es un sensor, que está compuesto de lentes, pupilas y conexiones las cuales permiten procesar las imágenes que observamos [25].

Este principio es el que se utiliza para la obtención de las imágenes, en un arreglo óptico, después de la obtención de las imágenes se procesan los datos, a este proceso se le llama procesamiento digital de las imágenes (PDI).

PDI implica la manipulación de las imágenes vistas como señales digitales, para extraer la información más elemental. El análisis se encamina a determinar ciertas estructuras elementales tales como los bordes o las regiones así como las relaciones entre ellas, siendo estas aplicaciones las que tratan de dar soluciones a los problemas relacionados con situaciones del mundo real, tales como: reconocimiento, movimiento, reconstrucción 3D, etc.

Un principio básico en PDI es el manejar las imágenes como arreglos matriciales [26], es decir la imagen se toma como una función f(x, y) para su manipulación, obteniendo para cada punto que la conforma un par de coordenadas.

Estos puntos son registros de intensidad los cuales poseen diferentes valores y forman la imagen, estas imágenes tienen un número finito de puntos, los cuales determinan el tamaño de la misma, cada uno de estos puntos es llamado Pixel.

Cada pixel que conforma el receptor de la cámara genera una señal eléctrica, si se toman los fundamentos del procesamiento de señales se sabe que a una señal eléctrica se le puede aplicar un filtro para seleccionar una porción de la señal, agregar o quitar ruido, amplificarla, etc.

En la mayoría de las aplicaciones de la óptica, lo que interesa en las imágenes es quitar el ruido de la señal, esto es logrado mediante diversos algoritmos aplicados a las señales obtenidas del sistema, teniendo que poner en la balanza que tanto de ese ruido contiene información.

Una de las grandes distinciones en los sistemas para la obtención de imágenes [27] se puede observar en la *Tabla 2.1*.

Tipo de Imagen	Modo de adquisición	Ejemplo de medio de adquisición.
Imagen Directa	Adquisición Paralela	Ojo humano, cámara digital, microscopio óptico, telescopio óptico.
	Adquisición Serial	Escaneo microdesiometrico, escaneo de microscopia confocal, cámara medica gama.
Imagen Indirecta		Película fotográfica, rayos X, Resonancia electromagnética, holografía.

Tabla 2.1.- Comparación de las tecnologías de adquisición de imágenes Hand Book of Medical Imaging, Bankman

 Isaac, Second edition, Academic Press, 2000.
De la *Tabla 2.1* se puede definir que una imagen directa es aquella en la que la información adquirida es reconocible, mientras que en la indirecta es necesario realizar PDI para distinguir la imagen.

Las imágenes directas se pueden subdividir dependiendo de cómo fue adquirida la imagen, ya sea completa o en partes.

Las imágenes indirectas son las que se obtuvieron mediante un dispositivo que después tuvo que ser procesado para hacer evidente la imagen como una película fotográfica, radiografía computarizada (CR) y Rayos X

Una gran desventaja de la obtención de imágenes indirectas es el tiempo que lleva procesarlas para hacerlas observables, y la pérdida considerable de información que conlleva este proceso.

El PDI es un proceso que requiere hardware y software que puedan:

- Adquirir los datos en forma de imagen: esto es usar el sensor adecuado a la aplicación.
- Guardar la imagen ya sea de manera permanente en el disco duro o en la memoria RAM.
- Realizar la manipulación de la imagen
- Mostrar la imagen.

Existen diferentes tipos de PDI Tabla 2.2.

Clases de procesamiento	Ejemplos de operaciones de procesamiento	
Realce de Imagen	Ajuste de brillo, realice de contraste, promedio de imagen, convolucion, filtros en el dominio de la frecuencia, realce de bordes.	
Restauración de Imagen	Corrección fotométrica, filtrado inverso.	
Análisis de Imagen	Segmentación, extracción de características, clasificación de objetos.	
Compresión de Imagen	Perdida y compactación débil.	
Síntesis de Imagen	Imagenologia tomográfica, reconstrucción 3-D	

Tabla 2.2.- Tipos de PDI y ejemplos de las diversas operaciones que se realizan en ese proceso.

PDI normalmente no se puede realizar en un solo paso, generalmente es una serie de pasos que se deben realizar con el fin de extraer los datos de la imagen de interés.

2.7.1.- Filtrado de imágenes.

Los filtros son métodos para resaltar o suprimir, de forma selectiva, información contenida en una imagen a diferentes escalas, para destacar algunos elementos de la imagen, o también para ocultar valores anómalos.

Los procesos de filtrado se pueden llevar a cabo sobre los dominios de frecuencia y espacio, siendo las de filtrado espacial realizadas directamente sobre los pixeles como se observa en la Ec. 2.17.

$$g(x, y) = T\{f(x, y)\}$$
 Ec. 2.17

Donde f(x, y) es la imagen de entrada, g(x, y) es la imagen procesada, y T es el operador definido sobre alguna vecindad del punto (x, y).

Una de las formas de realizar este proceso es mediante máscaras, siendo estas una matriz bidimensional pequeña compuesta por números enteros (por lo general se hace de 3x3), el centro de la máscara se mueve a lo largo de la imagen generando un nuevo valor mediante una función del valor original y los de los píxeles circundantes.

Los filtros espaciales tienen como objetivo modificar la contribución de determinados rangos de frecuencias de una imagen. La transformada de Fourier es una transformación de un dominio (el del espacio) a otro dominio (el de frecuencia) sin perder información. El proceso de filtrado espectral de imágenes se puede observar en la -Figura 2.22-.



2.7.2 Tipos de filtros

En general, el filtrado de señales posee tres categorías, según el resultado que se busque:

Filtros Paso-Bajas: Son utilizados en la reducción de ruido; suavizan y aplanan un poco las imágenes y como consecuencia se reduce o se pierde la nitidez. En inglés son conocidos como Smoothing Spatial Filters.

Filtros Paso-Altas: Estos filtros son utilizados para detectar cambios de luminosidad. Son utilizados en la detección de patrones como bordes o para resaltar detalles finos de una imagen. Son conocidos como Sharpening Spatial Filters

Filtros Paso-Banda: Son utilizados para detectar patrones de ruido. Ya que un filtro paso-banda generalmente elimina demasiado contenido de una imagen casi no son usados. Sin embargo, los filtros paso-banda son útiles para aislar los efectos de ciertas bandas de frecuencias seleccionadas sobre una imagen.

2.7.3 Ventanas.

Las ventanas o funciones de apodización son funciones matemáticas usadas con frecuencia en el análisis y el procesamiento de señales para evitar las discontinuidades al principio y al final de los bloques analizados [28].

En procesamiento de señales, una ventana se utiliza cuando nos interesa una señal de longitud voluntariamente limitada. Para obtener información, simplemente multiplicamos la señal por la función ventana. Debiendo tener en cuenta que una señal real dura un tiempo t, por lo tanto la señal deberá tener un tiempo finito.

$$s_h = s(t) \cdot h(t)$$
 Ec 2.18

Donde s_h es la imagen final, s(t) la función a la cual se le va a aplicar la ventana y h(t) es la función de la ventana, en la -Figura 2.23(a)- se puede observar una señal la cual representa s(t) y en la -Figura 2.23 (b)- se observa un ejemplo de mascara h(t).



Figura 2.23. Esquemático de una señal y una ventana donde se tiene (a) la señal original sin filtrar y (b) ventana mascara utilizada para filtrar la señal.

Las funciones ventana más comunes son:

- La rectangular: Cuyo valor varia de 0 ≤ n ≤ N-1, donde n es el punto de la función a la cual se le va a aplicar la ventana y N el número de elementos de la función.
- Hann y Hamming: las cuales pertenecen a las ventanas cosenoidales.

2.7.3.1 Ventana rectangular

La ventana rectangular también conocida como ventana de Dirichlet es equivalente a reemplazar todos los valores excepto los N valores de datos por ceros haciendo parecer que la señal se comporta de manera intermitente, su aplicación se puede observar en la *–Figura 2.24-*.



Figura 2.24. Señal original (azul) y señal filtrada (rojo) por una máscara rectangular.

2.7.3.2 Ventana Hann

Nombrada así por el metrólogo austriaco Julius von Hann está definida por

$$h(t) = a_0 - a_1 \cos\left(\frac{2\pi n}{N-1}\right)$$
 Ec. 2.20

Donde $a_0 \cong 0.5$ y $a_1 \cong 0.5$, siendo N la longitud de las muestras de una función ventana simétrica, n es un entero cuyo valor varia de $0 \le n \le N - 1$, su aplicación se puede observar en la *-Figura 2.25-*.



Figura 2.25. Señal original (azul) y señal filtrada (rojo) por una máscara Hann.

2.7.3.3 Ventana Hamming

Conocida también como coseno elevado esta ventana es optimizada para minimizar el máximo del lóbulo lateral llegando a solo un quinto de la ventana Hann.

$$h(t) = a_0 + a_1 \cos\left(\frac{2\pi n}{N-1}\right)$$
 Ec. 2.21

Donde $a_0 \cong 0.5$ y $a_1 \cong 0.4$, siendo N la longitud de las muestras de una función ventana simétrica, n es un entero cuyo valor varia de $0 \le n \le N - 1$, su aplicación se puede observar en la *-Figura* 2.26-.



Figura 2.26. Señal original (azul) y señal filtrada (rojo) por una máscara Hamming.

Este tipo de filtros de ventana serán los que se apliquen a los patrones de franjas del sistema OCT propuesto en este trabajo. El mejoramiento de la señal en base al esparcimiento de la luz dentro del tejido se observará y describirá en el Capitulo 4.

2.8.- Formación de imagen en sensores CCD y CMOS.

Una cámara digital utiliza una matriz de sensores de millones de diminutos píxeles para producir una imagen, en la *–Figura 2.27-* se observa uno de estos sensores.

Cuando es presionado el botón del obturador de la cámara, cada uno de estos píxeles tiene un "photosite", el cual que está al descubierto para recoger y almacenar fotones dentro de una cavidad, una vez terminada la exposición, se evalúa cuántos fotones cayó en cada una de estas cavidades.

La cantidad relativa de fotones en cada cavidad se clasifica en varios niveles de intensidad, cuya precisión es determinada por la profundidad de bits (0 - 255 para una imagen de 8 bits).



Figura 2.27. Tamaño ejemplificativo de un sensor CCD.

El Término CCD es conocido popularmente como la designación de uno de los principales elementos de las cámaras fotográficas digitales y de video. CCD es el sensor con células fotoeléctricas diminutas que registran la imagen.

La palabra capacidad de resolución o detalle de la imagen depende del número de células fotoeléctricas del CCD, este número se expresa en píxeles.

El CMOS, al igual que el sensor CCD, se basa en el efecto fotoeléctrico, generando cada cavidad una corriente eléctrica que varía en función de la intensidad de luz recibida. En el CMOS, a diferencia del CCD se incorpora un amplificador de la señal eléctrica en cada cavidad y es común incluir un conversor digital en el propio chip. Mientras que en un CCD se tiene que enviar la señal eléctrica producida por cada cavidad al exterior y amplificarla.

2.8.1.- Signal to noise ratio (SNR).

La relación señal-ruido (SNR) de una imagen a menudo puede ser estimada a partir de la propia imagen, de una manera directa. La señal, o intensidad media, de la imagen se caracteriza por el cuadrado de la media de valor de píxel de la imagen completa [28].

El ruido se caracteriza por la variación de los valores de píxel, pero tiene que ser medido en una región dentro de la imagen que se espera que tenga constantes los valores de gris y es lo suficientemente grande como para que todas las variaciones significativas se incluyen en la medición del ruido.

Esto es necesario para no confundir a las variaciones de los valores de píxeles debido a la información local, es decir, las características, con variaciones debido al ruido.

Por otra parte, el ruido puede medirse en una segunda imagen, adquirida en las mismas condiciones que la primera imagen, si dicha imagen está disponible.

El SNR de una imagen lo podemos calcular con la siguiente ecuación:

$$SNR = 10 \log_{10} \left(\frac{\bar{a}^2}{\sigma_a^2} \right) = 20 \log_{10} \left(\frac{\bar{a}}{\sigma_a} \right)$$
 Ec. 2.22

Aquí se determina la potencia de la señal (\bar{a}) del valor al cuadrado del promedio del píxel en toda la imagen. La potencia de ruido (σ_a) se determina a partir de la varianza en la región de interés (ROI) que no contenga las características mencionadas.

Capitulo 3.-

Introducción al sistema circulatorio

Capitulo 3.- Introducción al sistema circulatorio.

Es importante definir el objeto de análisis de este trabajo, el cual es el colesterol dentro del tejido arterial. Para esto se definirán los medios que intervienen en el sistema circulatorio -el corazón, las arterias, venas y capilares-.

Abarcando desde cómo se genera el colesterol dentro del tejido, en que zonas es más susceptible que este se encuentre, composición, sus propiedades tanto físicas como químicas hasta cómo afecta al sistema circulatorio. El colesterol genera un funcionamiento erróneo en el sistema circulatorio, dando lugar a la enfermedad conocida como ateroesclerosis, siendo esta la principal causa de muerte en México en el 2012 [29].

3.1.- Sistema circulatorio humano.

Las arterias, el corazón y demás vasos sanguíneos crean una red para el transporte de la sangre, llamado aparato cardiovascular o sistema circulatorio *-Figura 3.1-*. A través de este aparato, se transportan nutrientes, oxigeno y productos de desecho hacia y desde las células, mediante la sangre. El hombre en promedio tiene entre 6 litros y 7 litros de sangre en el cuerpo y la mujer en promedio tiene entre 4 litros y 5 litros.

Haciendo una descripción general del funcionamiento del sistema circulatorio se puede explicar como un sistema cerrado de conductos, que comienza y acaba en el corazón. Este actúa -viéndolo de una forma muy aproximada- como una bomba hidráulica cuya función es mover e impulsar la sangre por el cuerpo [30].

El corazón genera la suficiente potencia para dar circulación a dos circuitos conectados en serie que son: la circulación sistémica y circulación pulmonar. Estos dos circuitos funcionan con una de las dos bombas que forman el corazón: el corazón izquierdo y el corazón derecho.

El primero bombea la sangre limpia por la aorta hacia los tejidos, generando el retorno venoso –que se definirá más adelante- por las venas hacia el corazón derecho [31].

El corazón derecho bombea la sangre sucia por la arteria pulmonar llevándola hacia el pulmón donde se oxigena y limpia, retornándola de nuevo al corazón izquierdo por las venas pulmonares cerrando el ciclo.

Cada parte que conforma el sistema circulatorio *-Figura 3.2-*, es de gran importancia haciendo notable que una falla de alguna de sus partes puede llevarnos a la muerte en cuestión de segundos.



Figura 3.1.- Sistema circulatorio humano con las principales arterias y el corazón.

El motor del sistema circulatorio aparte de generar el movimiento de la sangre también genera la apertura y cierre de las válvulas mediante el movimiento inicial del corazón, este es la fuente de potencia la cual genera la presión a la cual están sometidos las arterias y las venas también es el responsable de la contracción y dilatación de las venas.



Figura 3.2.- Ilustración esquemática del sistema circulatorio del cuerpo humano.

3.1.1.- El corazón.

El corazón pesa entre 200 y 425 gramos siendo un poco más grande que una mano cerrada. Al final de una vida larga -85 años-, el corazón de una persona puede haber latido (haberse dilatado y contraído) más de 3,500 millones de veces aproximadamente. Cada día, el corazón promedio late 100,000 veces, bombeando aproximadamente 70 centímetros cubicos de sangre.

El corazón se localiza en el centro del tórax, suspendido sobre el diafragma, dentro de un saco fibroso de pared doble que encierra el corazón y las raíces de los grades vasos (pericardio).

Desde su vértice, el corazón posee una inclinación hacia la izquierda y abajo, esto provoca que dos tercios del corazón se sitúen del lado izquierdo.

Las contracciones del músculo cardiaco no se hallan gobernadas por la voluntad sino por un marcapasos natural compuesto por fibras especiales del músculo cardiaco, controladas por el sistema nervioso autónomo (SNA).

Las fibras de músculo cardiaco son una cadena de células musculares unidas por sus extremos a través de uniones celulares reforzadas.

Siendo el músculo cardiaco un músculo "estirado", ya que se ven bandas en él a través del microscopio se tiene las estructuras mostradas en la *-Figura 3.3-*.



Figura 3.3. Imagen donde se muestran los diferentes tipos de músculo y su configuración fibrosa la cual varía dependiendo del uso del músculo. (a) Muslos, bíceps, etc. (b) Se localiza en su mayoría en el Pericardio y en el corazón, (c) El músculo liso se localiza en los aparatos reproductor y excretor, en los vasos sanguíneos, en la piel y órganos internos

Lo anterior da una idea de cómo está conformada la estructura del tejido muscular del corazón, la cual por su disposición de fibras interactúa con la luz en forma especial y teniendo un grado de absorción a ella en particular.



Figura 3.4.- Vista del corazón y como se comporta el flujo de sangre dentro de este.

De la *Figura 3.4* se observa como esta bomba hidráulica está compuesta por cuatro cavidades y se divide en dos secciones cada sección genera diferente presión al sistema y por consiguiente a los vasos sanguíneos.

El término corazón derecho hace referencia al ventrículo derecho y a la aurícula derecha -parte azul de la *Figura 3.4*-, la cual desemboca en la vena cava superior, la vena cava inferior, y el seno coronario [32].

La contra parte del corazón derecho es el corazón izquierdo el cual está constituido por la aurícula izquierda y el ventrículo izquierdo.

La aurícula izquierda recibe sangre oxigenada proveniente de los pulmones y la impulsa a través de la válvula mitral hacia el ventrículo izquierdo, el cual la distribuye a todo el organismo mediante la aorta.

El ventrículo izquierdo es quien posee la mayor cantidad de tejido muscular en el corazón, debido a que da el mayor impulso a la sangre hacia todo el organismo.

3.1.2.- Arterias, venas y capilares.

Las conexiones del sistema circulatorio son las encargadas de conducir la sangre del corazón al cuerpo y del cuerpo al corazón. Si una de estas conexiones se bloquea, puede desencadenar una serie de eventos que pueden llevar a un infarto, trombosis o la muerte. Estas complicaciones se

pueden prevenir y diagnosticar con tiempo, mediante la ayuda de diversos análisis y valoraciones medicas.

La sangre fluye por el cuerpo humano en un complejo sistema de tubos llamados vasos sanguíneos, los cuales llevan la sangre en un recorrido aproximado de 96.560 Km de vasos sanguíneos que se ramifican y entrecruzan, enlazando las células de nuestros órganos y partes del cuerpo.

En cada tejido u órgano del cuerpo, la sangre realiza un intercambio en donde descarga el oxígeno y los nutrientes y carga productos de desecho como toxinas y dióxido de carbono.

3.1.2.1.- Arterias.

Las arterias llevan la sangre desde el corazón y a todo el cuerpo, esta pasa por las arterias de calibre cada vez menor hasta llegar a todo el organismo transportando solo sangre limpia. Sus paredes poseen tres cubiertas o túnicas *-Figura 3.5-*:

- Túnica adventicia.
- Túnica media.
- Túnica intima.



Figura 3.5.- La arteria consta de tres capas fundamentales las cuales se pueden ver en la imagen.

Estas estructuras se pueden observar mejor en la -Figura 3.6- en donde se observa el grosor de cada estructura de manera ilustrativa.



Figura 3.6.- Estructura general de las arterias (sus paredes son gruesas y expandibles).

Estas se distinguen entre sí por el grosor y las diferencias en la composición de las túnicas, en particular de la túnica media. Un punto importante es el tamaño de la arteria el cual varía de forma continua, es decir, experimenta un cambio gradual de un tipo a otro. Se conocen tres tipos de arterias [34]:

• Arterias elásticas:

Las cuáles son de mayor tamaño, como la aorta. Entre contracción y contracción del corazón, el cuerpo mantiene la presión arterial dentro del sistema a merced de la elasticidad de estas.

• Arterias musculares o de distribución:

Un ejemplo muy claro de este tipo de arterias es la femoral, este tipo de arterias reparten la sangre a distintas porciones del organismo. Sus paredes constan, en esencia, de fibras musculares lisas con disposición circular, que constriñen el centro de la arteria (llamado lumen o luz) al contraerse. Las arterias musculares regulan el flujo de la sangre por las distintas regiones, según las necesidades corporales.

• Arteriolas:

De menor tamaño poseen un lumen bastante estrecho y paredes musculares gruesas. El grado de presión arterial dentro del aparato vascular está regulado, sobre todo, por el tono (estado de contracción parcial) del músculo liso de las paredes arteriales.

3.1.2.2.- Venas.

Así como las arterias se encargan de mandar la sangre, son las venas las encargadas de recolectar la sangre sucia para enviarla de vuelta al corazón.



Figura 3.7.- Las venas llevan sangre de los tejidos al corazón. Sus paredes son más delgadas que las arteriales.

Las venas intermedias de los miembros y de otros lugares –donde el flujo de sangre se opone a la tracción de la gravedad- disponen de válvulas plegables que permiten que la sangre fluya en dirección al corazón, pero no en sentido contrario -*Figura 3.7*-.

Una vena grande, como la vena cava superior, se caracteriza por haces anchos de músculo liso longitudinal y una túnica bien desarrollada.

Las venas sistémicas o de circulación muestran más variación que las arterias. Las válvulas venosas como se observa en la-*Figura 3.8*- detienen las columnas de sangre y alivian el exceso de presión de las zonas situadas en declive; permitiendo que la sangre solo fluya hacia el corazón mediante contracciones de las mismas.



Figura 3.8.- Imagen donde se observa el retorno de la sangre sucia por la vena realizando esto mediante el sistema valvular que previene el retorno de la sangre.

3.1.2.3.- Capilares

Los capilares son tubos simples que conectan los sistemas arterial y venoso de la circulación. En general, se disponen en redes –lechos capilares- entre las arteriolas y vénulas. La sangre que fluye por los lechos capilares llega desde las arteriolas y sale por las vénulas.

La presión hidrostática de las arteriolas empuja la sangre por el lecho capilar, intercambiando así oxigeno, nutrientes y otros materiales celulares con el tejido circundante, llevándola hasta las vénulas.

3.1.3.- Sangre.

Las arterias y venas están encargadas de transportar sangre, la sangre está compuesta principalmente de plasma. En el plasma existen 3 tipos principales [35] de células sanguíneas que se observan en la *-Figura 3.9-* y cuya composición química se describe en la *-Figura 3.10-*:



Figura 3.9.- Elementos que componen la sangre.

- Plaquetas: Intervienen en el proceso de coagulación sanguínea, también llamadas trombocitos.
- Glóbulos blancos: Encargados de combatir las infecciones. Estas células, tienen muchas formas y tamaños diferentes, son vitales para el sistema inmune. Cuando el organismo combate una infección, aumenta la producción de estas células.
- Glóbulos rojos: Encargados del transporte de oxígeno. De los 3 tipos de células sanguíneas, los glóbulos rojos son las más numerosas. Un adulto sano tiene alrededor de 35 billones de estas células. El organismo crea alrededor de 2,4 millones de estas células por segundo y cada una vive unos 120 días. Los glóbulos rojos también se denominan eritrocitos [35].



Figura 3.10.- Composición química de la sangre, la cual se puede dividir en un 55% de plasma y un 45% de células.

Como se ha visto el corazón es el encargado de impulsar la sangre hacia las arterias (Gasto Cardiaco) en contra de una resistencia a su vaciamiento impuesta por las arteriolas (resistencia periférica); la interacción entre ambas fuerzas genera la presión arterial.

El gasto cardiaco y la resistencia periférica influidos por el sistema nervioso autónomo, determinan el flujo sanguíneo y la irrigación de diversos tejidos llevando para realizar la oxigenación de los tejidos.

3.1.3.1.- Flujo sanguíneo.

La sangre es un fluido en movimiento al cual se le denomina flujo sanguíneo, siendo esto la cantidad de fluido que pasa a través de un vaso o una determinada sección del sistema circulatorio por unidad de tiempo. En un sistema ideal, un fluido podría moverse sin rozamiento a través de un conducto.

El flujo sanguíneo es laminar - *Figura 3.11 (a)*-, en el centro de la arteria, la velocidad es más rápida y conforme se va alejando de él, el flujo paulatinamente se va haciendo más lento, de tal manera que la capa adyacente al endotelio arterial tiene la velocidad de circulación más lenta.

El que sea un flujo laminar tiene sus ventajas, como por ejemplo: la sangre circula con menor resistencia durante la contracción del tejido muscular, siendo impulsada hacia las arteriolas y con la llegada del volumen se distienden; esto condiciona una contracción la cual refleja la capa media de las mismas arteriolas, provocando una inversión de flujo lo cual hace el cierre aórtico [31].



Figura 3.11.- Tipos de flujo que se presentan en la sangre (a) flujo laminar y (b) flujo turbulento.

En ocasiones, el flujo sanguíneo puede no comportarse de forma laminar y la sangre fluye tanto transversal como longitudinalmente, formándose remolinos o turbulencias. Se dice entonces que el flujo es turbulento *-Figura 3.11 (b)-*.

La aparición de flujo turbulento depende de la geometría del vaso, aumentando este con el diámetro, la curvatura y la presencia de obstrucciones. En la práctica, el flujo es turbulento en la raíz de la aorta y en las ramificaciones de las grandes arterias o en presencia de obstrucciones.

Siendo esta parte del flujo sanguíneo la que determinará la ubicación o existencia de un absceso en la pared endotelial generado por el colesterol.

Analizando el flujo sanguíneo con el principio de Pascal, la arteria se verá como un recipiente el cual esta conteniendo un líquido y este está ejerciendo presión en las paredes del recipiente. La magnitud de la presión que genera un fluido viene determinada por la Ley de Pascal:

$$P = gh\sigma$$
 Ec.3.1

Donde σ es la densidad del fluido, g la constante de aceleración gravitacional y h es la altura del fluido.

Por lo tanto, en cualquier punto del organismo, la sangre está generando una presión sobre las paredes de los vasos a la que se le llama presión hidrostática. En consecuencia, la presión de una persona en posición erecta será máxima en la extremidad inferior (pudiendo alcanzar los 90 mm Hg en los tobillos) y mínima en la cabeza, mientras que en una persona en decúbito las diferencias de presión hidrostática serán mínimas.

3.1.4.2.- Retorno Venosos

La red venosa constituye un sistema de capacitancia capaz de albergar una gran cantidad de sangre siendo el sistema venoso el que normalmente contiene la mayor cantidad de volumen intravascular siendo con 55% del total, el sistema arterial tiene el 15%, el circuito pulmonar posee el 19% y el corazón con un 11%.



Figura 3.12.- Esquema de circulación del retorno venoso (a) con la apertura y (b) con el cierre de las válvulas.

El retorno venoso ilustrado en la - *Figura 3.12*- es de suma importancia ya que contribuye al gasto cardiaco, el cual es el volumen de sangre expulsado por un ventrículo en un minuto, siendo su contra parte el retorno venoso el cual indica cuánta sangre llega de las venas a una aurícula en un minuto, y este depende de los siguientes factores.

- Volumen sanguíneo
- Tono vaso motor

- Presión intra torácica
- Posición corporal

• "bomba" muscular

La disminución del volumen intravascular, es responsable de la disminución del retorno venoso y del gasto cardiaco.

Existen dos factores de las venas que se deben de tomar en cuenta: la venodilatación y la venocontricción (retorno de sangre), estos incrementan o decrementan el flujo de sangre.

Tomando en cuenta estos parámetros anatómicos, se diseñaron diversos modelos matemáticos [33], que ayudan al diagnostico de enfermedades cardiacas así como para determinar malformaciones dentro del sistema cardiovascular y sus consecuencias.

3.2.- Parámetros de consideración médica.

Actualmente es útil calcular el gasto cardiaco de un paciente ya que este dato es utilizado para diferentes diagnósticos de enfermedades cardiacas y como cuidado posquirúrgico.

Gc = GS * frecuencia cardiaca Ec.3.2

El gasto sistólico GS, es la cantidad de sangre que sale del corazón con cada latido siendo de 60 a 100 ml/latido.

Para obtener el Gc también se utiliza el principio de Fick [20] siendo este un principio de dilución del oxigeno, el cual indica que conociendo el consumo de oxigeno en un minuto (VO_2) y dividiéndolo entre la diferencia aterió-venosa (A-V), se tendrá el gasto cardiaco como se observa en la Ec. 3.3.

$$Gc = \frac{VO_2}{A-V}$$
 Ec.3.3

La concentración del O_2 absorbido por la sangre depende de la cantidad de sangre que llega al pulmón a oxigenarse.

El cálculo del gasto cardiaco sirve para conocer parámetros hemodinámicas como:

- Calculo del área valvular mitral.
 Calculo de corto circuitos
- Calculo del área valvular aortica.
 intracardiacos.

También es utilizado como base para diversas investigaciones del sistema cardiaco, circulatorio y fármacos, sirviendo para estimar el diámetro de la arteria.

La presión del sistema arterial depende del flujo (F) que pasa a través de él y corresponde al gasto cardiaco (GC) y la resistencia que se opone a dicho flujo.

Para conocer la presión arterial se debe definir antes que es la presión sistólica y la diastólica ejemplificadas en la - *Figura 3.13*-, siendo la primera, la máxima presión desarrollada durante la expulsión de la sangre por el corazón y la presión diastólica la mínima presión que se puede registrar dentro del sistema arterial.

Se sabe que la presión sanguínea va disminuyendo progresivamente desde los grandes vasos hasta las arterias de mediano calibre, en las arteriolas y bruscamente a los capilares, reduciendo la presión hasta un 40% desde el corazón hasta los capilares.



Figura 3.13.- Ilustración del sistema Diastólico (a) y Sistólico (b), la presión sistólica es la fuerza del flujo sanguíneo por una arteria al latir el corazón. La presión diastólica es la fuerza del flujo dentro de los vasos sanguíneos cuando el corazón descansa entre un latido y otro. Una lectura de presión arterial mide tanto la fuerza sistólica como la diastólica, anotándose la sistólica en primer lugar. Las cifras indican la presión en unidades de milímetros de mercurio (mm Hg), es decir, la altura a la cual la presión dentro de las arterias podría elevar una columna de mercurio. Por ejemplo, una lectura de 120/80 mm Hg significa que la presión sistólica es de 80 mm Hg.

3.2.1.- Radiología del Corazón

Uno de los métodos más utilizados para la inspección y evaluación de enfermedades cardiacas es la radiografía de tórax en la cual el registro se obtiene la silueta cardiaca, con una divergencia del tamaño del corazón por los rayos X, siendo esta mínima aproximadamente del 7.5% al 8% sin perder una grado considerable de nitidez, para la aplicación de este método se obtienen tres proyecciones [36,37].



roanterior (PA) Oblicua anterior izquierda Oblicua anterior derecha (OAI) (OAD)



Uno de los datos más importantes que se obtiene de este estudio radiológico es el conocer si existe un crecimiento limitado de algunas cavidades o vasos (cardiomegalia global), otra es el crecimiento de alguna de las aurículas.

El hallar calcificaciones en la radiografía de tórax puede ser de gran ayuda para el diagnostico, por lo que su búsqueda en determinados casos, no debe pasarse por alto. Para realizar la búsqueda con mejores resultados se le realiza al paciente una fluoroscopía con intensificador de imagen.

Inyectando soluciones opacas y realizando rayos X se obtienen imágenes bidimensionales del aparato cardiovascular [38].

Al observar la *Figura 3.14*, se puede generar fácilmente un diagnostico erróneo de las calcificaciones, debido a que es fácil generar confusión gracias a la resolución de las imágenes.

3.2.2.- Ecocardiografía.

La ecocardiografía emplea ondas sonoras para producir una imagen del corazón y ver cómo funciona *-Figura 3.15-*. Según el tipo de estudio eco cardiográfico que se realice, puede determinarse el tamaño, forma y movimiento del músculo cardíaco. Este estudio también puede mostrar cómo funcionan las válvulas cardíacas y cómo circula la sangre por el corazón. La ecocardiografía también puede suministrar información sobre las arterias.

Las ondas sonoras se transmiten por el cuerpo mediante un transductor. Las ondas sonoras rebotan del corazón y vuelven al transductor en forma de ecos. Los ecos se convierten en señales eléctricas que producen imágenes del corazón que pueden observarse en una pantalla [39-41].



Figura 3.15.- Imágenes obtenidas de ultrasonido utilizadas para el estudio y diagnostico de enfermedades cardiacas (a) Ultrasonido que muestra el corazón y (b) ultrasonido de la parte baja de los pulmones.

3.2.3.- Angiografía.

La angiografía es una técnica radiográfica que emplea un colorante el cual se inyecta en las cavidades del corazón o en las arterias que conducen al corazón (las arterias coronarias) *-Figura 3.16-* el estudio permite medir el flujo de sangre y la presión en las cavidades cardíacas y determinar si las arterias coronarias están obstruidas.



Figura 3.16.-Imágenes de angiografías de diferentes tejidos arteriales, con diferente método de PDI (a) escala de grises, (b) negativo de escala de grises de pulmones, este método puede ser riesgoso si el paciente es alérgico al medio de contraste.

Los médicos realizan un procedimiento de cateterización cardíaca en el cual un catéter se introduce en una arteria de la pierna hasta llegar al corazón. Una vez ubicado el catéter en el corazón, se inyecta por él un colorante en el corazón. El colorante les permite a los médicos ver cómo funcionan las cavidades cardíacas y las arterias coronarias. La circulación del colorante dentro del corazón y de las arterias coronarias se registra sobre una pantalla [42-44].

3.2.4- Ecocardiografía Intravascular o Ultrasonido Intravascular.

El ultrasonido o ecocardiografía intravascular - *Figura 3.17*- se realiza junto con un procedimiento denominado cateterización cardíaca. El ultrasonido intravascular es un estudio que emplea ondas sonoras para producir una imagen de las arterias coronarias y ver en qué estado se encuentran. Este estudio permite ver el interior de los vasos sanguíneos.

El ultrasonido intravascular casi nunca se realiza independientemente o como un procedimiento estrictamente de diagnóstico. Generalmente es realizado junto con una intervención coronaria percutánea, tal como una angioplastia [45,46].



Figura 3.17.- Imágenes en alta resolución de diversos ultrasonidos de pacientes con diferentes afecciones cardiacas (a) baja resolución, (b) máxima resolución y (c) media resolución.

3.2.5.- Tomografía computada.

El tomógrafo computado obtiene varias imágenes radiográficas - *Figura 3.18*- de secciones delgadas del corazón. Luego, estas son procesadas y reunidas en una computadora para producir una imagen detallada de planos (o cortes) transversales del corazón.

Es necesario un medio de contraste en la corriente sanguínea para poder obtener una imagen más clara [47].



Figura 3.18.- Imágenes obtenidas por tomografía computada, en el las cuales se puede observar la diferencia de los diversos órganos.

3.3.- Comparación entre el sistema circulatorio humano y el porcino.

El modelo animal para investigación de enfermedades cardiacas es el cerdo, debido a que la circulación de la sangre y su anatomía coronaria, es muy similar a la del humano anatómicamente [48].

En un cerdo adulto, la frecuencia cardíaca es de 70 latidos por minuto y en un humano va de 70 a 90 latidos por minuto aproximadamente. Su sangre está compuesta principalmente de dos partes, plasma y células sanguíneas, siendo transportada por arterias pequeñas y arteriolas, que además se ramifican en algunos pequeños capilares microscópicos como observa en la - *Figura 3.19*- [49].



Figura 3.19.- Sistema circulatorio porcino con las principales arterias y el corazón.

Al igual que en el humano, cualquier daño a estos órganos puede poner en peligro el proceso de circulación e impiden las funciones vitales del cuerpo como se observa en la - *Figura 3.20*-. Además del corazón y los vasos sanguíneos, los pulmones también desempeñan un papel importante ya que oxigenan la sangre.



Figura 3.20.- Comparación del corazón humano con el de un espécimen porcino.

Se presenta en la -Tabla 3.1- los diversos estudios que se han realizado para el estudio de la artero esclerosis, y los diferentes modelos animales que se han utilizado, destacando que el más apropiado es el del cerdo [50].

Modelo animal	Ventajas	Limitaciones
Ratón	Rápido desarrollo de la enfermedad. Ciclo reproductivo y de desarrollo cortos. Genoma conocido y manipulable.	Parecido al humano limitado. Formación limitada de lesiones de ateroesclerosi Diferente perfil y nivel de lípidos.
Rata	Barato Útil para modelos de estenosis	No desarrollan lesiones por ateroesclerosis.
Conejo	Barato Lesiones de fibroma Útil para modelos de estenosis Relativamente económico.	Necesitan niveles altos de plasma para desarrollo de la ateroesclerosis. Generación de modelos re endoteliales en lugar de ateroesclerosis. Evaluación coronaria difícil.
Puerco	Lesiones de ateroesclerosis similares a las humanas Los lípidos en su sangre están dentro del rango humano Imagenologia coronaria invasiva posible. Útil para modelo de estenosis y pos-operatorio. Útil para estudios endoteliales y coronarios detallados	Mantenimiento costoso. Manejo difícil por tamaño. Genoma limitado.
Mono	Lesiones de ateroesclerosis similares a las humanas. Carácter influenciable por el medio. Influenciable por estado hormonal.	Implicaciones éticas. Mantenimiento muy costoso. Difícil de manejar.

Tabla 3.1.- Comparación de diversas especies de animales para el estudio de la ateroesclerosis.

Otra de las razones por las cuales se utilizo el espécimen porcino es por la aplicación de los xenotrasplantes (también conocidos como heterotrasplantes o trasplantes heterólogo), estos son cuando donante y receptor son de especies distintas [51-58]. Se han aplicado diversas intervenciones quirúrgicas de cerdos a humanos siendo una de las más investigadas la de válvulas cardíacas de cerdo para corazones enfermos.

Cuando alguna de las válvulas del corazón tiene un problema grave (por mal funcionamiento) existen dos alternativas: colocar quirúrgicamente una prótesis valvular cardíaca artificial o una biológica, cada una tiene sus ventajas y desventajas para cada paciente.

Las válvulas cardíacas biológicas que se utilizan proceden de las válvulas cardíacas del cerdo debido, a la gran similitud de su corazón con el del hombre. Las posibilidades de rechazo se minimizan al tratar el tejido con diversas sustancias químicas y, así permanecer mucho tiempo en el cuerpo humano [59].

3.4.- Arterosclerosis

La arterosclerosis es una enfermedad vascular de evolución crónica, dinámica y evolutiva que aparece por tres factores: disfunción endotelial, inflamación y trombosis *-Figura 3.21.-*.

Esta se caracteriza por la oclusión progresiva de las arterias por placa de ateroma, que pueden llegar a producir insuficiencia arterial crónica o bien déficit agudo de la circulación por trombosis oclusiva. El endotelio se encuentra en contacto con la sangre; usualmente las plaquetas no interactúan con el endotelio por ello normalmente no hay generación de coágulos intravasculares.



Figura 3.21.- Descripción de la ateroesclerosis arterial esta puede manifestarse cuando los depósitos de colesterol y de placa se acumulan y desgarran el revestimiento interno de la arteria. A medida que los depósitos se endurecen y ocluyen el lumen o la luz arterial, disminuye la irrigación sanguínea a tejidos distantes y se puede alojar un coagulo, causando la obstrucción total de la arteria.

Normalmente el endotelio secreta substancias vasodilatadoras y el tono vascular regula el equilibrio de estas substancias [60].

Siendo la substancia más importante el oxido nítrico (*NO*), este previene la agregación plaquetaria y la adhesión de los glóbulos blancos a la superficie endotelial.

Una disfunción endotelial, es debida a la baja producción o producción aleatoria de *NO*, la cual se puede ver desencadenada por: colesterol elevado en la sangre, resistencia a la insulina, hipertensión arterial, diabetes melitus, tabaquismo y obesidad.

Una disfunción endotelial indica que el equilibrio del endotelio cambia provocando una serie de variaciones bioquímicas los cuales alteran su función, existen sitios predispuestos para la formación de placas de ateroma [30,33, 35, 61].

Estos sitios presentan características fisicoquímicas peculiares y diferentes a los sitios en los que no se desarrolla la ateroesclerosis haciéndolos más susceptibles, algunas de estas características son:

- Mayor permeabilidad endotelial.
- El endotelio posee menor grosor.
- Mayor intercambio celular.

Gracias a estas la ateroesclerosis tiene una distribución peculiar en ciertas regiones de la aorta, arterias coronarias, las carótidas y arterias renales.

La ateroesclerosis inicia como una pequeña lesión, el cuerpo la detecta y envía moléculas para reparar la lesión endotelial, estas se adhieren al endotelio íntimo formando un conglomerado de plaquetas lo que después se convierte en un trombo blanco -- que repara la lesión -*Figura 3.22*-.

En esta etapa el trombo blanco es visto como un cuerpo extraño, atrayendo glóbulos blancos hacia el endotelio, los cuales también se adhieren al trombo, estos se acumulan de manera más rápida gracias a la oxidación del LDL.

Una vez alcanzada la lesión, los glóbulos blancos se convierten en células espumosas, produciendo una liberación de radicales, las cuales aceleran la oxidación del LDL contenidos en el centro de la lesión arterial. Este proceso provoca una inflamación en la pared arterial debida a la reacción de las moléculas generando este proceso una y otra vez, de forma asintomática.

La ateroesclerosis se produce por que el colesterol y otras grasas de la sangre se acumulan gradualmente en las arterias, formando depósitos o placas.

E1 colesterol se puede diferenciar en el tipo de lipoproteína (HDL y LDL) que transporta al colesterol por el torrente sanguíneo. Mientras que las LDL (Las malas) hacen que el exceso de colesterol sedimente en las paredes arteriales, las HDL (las buenas) lo retiran de las arterias.

El colesterol circula por las arterias, pero el exceso se va pegando a la pared arterial.

Colesterol Lipoproteín Ateroma El colesterol adherido a las paredes de las arterias puede reducir el caudal de sangre y provocar un infarto generado por la adhesión de trombos blanco



Con el tiempo este proceso obstruye el lumen arterial en forma progresiva, generando la placa artero esclerosa vulnerable y la estable, la primera está relacionada con los síndromes coronarios agudos, y se le denomina vulnerable por tener un núcleo lipidico grande [61].

Algunas de las enfermedades que se derivan de la arterosclerosis son:

- Angina de pecho
- Isquemia cerebral transitoria
- Angina mesentérica

- Infarto del miocardio
- Infarto cerebral.

3.4.1.- Colesterol

El colesterol es una sustancia grasa -un lípido- presente en todas las células del organismo. El hígado elabora todo el colesterol que el organismo necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas -*Figura 3.23*-.



Figura 3.23.- Imagen demostrativa de una lipoproteína y su estructura obtenida de una arteria que alimenta el corazón para realizar su funcionamiento.

En México existe un gran número de personas que tienen el colesterol alto y no lo saben, esta enfermedad es conocida como el asesino silencioso, este deteriora la salud del individuo sin presentar síntomas algunos hasta que ya es demasiado tarde, se han realizado diversos estudios y publicado como se observa en la *-Figura 3.24-*.

La sangre lleva el colesterol a las células en partículas transportadoras especiales denominadas lipoproteínas. Dos de las lipoproteínas más importantes son la lipoproteína de baja densidad (LDL) y la lipoproteína de alta densidad (HDL), las proporciones de estas se pueden observar en la tabla 3.2.

Lipoproteína de baja densidad

LDL transportan el colesterol a las células. El colesterol LDL a menudo se denomina colesterol malo porque se cree que los niveles elevados de esta sustancia contribuyen a la enfermedad cardiovascular (los niveles óptimos para un adulto se muestran en la tabla 3.2.) [30].

Lipoproteína de alta densidad

HDL transportan el colesterol de las células nuevamente al hígado, donde puede ser eliminado del organismo. El colesterol HDL se denomina colesterol bueno porque se cree que los niveles elevados de esta sustancia reducen el riesgo cardiovascular. Los hombres, en general, tienen niveles más bajos de colesterol HDL que las mujeres, porque la hormona femenina estrógeno aumenta el HDL. Pero cuando las mujeres dejan de menstruar, sus niveles de HDL pueden disminuir.

Colesterol total

El colesterol total es la suma del colesterol transportado en las partículas de LDL, HDL y otras lipoproteínas. Este perfil completo permite determinar los niveles de colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos. El LDL es el lípido más importante para predecir el riesgo cardiovascular.



Figura 3.24.-Imagen de diversas campañas hechas en México para la prevención de la ateroesclerosis (b) y resultados (a) y (c) de Dirección General de Información en Salud (DGIS). Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). Secretaría de Salud. http://www.sinais.salud.gob.mx>

Niveles de colesterol y triglicéridos (mg/dl)		
Colesterol total	Nivel	
Menor a 200 200-239 240<	Deseable Limítrofe Alto	
Colesterol LDL	Nivel	
Menor a 100 100-129 130-159 160-189 190<	Optimo Casi optimo/superior al optimo Limítrofe Alto Muy alto	
Colesterol HDL	Nivel	
Mas de 40	Deseable	
Triglicéridos	Nivel	
Menos de 150 150-199 200-499 500<	Normal Limítrofe Alto Muy Alto	

Tabla 3.2. - Adaptado de la publicación National Cholesterol Education Program of the National Institutes of Health, Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III).

3.4.1.1.- Propiedades ópticas del colesterol

La fórmula química del colesterol es $C_{27}H_{46}O$, estos cristales de colesterol se encuentran en varios tejidos y fluidos biológicos (sinovial, pleural, y pericardial) de pacientes con diferentes enfermedades.

Se sabe que los cristales de colesterol se forman en el líquido sinovial durante la inflamación. Existiendo dos tipos los cristales del primer tipo son grandes placas planas de forma cuadrada, rectangular o romboidal de 20 a 120 µm de tamaño [62].

A los cristales de colesterol les favorecen, temperaturas y densidades moderadas, generando la aparición de una dirección especial a lo largo la superficie de la placa, la cual orienta las moléculas [63], generando una polarización, este comportamiento afecta los rayos luminosos que inciden en el material cambiando su intensidad, color y dirección de propagación, como se muestra en la *-Figura 3.25-*

El colesterol posee propiedades de birrefringencia, las cuales se pueden emular con soluciones azucaradas [64], presentando sensibilidad a la polarización debido a la estructura helicoidal. Esta estructura funciona propagando los rayos de luz como si fuera un plano de polarización (generando polarización derecha e izquierda), provocando dos índices de refracción diferentes.



Figura 3.25.- Representación esquemática de la estructura helicoidal de los cristales de colesterol

Diversos estudios se han realizado para la caracterización óptica del colesterol, así como de las substancias que se utilizan para emularlo, llegando a determinar el porcentaje de absorción dependiendo de la longitud de onda, polarización y cantidad de agua dentro del compuesto [64].

Capitulo 4.-

Arreglo experimental y resultados.

4 Arreglo experimental y resultado.

En este capítulo se explica el procedimiento experimental para la obtención de imágenes tomográficas, el arreglo óptico que se utilizo, su funcionamiento, adaptaciones y mejoras, explicando el algoritmo diseñado para el procesamiento de las imágenes para la obtener los resultados finales que se muestran en este capítulo.

4.1.- sistema SOCT con un sensor.

En la *-Figura 4.1-* se muestra un esquemático del arreglo SOCT [19-22], el cual está basado en un arreglo tipo Michelson, con dos fuentes de iluminación: un laser He- Ne con una longitud de onda de 632.8 nm y un diodo súper luminiscente (SLD) con una longitud de onda centrada en λ =840nm y con un ancho de banda de 50 nm y una potencia de 15mW, el primero para fines de alineación del sistema.



Figura 4.1. Esquema del arreglo óptico SOCT utilizado, donde FC= 2x2 acoplador de fibra óptica, BC= colimador de haz, DH = divisor de haz 98/2, L_{x1} , L_{x2} y L_{y1} = lentes cilíndricas, ER = espejo de referencia, SM = superficie de muestra, RD = rejilla de difracción por reflexión y C1 = sensor CMOS.

Ambos haces de luz (laser y SLD) son introducidos por fibra óptica para combinarse en un acoplador (FC) 90/10 (2x2), colocando a la salida de la fibra óptica un colimador de haz (BC) con eficiencia en el rango del SLD. Ambos haces son divididos mediante un divisor de haz (DH) 98:2, enviando el 98% de la intensidad al haz objeto y el 2% de la intensidad al haz referencia.

En el brazo de referencia, se coloca un espejo con recubrimiento metálico de oro (ER), con la finalidad de generar una onda plana proveniente del ER que es atenuado por un filtro neutro de densidad variable (FN).

En el brazo objeto se coloca una lente cilíndrica L_{x1} a su distancia focal (130 mm) de la muestra, con el eje de la lente cilíndrica orientada en el eje "X" dibujando de esta forma una línea sobre el objeto muestra.

Se uso como muestra una superficie especular -un cubre objetos- de 22 x 22 mm con un grosor aproximado de 0.12mm (SM), esta consta de dos superficies que se muestran en la – *Figura 4.2*-. La reflexión del cubre objetos entra por el haz objeto hacia el arreglo, conteniendo la información tomográfica de la región iluminada (la línea de luz).



Figura 4.2.- Interacción del haz del SLD con las dos superficies del cubre objetos, cada superficie refleja parte del haz, obedeciendo la ley de Snell, por lo cual parte del haz es reflejado por la superficie y transmitida a través del cubre objeto.

El haz objeto regresa al sistema pasando nuevamente por la lente L_{x1} enviándolo de regreso al DH siendo este colimado por la lente L_{x1} . En el DH se combinan nuevamente el haz objeto y el haz de referencia. Ambos haces pasan por la lente L_{y1} , esta lente cuenta con una distancia focal f=200 mm, la cual se encuentra orientada en el eje "Y" a una distancia 2f de la muestra y del sensor [18 y 19]. Este haz incide en la rejilla de difracción tipo ráfaga (RD de 1200 l/mm) optimizada para el SLD donde el haz es difractado, como se puede observar en la -*Figura 4.3*- concentrando la mayor parte de la intensidad en el orden +1 [19].


Figura 4.3.- Esquemático de un haz es difractado y gracias a la lente Lx2 se puede reconstruir la imagen nuevamente.

El haz difractado por la rejilla es enfocado en el sensor mediante la lente L_{x2} (f=130 mm) la cual está orientada en el eje "X" a una distancia focal de 130mm del sensor, obteniendo nuevamente una línea dibujada sobre el sensor CMOS (1024 X 1280 pixeles a 8 bits) siendo esta línea el perfil del haz emitido por la fuente -*Figura 2.17*-. El tamaño del sensor se combina con Lx2 para obtener un mayor registro del espectro dentro del mismo (ver en -*Figura 4.4*-).



Figura 4.4. Imagen donde se observa como el haz del SLD llega al sensor, debido al tamaño del sensor solo una parte del perfil es captada por este.

La imagen que registra el sensor está definida por la interferencia del haz de referencia y el haz objeto, siendo este último compuesto por la interferencia de la reflexión de la superficie uno y la superficie dos de la superficie muestra en la -Figura 4.5- se presenta la interferencia de las dos superficies del haz objeto y de la interferencia generada por el haz objeto y el haz de referencia, esta depende de la intensidad con la cual los haces son reflejados tanto de la SM como del ER para no saturar el sensor, para controlar esto se utilizo un filtro neutro de densidad variable el cual fue colocado en el brazo de referencia para atenuar el haz de referencia.



Figura 4.5. Patrones de interferencia en los cuales (a) Se muestra el patrón de interferencia obtenido por las dos superficies del cubre objetos $(S_1 \ y \ S_2)$ (b) patrón de interferencia obtenido del haz de referencia (espejo) y del haz objeto (cubreobjetos).

Analizando el patrón de interferencia en el sensor se observa el registro de las longitudes de onda separadas por la rejilla [19], haciendo posible la interferencia entre cada longitud de onda que proviene de cada brazo del interferómetro, esto se observa de manera más clara en la-*Figura 4.6*-.

Siendo esta imagen compuesta por las diferentes capas del objeto, la información de éstas se tiene gracias al ancho de banda de la fuente SLD. Tomando el patrón de franjas de la *-Figura 4.6-,* se obtendrá la imagen tomográfica del cubre objetos de la *-Figura 4.7-*.







Figura 4.7.- Imagen tomográfica del cubre objetos, sin ningún tipo de procesamiento digital de imágenes.

Ésta última imagen se logra mediante la aplicación de un algoritmo basado en Fourier que permite recabar la información contenida en cada longitud de onda del ancho del espectro, colocando la información en el nivel correspondiente de la imagen tomográfica.

Con estas imágenes que sirven de calibración, se cambio la muestra por tejido orgánico como se observa en la *–Figura 4.8-* obteniendo como resultado un haz objeto con poca señal debido a la cantidad del esparcimiento que la muestra orgánica genera y que el sensor detecta.





Al ser un tejido orgánico, éste presenta una mayor absorción de la luz debido a su contenido de agua [65-70] lo que genera una señal muy baja por parte de la muestra.

Debido al *in situ* de la muestra y la cantidad de agua que contiene, es necesario mantener la muestra con una humedad constante, para este fin se monto en un dispositivo el cual permite la sujeción de

la muestra emulando las condiciones de humedad originales de la misma mejorando así la modulación de franjas –*Figura 4.9*- y la reconstrucción tomográfica –*Figura 4.10*-.



Figura 4.9.- Interferencia generada por el haz de referencia y el haz reflejado por la muestra de la figura 4.8 (d), siendo la muestra una arteria pulmonar sin daño alguno por colesterol.





4.2.- Sistema SOCT con dos sensores.

Con las imágenes anteriores se obtuvo como resultado, que el tejido presenta un grado de esparcimiento adecuado para trabajar con él en el sistema, permitiendo obtener la imagen tomográfica mostrada pero con ruido.

Se puede concluir que la cantidad de luz que proviene del sistema que llega al sensor para generar la imagen no es suficiente para obtener una imagen tomográfica con bajo SNR [71, 72].



Figura 4.11.- Señal la cual es captada por el sensor, si la señal se introduce toda al sensor, la imagen final sería un promedio de los pixeles generando mucha perdida de información, en cambio si solo se toma una porción se verá con una gran definición.

Las características del sensor limitan la recolección del espectro, siendo el tamaño del sensor la característica más evidente respecto al haz proveniente del sistema y que genera baja resolución y ruido en las imágenes. Existen dos formas de resolver esto:

- Cambiar el sensor por otro con mas pixeles (mejorando la resolución).
- Utilizar una fuente centrada en otra longitud de onda (mejorando la eficiencia cuántica).

El tamaño del sensor afecta la cantidad de información que se puede recuperar, generando un promedio entre pixeles si la imagen que incide en el sensor es muy grande y se reduce al tamaño de este. En este trabajo se implementa un segundo sensor, para así obtener una porción más grande del espectro sin promediar información *-Figura 4.11-* [73,74].

Estos sensores montados de manera independiente en el arreglo, permiten su manipulación y el ajuste individual. Si se toma en cuenta el perfil del haz emitido por la fuente SLD, es necesario un ajuste en dos direcciones y en ángulo del sistema para la captura de un mayor porcentaje del espectro *-Figura 4.12-*.





Aplicando lo anterior se tiene el arreglo final utilizado para la obtención de las imágenes tomográficas como se muestra en la *–Figura 4.13-*.



Figura 4.13.- Esquema del arreglo SOCT con dos sensores y la muestra de tejido arterial, donde DH2= divisor de haz con recubrimiento de oro (50:50), C2= sensor CMOS (1024 X 1280 pixeles a 8 bits).

La finalidad de ambos sensores es la de empatar ambas imágenes obtenidas del haz difractado, no sacar un promedio de las imágenes [75-77], para esto se realiza una aproximación de las imágenes combinadas de ambos sensores manualmente, obteniendo una imagen casi completa del espectro.



Figura 4.14. Ejemplos de los diferentes casos en como el sensor registra el haz del SLD, (a) los dos sensores registran en la misma parte del haz y (b) Se registran partes complementarias del haz entre los dos sensores.

Las imágenes obtenidas son empalmadas gracias al arreglo de los sensores, observando que ambos sensores no registren la misma parte del espectro (excepto una pequeña franja de traslape), como se puede observar en la *-Figura 4.14 (b)-*. Esto permite obtener una imagen como la que se observa en la *-Figura 4.15-*.



Figura 4.15.- Patrón de interferencia de tejido orgánico formado por los dos sensores ya calibrado manualmente.

De la imagen de la *-Figura 4.15-* se obtiene la imagen tomográfica mostrada en la *-Figura 4.16-* en la cual se puede observar una mayor resolución comparándola con la imagen mostrada en la *-Figura 4.10-*.





4.3 Resultados preliminares: Mejoramiento de imágenes tomográficas

Casi siempre toda técnica de obtención de imágenes tomográficas se acompaña del procesamiento digital de imágenes. Para este trabajo se desarrolló un programa el cual aplica diversos algoritmos que permiten mejorar las imágenes y tener una mejor reconstrucción tomográfica.

Las imágenes fueron tomadas de dos grupos de muestras, unas con la pared arterial plana y otro grupo con su forma original –cilíndrica-, de las cuales, parte del primer grupo se utilizó con la finalidad de conocer el esparcimiento que se obtiene de la arteria y como afecta la reconstrucción de la imagen interna (ver - *Figura 4.17*-).



Figura 4.17.- Arterias utilizadas (a) en forma cilíndrica y (b) en forma plana para escaneo.

Para la obtención de la imagen tomográfica presentada en la *-Figura 4.16-* se realizó un empate de las imágenes obtenidas por el sensor C1 y el sensor C2, una alineación, nivelación y rotación manual como una primera etapa.

Para el acoplamiento de las imágenes se tomó en cuenta, que la respuesta de los sensores a pesar de tener las mismas especificaciones, presentan diferencias en intensidad (ver *-Figura 4.18-*).



Figura 4.18.- Diferencia entre las intensidades de C1 y C2.

Es por ello que en primer lugar un algoritmo de ajuste de intensidad se aplica y permite que una vez obtenida la imagen se nivelen las intensidades de ambos sensores como se ve en la *–Figura 4.19-*.



Figura 4.19.- Imagen de espectro completo con algoritmo de igualación de intensidad aplicado.

Ambos sensores deben tener el mismo ángulo de inclinación con respecto al espectro del SLD, y aun con el ajuste manual es necesario aplicar un algoritmo de corrección de ángulo más fino. Esta parte del algoritmo está basada en la ecuación de la pendiente, que toma un valor a igualar de uno de los dos sensores y compensa el otro de acuerdo a este valor. Lo anterior permite tener un espectro completo con el mismo ángulo de inclinación. Posteriormente un algoritmo realiza una alineación de pixeles en el eje Y así como en el eje λ . Esto empalma ambas imágenes y genera un espectro uniforme como el que se muestra en la *–Figura 4.20-* y el cual se considera como la imagen base.



Figura 4.20.- Imagen del espectro obtenido del sistema SOCT con dos cámaras, con el algoritmo de alineación aplicado.

De ésta imagen base, se obtiene una nueva imagen tomográfica sin realizar ningún tipo de PDI y que se observa en la *–Figura 4.21-* en la cual es evidente el mejoramiento de la imagen del tejido.



Figura 4.21.- Imagen tomográfica obtenida del espectro de la figura 4.20.

Hasta éste punto, no se ha aplicado ningún tipo de filtrado o PDI para mejorar la señal de las imágenes tomográficas. Un paso previo al PDI es seleccionar una región de interés (ROI por sus siglas en inglés). Esta región es donde se encuentra contenido el espectro solamente.

En la ROI se aplica un algoritmo de linearización para mantener una región lineal de la distribución del $\Delta\lambda$ cambiándolo a un espacio $k=2\pi/\lambda$ [19, 74]. Posteriormente se aplican los algoritmos de las funciones ventana. En la *-Figura 4.22-* se muestra un comparativo de las ventanas -Hann y Hamming-utilizadas en la imagen base.



Figura 4.22.- (a) filtro Hann, (b) filtro Hamming.

De lo anterior se desprende que se pueden utilizar estas ventanas de acuerdo al tipo de señal que se tenga. Bien pueden ser usados en forma independiente o conjunta. Posterior al PDI se aplica el algoritmo basado en Fourier para obtención de la imagen tomográfica (*-Figura 4.23-*).



Figura 4.23.- Imagen tomográfica de una arteria con el sistema de 2 cámaras y mejoramiento por PDI.

Ya con la imagen interna del tejido, se aplican una combinación de diversos filtros pasa altas y pasa bajas, con la intención de emular lo que se obtiene con ultrasonido y que permite la detección de bordes y segmentos de interés. Lo anterior requirió un algoritmo estratificado de varias ROIs que se procesan por separado y que generan una sola imagen tomográfica en donde el tejido es resaltado en busca del colesterol. Finalmente, se aplican algoritmos espaciales que ayuden a distinguir mejor la sección con información tomográfica como se muestra en la -Figura 4.24-.



Figura 4.24.- Imagen tomográfica con algoritmos de estratificación y espaciales.

Otro factor considerado para el incremento de la resolución y mejoramiento de imagen tomográfica, fue el cambio de la sustancia con la cual se mantenía húmeda la muestra [77, 78, 79, 80]. Esto incrementa considerablemente el tiempo en el cual la muestra se deshidrata, favoreciendo el esparcimiento en la muestra. En el diagrama de la *–Figura 4.25-* se describe el proceso de mejoramiento.





4.3.1 Escala de color para imágenes tomográficas.

Para la presentación de la imagen tomográfica es vital seleccionar el o los colormap que se van a utilizar. Para ello se realizaron diversos algoritmos de pseudocolor, ya que el cambio de los colores permite ver más o menos detalles de la imagen.

El efecto de estos pseudocolores depende de la intensidad obtenida en la imagen tomográfica, debido a que el ser humano puede distinguir más colores que tonos de gris. En la *-Figura 4.26-* se presentan diversos pseudocolores utilizados para la presentación de una misma información [81-84].

El pseudocolor que se presenta en la *–Figura 4.27-* permite mejorar la apreciación e interpretación de la imagen tomográfica tanto de forma artificial como humana aplicando el algoritmo de PDI en color.







Figura 4.27.- Imagen tomográfica final obtenida mejorando el pseudocolor de la -Figura 4.22-

4.3.2.-Comparacion de SOCT con un sensor v.s. dos sensores

Como un último ejercicio, se presentan las imágenes que se obtienen con un mismo sistema SOCT que tenga uno y dos sensores. En la *-Figura 4.28-* se muestra el caso en donde la imagen tomográfica para uno y dos sensores se despliega sin algoritmos de PDI en ellas. Y en la *-Figura 4.29-* se muestra el caso en donde la misma imagen para uno y dos sensores se despliega con todos los algoritmos de PDI.



Figura 4.28.- Comparación de imágenes obtenidas con (a) un sensor y con (b) dos sensores sin PDI de una arteria pulmonar. Es evidente la mejora de resolución con los dos sensores.



Figura 4.29.- Comparación de imágenes obtenidas con (a) un sensor y con (b) dos sensores con PDI de una arteria pulmonar. La resolución y señal se incrementa con los dos sensores.

4.4 Resultados finales.

En esta sección se presentan los resultados obtenidos con el sistema SOCT de dos sensores en diversas muestras de tejido arterial, en su mayoría de arterias coronarias pulmonares. En las muestras que no se encontró colesterol, el absceso fue emulado e infiltrado en el tejido endotelial de las arterias como se muestra en la -Figura 4.30-.



Figura 4.30.- Inserción del colesterol dentro de las paredes de la arteria.

Las distintas muestras utilizadas se pueden observar en la *-Figura 4.31-*, estas muestras fueron extraídas minuciosamente y conservadas para su análisis [ver Anexo A].



Figura 4.31.- Diferentes muestras de arteria pulmonar analizadas (a) tejido sano, (b) tejido con colesterol y (c) tejido con colesterol emulado.

En la -Figura 4.32- se observan las imágenes tomográficas de tejido arterial sano pero obtenidas con diferentes grados de deshidratación. Esto evidencia la necesidad de re hidratar el tejido constantemente en lapsos no mayores a 5 minutos durante las pruebas. Esto garantiza dos cosas: las propiedades fisiológicas de las muestras y la resolución y penetración del sistema óptico.



Figura 4.32.- Señal tomográfica de un (a) tejido hidratado y de un (b) tejido deshidratado.

El escaneo realizado en las muestras no es continuo, éste es indicado por flechas en la *-Figuras 4.33-* y que se llevan a cabo en un tiempo no mayor de 6 minutos. Lo anterior es posible controlando también la temperatura del laboratorio –no mayor a 20°C–.

De la arteria de la *-Figura 4.31(a)*- se obtuvieron los resultados que se muestran en las *-Figuras 4.33, 4.34 y 4.35*-. En estas imágenes se comprueba que el sistema es capaz de obtener imágenes tomográficas de tejido endotelial y realizar una reconstrucción del mismo. Estas imágenes muestran tejido sano y que sirve para obtener un parámetro base de las arterias que servirá para diferenciar entre tejido endotelial con y sin colesterol.



Figura 4.33.- Imagen tomográfica de tejido arterial sano escaneado en la trayectoria 1.



Figura 4.34.- Imagen tomográfica de tejido arterial sano escaneado en la trayectoria 2. Se puede observar la irregularidad que presenta el tejido arterial sin colesterol con un tiempo de deshidratación de 5 minutos.



Figura 4.35.- Imagen tomográfica de tejido arterial sano escaneado en la trayectoria 3, con un tiempo de deshidratación de 2 minutos y en donde se observa la cambiante topografia de la arteria.

De las imágenes anteriores se puede observar cómo cambia la forma de la arteria de una sección a otra. La resolución del sistema permite construir la topografía del tejido mostrado en la *-Figura* 4.31(a)-. Para el caso de la *-Figura* 4.31(b)- es evidente el absceso de colesterol ubicado dentro del tejido arterial y el escaneo que se realizó arrojó los resultados presentados en las *-Figuras* 4.36, 4.37, 4.38 y 4.39-.



Figura 4.36.- Imagen tomográfica de la arteria con colesterol con un tiempo de deshidratación de 4 minutos en la trayectoria 1.



Figura 4.37. Absceso de colesterol registrado por el sistema en la trayectoria 2.







Figura 4.39.- Imagen tomográfica del lado impermeable de la arteria en la trayectoria 4.

Como se describió en el *Capitulo 2* una capa de la arteria es impermeable para evitar la filtración de fluido, por esto se realizo el último escaneo de esta parte de la muestra (*-Figura 4.39-*) en la cual se observa una mejor reconstrucción del tejido arterial interno. Para este tejido se logró reconstruir gran parte de él, comprobando que si existe una diferencia entre regiones cercanas donde existe tejido sano y tejido con colesterol.

Para el tejido mostrado en la *-Figura 4.31 (b)-* se realizan escaneos en varias regiones donde hay cambio de tejido sano al que está afectado por el colesterol. Este es colesterol emulado infiltrado dentro de la arteria. De las imágenes obtenidas se ve la diferencia entre ambos segmentos de tejido *-Figuras 4.40 y 4.41-*.



Figura 4.40.- Imagen donde se puede observar el inicio del segmento arterial en la trayectoria 1.



Figura 4.41.- Reconstrucción tomográfica donde se observan varias secciones en la topografía en el trayecto 2.

Las imágenes anteriores muestran distintas arterias con diversos grados de daño por colesterol. Pero una posibilidad de este sistema es no solo grabar imágenes fijas, sino que al desplazar el objeto es posible reconstruir un video que abarque escaneos de hasta 10 mm.

Como una última prueba se realizó un escaneo de la arteria en vivo logrando la reconstrucción tomográfica continua de la superficie arterial recorriendo una distancia de aproximadamente 8 mm. La muestra utilizada para este escaneo es la que se observa en la *-Figura 4.42-*. Esta muestra tiene no menos de 12 hrs. post mortem y contiene colesterol emulado infiltrado en ella. Para su conservación se utilizó la solución presentada en la *-Tabla A.1-* del anexo A.



Figura 4.42.- Segmento de arteria con colesterol emulado usada para el escaneo continúo de largo alcance.

Los resultados de este escaneo extenso se pueden observar en las *– Figuras 4.43, 4,44, 4.45-* que son de distintos instantes dentro de la prueba.



Figura 4.43.- Imagen de la arteria en un instante.



Figura 4.44.- Imagen de la arteria en un instante posterior al mostrado en la -*Figura 4.43*-



Figura 4.45.- Imagen de la arteria en un instante posterior al mostrado en la -*Figura 4.44*-

La imagen de la – *Figura 4.46*- se obtuvo de la reconstrucción en vivo de varios instantes y se observa un segmento arterial de 2.8 mm de longitud. Lo anterior, permite reconstruir grandes segmentos de tejido donde hay diversos tipos de tejido (sano o dañado). Lo anterior, sumado a los

algoritmos de PDI y dos sensores permite obtener imágenes tomográficas de alta resolución y penetración con elementos de bajo costo. Esto último es una de las mayores contribuciones de este trabajo de tesis.



Figura 4.46.- Imagen obtenida de un segmento del escaneo continuo aproximadamente 2.8 mm realizado a la arteria en donde se puede observar el absceso de colesterol.

Tomando como base la arteria de la *-Figura 4.42-* se realizó un escaneo completo de ella. En la *-Figura 4.47-* se observa dicho escaneo completo en un trayecto de 8mm. Es posible observar las regiones que tenían colesterol infiltrado en ella, aún después de procesar y armar ésta imagen.



Capitulo 5.-

Discusión y conclusiones.

Capitulo 5.- Conclusiones.

5.1 .- Discusión y conclusiones generales

El presente trabajo de tesis logró emular en arterias pulmonares la presencia de colesterol entre sus paredes. Estas son inspeccionadas en forma extendida (cortando la arteria) y normal (sin cortes). A pesar de que esto último modifica sin lugar a dudas las circunstancias con las que normalmente se encuentra una arteria, permiten realizar una primera aproximación de la respuesta de estos tejidos al sistema óptico propuesto. Lo anterior trajo consigo el reto de mantener en todo momento hidratada en forma artificial la arteria, llegando así al desarrollo de una solución que permite mantener el tejido hidratado en forma óptima. Las infiltraciones del colesterol en las arterias permitió generar distintos tipos de saturación del mismo y que fueron grabados por el sistema tomográfico. Para conseguir el colesterol emulado se recurrió a enlaces multidisciplinarios con personas involucradas en diversas ciencias de la medicina.

Con el sistema de OCT propuesto fue posible obtener imágenes tomográficas de la estructura interna del tejido arterial con una resolución de unas cuantas decenas de micras. Esto se muestra a través de imágenes bidimensionales dentro de la muestra en una sola captura. De las imágenes obtenidas se puede observar que cuentan con una resolución en la imagen tomográfica que es comparable a la de los sistemas comerciales. Un ejemplo de lo anterior son las imágenes arteriales del sistema C7-XRTM OCT de la compañía St, Jude Medical TM.

Para obtener esa resolución, se utilizaron dos sensores CMOS de bajo costo cuya información es procesada por medio de algoritmos de mejoramiento o PDI. Estos algoritmos permiten obtener más información en capas más internas del tejido mejorando la resolución de la estructura de la arteria. Lo anterior, permite detectar exitosamente el colesterol aún en concentraciones pequeñas dentro de las paredes de la arteria.

El objetivo principal de esta investigación es proponer un medio alternativo de diagnóstico médico más acertado acerca de la presencia de abscesos de colesterol en el tejido arterial. Por ello se hizo énfasis en el procesamiento robusto de imágenes que por separado no darían mucha información del tejido, pero juntas pueden llegar a resoluciones equiparables a imágenes de alta resolución. En cuestión de almacenamiento de información, gran parte de los algoritmos aplicados manejan un control estadístico mediante un banco de imágenes. Esto evita el obtener un promedio de ellas y la implementación de especialistas en estudio de imágenes, ya que el sistema OCT presentado lo hace por medio de PDI.

5.2 .- Trabajo a futuro.

Se demostró que la obtención de información tomográfica de los tejidos está relacionada directamente con los diversos agentes bioquímicos que los conforman y su preservación. Esto permite obtener registros de agentes bioquímicos como el colesterol dentro de la arteria. Pero este punto fue crítico, debido a que la muestra estaba en contacto con un medio (aire) al que normalmente no está expuesta. A futuro, el sistema se desarrollará en función de llegar al lugar de la arteria en forma de catéter y en donde no existe esa limitación en la hidratación. Este sistema OCT deberá ser mucho más compacto, para esto será necesario el estudio de diferentes opciones de hardware para compactar tanto la óptica como la fuente, teniendo como finalidad el implementar el sistema en el estudio de arterias con diámetros extremadamente pequeños.

En cuanto a la profundidad o grado de penetración para la reconstrucción tomográfica es necesario el uso de diferentes fuentes de iluminación para incrementar la señal de la muestra al sistema. También un tema que se debe mejorar son las circunstancias y condiciones fuera del laboratorio. El sistema debe soportar vibraciones, ruido, etc., factores que limitan sistemas similares a que sean susceptibles de ser comercializados. Un punto importante en el desarrollo del sistema y la obtención de las muestras, fue la emulación del colesterol; para lograr que ésta sea casi 100% exacta, se consulto en la literatura y con diversos especialistas en la materia. Cabe señalar que este tema es toda una área de investigación médica, química y biológica, la cual está en desarrollo, muy similar al caso de la sangre.

En cuanto a los algoritmos de PDI es necesario seguir desarrollándolos y probar diversas combinaciones para la obtención de imágenes OCT. Esto es toda una área de investigación en OCT gracias a la cual se obtienen las imágenes que actualmente sirven de diagnóstico en los sistemas aplicados en oftalmología. También es necesaria la obtención de datos de diversos compuestos biológicos encontrados a lo largo de este trabajo y que influyen directamente en el desarrollo de la enfermedad. Por último, es necesario probar una futura generación del sistema con seres vivos y realizar diversos escaneos en tiempo real, así como también la obtención de diversos parámetros del tejido –dimensiones, topografía, esfuerzos, etc-.

Referencias.

REFERENCIAS

- [1].- E. Hecht, "Óptica", E.D. Pearson, Addison-Wesley 3era. edición 2003.
- [2].- D. Malacara, "Óptica Básica", Editorial: FCE (Fondo de cultura económica), 5ta. Edición.
- [3].- D. Malacara, Z. Malacara, M. Servin, "Handbook of Optical Design". 2da Edicion Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. León, México.
- [4].- M. Servin, D. Malacara "Handbook of Optical Engineering", Centro de Investigaciones en Optica, A.C. León, Mexico, (University of Rochester, Rochester, New York, Copyright © 2001).
- [5].- K. J. Gasvik, J. Wiley," *Optical metrology*", Editorial Wiley, 3era edition (2002).
- [6].- Melles Griot, "Fundamental Optics", Edición 2011
- [7].- Thorlabs Catalog V2.1
- [8].- M. Brezinski, "Optical Coherence Tomography", Academic Press, 1era Edición, (September 8, 2006).
- [9].- Y. Teramura, M. Suekuni and F. Kannari, *"Two-dimensional optical coherence tomography using spectral domain interferometry"*, 2000 J. Opt. A: Pure Appl. Opt. 2 21.
- [10].- A. Fercher, W. Drexler, C.K. Hitzenberger and T. Lasser, "Optical coherence tomographyprinciples and applications", 2003 Rep. Prog. Phys. 66 239.
- [11].- B. E. Bouma, G. J. Tearney, *"Handbook of Optical Coherence Tomography"*, Marcel Dekker, Inc.2002.
- [12].- Tuan Vo-Dinh, "Biomedical Photonics Handbook", CRC Press 2002.
- [13].- Wolfgang Drexler, James G. Fujimoto, "Optical coherence tomography Principles and Applications", Springer 2007.
- [14].- Rollins, A. M. and J. A. Izatt, "Optimal interferometer designs for optical coherence tomography", Opt. Let. 24 1484 (1999).
- [15].- Hauger, C., M. Worz, "Interferometer for optical coherence tomography", App. Opt. 42 3896 (2003).

- [16].- R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, and A. F. Fercher, "Performance of fourier domain vs. Time domain optical coherence tomography", Department of Medical Physics, University of Vienna, Waehringerstr. 13, A-1090 Vienna, Austria.
- [17].- A.F. Fercher, R. Leitgeb, CK Hitzenberger, H Sattmann, M Woitkowski, "Complex spectral interferometry OCT", Proc SPIE 3564:172--178, 1998.
- [18].- Y. Teramura, M. Suekuni and F. Kannari, *"Two-dimensional optical coherence tomography using spectral domain interferometry"*, Journal of Optics A: Pure Appl. Opt. 2, 21-26 (2000).
- [19].- Manuel H. De la Torre-Ibarra, Pablo D. Ruiz and Jonathan M. Huntley, "Double-shot depthresolved displacement field measurement using phase-contrast spectral optical coherence tomography", Optics Express OSA 16 October 2006.
- [20].- F. Fercher, C.K. Hitzenberger, G. Kamp, S.Y. El-Zaiat, "Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry", Opt.Commun. 117, 43-48 (1995).
- [21].- C. Hauger, M. Worz, "Interferometer for optical coherence tomography", App. Opt. 42 3896 (2003).
- [22].- A.B. Vakhtin, D. J. Kane, "Common-path interferometer for frequency domain optical coherence tomography", App. Opt. 42 6953 (2003).
- [23].- M. R. Neuman, R. M. Rangayyan, "The BIOMEDICAL ENGINEERING", University of Calgary, CRC Press LLC Calgary, Alberta, Canada 2005.
- [24].- R. C. Gonzalez And R. E. Woods,"Digital Image Processing", Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 2002.
- [25].- R.C. Gonzalez, "Digital Image Processing Using MATLAB", Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, USA ©2000.
- [26].- G. Doughetry, "Digital Image Processing for Medical Applications", Cambridge University Press 2009.
- [27].- I. Bankman, "Hand Book of Medical Imaging", 2da edicion, Academic Press, 2000.
- [28].- IEEE Signal Processing Society.
- [29].- Secretaría de Salud, "Dirección General de Información en Salud (DGIS)", Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS).
- [30].- J. F. Guadalajara, "Cardiología", Editorial Méndez Editores, 6ta edición,
- [31].- Moore, Dalley, "Anatomía con orientación clínica", Editorial médica panamericana, Cuarta Edición.

- [32].- F. Quiroz, "Anatomía Humana I-III", Editorial Porrúa, (40ª edición).
- [33].- Sodeman, "Fisiopatología Clínica", Editorial Panamericana, 5ta Edición.
- [34].- Laraljet, Ruiz, "Anatomía Humana Tomo I", Editorial P, 4ta edición.
- [35].- Lehninger, Nelson Cox, "Principios de Bioquímica", Editorial OMEGA, 3era edición.
- [36].- C. S. Pedrosa, "Diagnostico por Imagen Compendio de Radiología Clínica", McGraw-Hill.
- [37].- K.R. Nill, "Glossary of biotechnology terms", CRC Press., 3rd ed.
- [38].- GG. Hartnell, J. Gates, "Diagnostic Radiology: A Textbook of Medical Imaging", Ischaemic heart disease. 5th ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 2008:chap 25.
- [39].- T Nicholson, J. Patel, "*Diagnostic Radiology: A Textbook of Medical Imaging*", Churchill Livingstone, 5th ed., New York, NY.
- [40].- JJ Popma, "Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine", 8th ed.Philadelphia, Pa: Saunders Isevier, 2007.
- [41].- TD Jr Fraker, SD Fihn, RJ Gibbons, J Abrams, Chatterjee K, Daley "Chronic angina focused update of the ACC/AHA 2002 Guidelines for the management of patients with chronic stable angina: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Writing Group to develop the focused update of the 2002 Guidelines for the management of patients with chronic stable angina." Circulation 2007.
- [42].- CJ Davidson, RO. Bonow, "Cardiac catheterization. Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine", Saunders Elsevier, 8th ed.
- [43].- N. Mahajan, L. Polavaram, H. Vankayala, "Diagnostic accuracy of myocardial perfusion imaging and stress echocardiography for the diagnosis of left main and triple vessel coronary artery disease: a comparative meta-analysis", Heart 2010.
- [44].- TD Jr Fraker, SD Fihn, RJ Gibbons, "Chronic angina focused update of the ACC/AHA 2002 Guidelines for the management of patients with chronic stable angina: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Writing Group to develop the focused update of the 2002 Guidelines for the management of patients with chronic stable angina", Circulation. 2007.
- [45].- HM Connolly, JK Oh, "Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine.", Saunders Elsevier, 9th ed.
- [46].- L. Ganz, E. Curtiss, "Electrocardiography", Saunders Elsevier, 23rd Ed.

- [47].- AS Shaw, AK Dixon, "*Diagnostic Radiology: A Textbook of Medical Imaging*.", Churchill Livingstone, 5th ed.
- [48].- R.R. Necoecher, A C. Pijoan, "Diagnostico de las enfermedades del cerdo", Eds. Ramiro Ramírez, 1era. Edición.
- [49].- S. Sisson, J.D. Grossman, "Anatomía de los animales domésticos", Editorial Salvat, 4ta Edición.
- [50].- N.S. Van Ditzhuijzen, M.Van den Heuvel, O.Sorop, R.W.B. Van Duin *"Invasive coronary imaging in animal models of atherosclerosis"*, Neth Heart J DOI.
- [51].- *"Organ Transplants from Animals: Examining the Possibilities."*, Fda.gov. Consultado el 06-11-2008.
- [52].- J.G. González, K. Verlag, "Infection Risk and Limitation of Fundamental Rights by Animal-To-Human Transplantations". Hamburg (Germany).
- [53].- M. Bazán, N. González y L. Delgado, "Hospital Clínico quirúrgico Hermanos Ameijeiras Limitantes y expectativas: Xenotransplante.", Rev Cubana Cir v.43 n.2 Jun 2004.
- [54].- D.J. White, N. Yannoutsos, "Production of pigs transgenic for human DAF to overcome complement-mediated hyperacute xenograft rejection in man". Res Immunol 1996.
- [55].- JL. Platt, "New directions for organ transplantation", Nature 1998.
- [56].- Dorling A, Riesbeck K, Warrens A, Lechler R. "Clinical xenotransplantation of solid organs". Lancet 1997.
- [57].- A. Caplan, "The case for using pigs." Bull World Health Organ 1999; 77:67-8.
- [58].- R. Máñez , "La vanguardia ciencia y salud xenotrasplantes", Septiembre 1996
- [59].- C. Zaragoza, C. Gomez-Guerrero, J. Luismartin-Ventura, "Animal models of Cardiovascular Diseases", Journal of Biomedicine and Biotechnology, Volume 2011.
- [60].- M. Kawasaki, B. E. Bouma, J. Bressner, S.L. Houser, "Diagnostic Accuracy of Optical Coherence Tomography and Integrated Backscatter Intravascular Ultrasound Images for Tissue Characterization of Human Coronary Plaques", Journal of the American College of Cardiology.
- [61].- Journal of the American College of Cardiology, Vol. 48, No. 1, 2006
- [62].- M. Zakharova, V. A. Nasonova, "An Investigation of the Optical Properties of Cholesterol Crystals in Human Synovial Fluid." Crystallography Reports, 2009.

- [63].- M. George, V. Ajay, P. K. Sudhadevi Antharjanam, M. Saminathan "Synthesis and studies of nonlinear optical an photswitching proprieties of some cholesterol-linked azobeneze derivatives", Das Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology, Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals, Volume 350, Issue 1, 2000 pages 125-139.
- [64].- R. J. Deckelbaum, G.Halperin, and D. Atkinson, "Thermal transitions and structural properties of synthetic cholesterol alkyl and alkenyl ethers: analogues of biological cholesterol esters", Journal of Lipid Research Volume 24, 1983.
- [65].- I. Jang, B. E. Bouma, "Visualization of Coronary Atherosclerotic Plaques in Patients Using Optical Coherence Tomography: Comparison With Intravascular Ultrasound", Journal of the American College of Cardiology Vol. 39.
- [66].- E. Regaraj. A. Schaarae, M.R. Virmani, P.W. Serruys "Optical coherence tomography", Cardiovascular Radiation Medicine 2003.
- [67].- T. Kume, H. Okura, R. Yamada, *"Assesment of coronary calcification by optical coherence tomography"*, Euro Intervention 2010, Clinical research.
- [68].- J.Yin, X. Li, J. Jing, "Novel combined miniature optical coherence tomography ultrasound probe for in vivo intravascular imaging", Journal of Biomedical Optics, SPIE digital library, June 2010.
- [69].- L. M. Ellwein, H. Otake, T. J. Gundert, B. Koo, "Optical Coherence Tomography for Patientspecific 3D Artery Reconstruction and Evaluation of Wall Shear Stress in a Left Circumflex Coronary Artery", Cardiovascular Engineering and Technology (2011).
- [70].- E. Regar, J. Ligthart, N. Bruining, G. van Soest *"The diagnostic value of intracoronary optical coherence tomography"*, Herz 2011 · 36:417–429.
- [71].- J. G. Fujimoto, S. A. Boppart, G. J. Tearney, B. E. Bouma, C. Pitris, M. E. Brezinski "*High resolution in vivo intra-arterial imaging with optical coherence tomography*", Heart 1999.
- [72].- Lida P. Hariri, Brett E. Bouma, Sergio Waxman, Milen Shishkov, Benjamin J. Vakoc, Melissa J. Suter, Mark I. Freilich, Wang-Yul Oh, Mireille Rosenberg, and Guillermo J. Tearney, "An automatic image processing algorithm for initiating and terminating intracoronary OFDI pullback", Biomedical Optics Express 2010 OSA.
- [73].- M. A. Choma, "Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography", Opt. Exp. 11, 2183 (2003).

- [74].- J. F. de Boer, "Improved signal- to-noise ratio in spectral-domain compared with timedomain optical coherence tomography", Opt. Let. 28, 2067 (2003).
- [75].- J. Gluckstad, P. C. Mogensen, "*Optimal phase contrast in common-path Interferometry*", Applied Optics, January 2001.
- [76].- B. D. Goldberg, B. J. Vakoc, W. Oh, M. J. Suter, S. Waxman, B. E. Bouma, G. J. Tearney *"Performance of reduced bit-depth acquisition for optical frequency domain imaging"*, 2009 Optical Society of America.
- [77].- J. Yoo, I.V. Larina, V. K.irill, M. E. Dickinson, M. Liebling, "Increasing the field-of-view of dynamic cardiac OCT via post-acquisition mosaicing without affecting frame-rate or spatial resolution", Biomedical Optics Express OSA September 2011.
- [78].- M. Wojtkowski, "Ultrahigh-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation", Opt. Exp. 12, 2404 (2004).
- [79].- B. Cense, "Ultrahigh-resolution high-speed retinal imaging using spectral domain optical coherence tomography", Opt. Exp. 12, 2435 (2004).
- [80].- S.N. Ivers, S.A. Baranov, T. Sherlock, K. Kourentzi and V. Kirill, "Depth-resolved imaging and detection of microretroreflectors within biological tissue using Optical Coherence Tomography", Biomedical Optics Express, 1 September 2010 / Vol. 1, No. 2.
- [81].- H. Shen, H. Zhang, J.H. Xin, S. Shao "Optimal selection of representative colors for spectral reflectance reconstruction in a multispectral imaging system", Applied Optics, 1 May 2008
 / Vol. 47, No. 13 .
- [82].- S. Beaton, H. Ishikawa, G. Wollstein1, L.A. Paunescu1, J.G. Fujimoto, J.S. Schuman "Alternate Color Scheme for OCT Images: A Pilot Study", Invest Ophthalmol Vis Sci 2003.
- [83].- Y. Yasuno, A. Miyazawa, M. Yamanari, *"Enhancing tissue-contrast imaging of the anterior eye"*, SPIE Newsroom.
- [84].- K.Yu and L. Ji, "How to optimize OCT image", Optics Express OSA, Vol. 9, No. 1
Anexo A.-

Preparación de las muestras.

Anexo A.- Preparación de muestras.

Se consiguieron diversas muestras de arterias y corazones porcinos, estas muestras eran cuidadosamente preparadas para ser utilizadas en el laboratorio *–Figura A.1–*.



Figura A.1.- En esta imagen mostramos el corazón obtenido.

Las muestras que se utilizaron no tenían más de 48 hrs. post mortem, estas debían de ser limpiadas para su conservación. Se mantenían a una temperatura de 5°C, para esto se prepararon cuatro diferentes soluciones, en las cuales se introdujo una porción de la muestra a cada una para así cuantificar el cambio en cuanto a nivel de conservación (ver tabla A.1).

Liquido	Conservador	Cantidad (%) Liquido/Conservador	Temperatura de almacenamiento (°C)	Grado de conservación
Agua (Purificada)	Sal de grano Cl ₂ Na	70/30	5	Mala con descomposición rápida.
Agua (Destilada)	Sal de grano Cl ₂ Na	70/30	5	Medio con pérdida de flexibilidad.
Agua (Destilada)	Sal de rehidratación Oral (Vida suero oral)	60/40	5	Bueno con mayor tiempo de conservación
Agua (Destilada) y Alcohol	Sal de rehidratación Oral (Vida suero oral)	40/20/40	5	Bueno con pérdida de color en las muestras

 Tabla A.1. Comparación de las diferentes mezclas, utilizadas para la conservación de las muestras.

Siendo el agua destilada con sal de rehidratación oral la que mejor conservaba la muestra y presentaba un grado muy bajo de descomposición y un menor daño al tejido por sumergirlo en la solución. En cuanto a la cantidad de colesterol en las muestras, varias de estas no contenían saturación alguna de colesterol, para esto se inspeccionaron con un microscopio portátil, en estos

casos se previeron varios métodos para la emulación del colesterol dentro del tejido analizando, el nivel de saturación, profundidad de almacenamiento del colesterol y propiedades bioquímicas y ópticas de estas.

En las substancias se busco las que generaran más acido palmítico, el cual es uno de los generadores de colesterol junto con los triglicéridos. Está claro que no se puede emular al 100% el colesterol con diversas sustancias debido a la cantidad de procesos bioquímicos que ocurren para llegar a este, en la literatura se encontró que las substancias más comunes con las que se puede contar para la emulación son manteca (Cerdo), mantequilla, margarina y caramelo.

En la -Figura A.2- se observan tres muestras utilizadas para emular el colesterol, se utilizo un compuesto con alto contenido de acido palmítico -uno de los componentes del colesterol- para infiltrar las muestras de tejido arterial que no contenían colesterol. Para este proceso fue necesaria la asesoría de varios médicos tanto cardiólogos, cirujanos cardiólogos, médicos generales y químicos.





A.1.- Proceso de extracción

Se preparo el área de trabajo para la extracción y limpieza de las muestras, para realizar los cortes necesarios en la muestra se utilizó un estuche de disección (ver -Figura A.3b-). Se procedió a seccionar el corazón de cerdo para definir las diferentes partes que lo conforman y realizar la extracción del tejido de interés. Observando las diferentes capas y las fibras musculares que lo conforman siendo notorio que estas estructuras no distan de las de un corazón humano (*Figura A.3a*).



Figura A.3.- La imagen (a) muestra el corazón obtenido y su ubicación respecto a un cuerpo humano (b) kit de disección utilizado para obtener las arterias y venas del corazón.

Posteriormente, se enjuaga la muestra, para quitar el exceso de sangre que contiene, antes de llevarla al laboratorio para realizar la extracción de la muestra, en el área de trabajo se coloca la muestra, para esto se deben identificar claramente las diferentes estructuras que conforman el corazón antes de realizar los corte, como se observa en la -Figura A.4-.



Figura A.4. Diversas imágenes del corazón utilizado para la extracción de la muestra (a) vista trasera, (b) la vista superior y (c) la vista frontal del corazón, donde observamos la ubicación de las venas y arterias.

Una vez ubicadas las diferentes estructuras, se empieza a realizar pequeños cortes para ir ubicando la arteria y no dañar el tejido que se va a analizar. Para ello se utiliza una hoja quirúrgica #25. Una muestra de cómo se realizan estos cortes se observa en la figura A.5.



Figura A.5.- Imagen donde (a) se muestra la ubicación de las arterias a extraer, (b) una vez ubicadas, se utilizo una hoja quirúrgica #25 para realizar los cortes, (c) demostración de los cortes realizados.

Los cortes se deben realizar con mucho cuidado para no dañar la muestra y que este en el mejor estado posible para realizar las pruebas, realizando los cortes en diversos sentidos dependiendo del tipo de arteria o vena que se estaba extrayendo y del sentido de las fibras musculares, para esto la muestra debe poder maniobrarse fácilmente. Esto se observa en la -Figura A.6a y b-.





En el proceso de extracción se puede observar la constitución y forma de las fibras musculares dentro del corazón. Se debe de conocer la diferencia y función de las venas y arterias que sirven para el estudio, dejando también en claro que el sistema circulatorio es un sistema cerrado, en el cual afecta de igual manera que una vena o una arteria estén bloqueadas. Para la extracción de la vena mostrada en la -Figura A.7(b).- fueron realizados cortes más pequeños y con mayor precisión, mediante los cuales se intento extraer la mayor cantidad del tejido venoso sin crear daño en el mismo en la -Figura A.7- se observa la ubicación y el tamaño de la vena.

Como se puede observar con claridad en la -Figura A.8(a)- la vena presenta un sinfín de conexiones siendo esta la encargada de irrigar de sangre los tejidos cardiacos, para la extracción se necesitó realizar el corte de la vena siguiendo el tronco con el mayor diámetro, llegando a un punto donde se decide cortar la vena para continuar con la extracción de las arterias.



Figura A.7.- Diferencia de tejidos (a) fibras musculares estriadas, (b) fibras musculares lisas.



Figura A.8.- En esta imagen se puede observar la ubicación de una vena la cual fue utilizada también como muestra.

Para la extracción de la arteria es necesario la retracción de tejido circundante a la misma, con el fin de crear el espacio para trabajar como se observa en la -Figura A.9-, para esto fue necesario desgarrar de forma controlada el tejido muscular que se presento cerca de la arteria parte de este proceso se puede observar en la -Figura A.10-.

Una vez realizado esto, la liberación de la arteria se facilitó debido a que solo restaba la extracción de la raíz, donde se puede comprobar el tamaño real de la arteria.





En estas imágenes se observa cómo se realizo el corte para liberar tejido y poder extraer la arteria (a), en (b) se aprecia el diámetro de la arteria.



Figura A.10.- Retracción del tejido para permitir poco a poco la liberación de la arteria, primero con (a) la mano y después con (b) las pinzas

Por último se procede a cortar la raíz arterial como se observa en la *-Figura A.11 y A.12-* es un conjunto de fibras musculares, las cuales presentan una resistencia mayor a la del resto del tejido cardiaco.



Figura A.11.- Imagen donde (a) se observan las dimensiones de la arteria y (b) como es extraída poco a poco del corazón.



Figura A.12.- Vista de la arteria (a) hasta su raíz, (b) arteria extraída desde raíz.

Una vez realizado este procedimiento, obtuvimos las siguientes estructuras mostradas en al *–Figura A.13-* listas para el arreglo óptico.



Figura A.13.- Arterias limpias las cuales se revisaron visualmente para conocer su contenido de colesterol.

De este proceso de extracción se obtuvieron diversas muestras, las cuales se analizaron con el arreglo óptico para observar el tipo de señal que regresaba cada muestra como se ve en la figura A.14.



Figura A.14.- Diversos tejidos extraídos y observados mediante el sistema SOCT

A.2.- Infiltración y preparación de las muestras.

Extraídas las arterias se reviso si contenían colesterol para realizar las pruebas, en caso de no contener colesterol, se les realizo un proceso de infiltración del mismo -Figura A.15-. Utilizando una aguja BD UltraFine, se realizo la distinción de tejidos para localizar el endotelio, para insertar la substancia que emulara el colesterol.



Figura A.15.- Imagen del (a) Proceso de inspección de la arteria, (b) arteria sin colesterol a la cual se le infiltro el colesterol.

Para la solución se utilizo un compuesto orgánico el cual fue sometido a procesos de degradación química para emular el colesterol con el propósito de imitar el proceso de litogénesis (digestión de acido palmítico), obteniendo una emulsión líquida. Estos procesos fueron consultados con diversos expertos en química y bioquímica, con el fin de obtener una emulsión lo más parecida al colesterol, así mismo se investigó para obtener una substancia que re hidratará y mantuviera por más tiempo el tejido para la realización de las pruebas sin llegar a dañar o cambiar las propiedades del mismo, esta substancia se puede observar en la -Figura A.16-.



Figura A.16.- Imagen en la que se observa (a) la solución en la cual se mantenía el tejido para su hidratación, mientras era realizado el proceso de infiltración de la emulación de colesterol, (b) muestra de compuesto utilizado para la emulación del colesterol.

Para el proceso de infiltración se introdujo en la jeringa de 1ml que se utilizo con cuidado en la sección del tejido correspondiente, realizando posteriormente la infiltración de la sustancia en el tejido como se puedo observar en la *–Figura A.17–*.



Figura A.17.- Imagen donde se puede observar cómo (a) se infiltraba la emulsión, una vez infiltrada la emulsión se (b) extrae lentamente la aguja del tejido y se coloca en la substancia para hidratación.

Para corroborar que se realizo bien la infiltración, se retiraba la aguja lentamente; si el líquido infiltrado se regresaba, no se introdujo en la zona del endotelio y se inserto en la membrana elástica de la arteria lo cual genera una muestra inservible, como resultado se obtuvieron varias muestras útiles de las cuales se pueden observar dos en la -Figura A.18-.



Figura A.18.- Muestras con diversas concentraciones de colesterol emulado.

Las muestras se mantuvieron hidratadas con diversas soluciones, de las cuales la que mejor funcionó para este propósito fue una mezcla de alcohol en gel, suero, agua destilada y un derivado del peróxido de dialquil. El proceso de hidratación de las muestras se realizaba de 2 a 5 minutos para mantener constante la cantidad de agua en ellas. Para este fin se diseño un dispositivo mecánico de montaje que permitiera una hidratación constante de las muestras montadas -Figura *A.19-* y el cambio rápido de las mismas.



Figura A.19.- Diversos esquemas de sujeción mecánica de las muestras.

Anexo B.-

Glosario

Anexo B: Glosario

Hombre y Mujer promedio: Se dice del individuo que posee características que definen a un grupo racial.

Sistema cerrado: Un sistema cerrado es un sistema físico (o químico) que no interacciona con otros agentes físicos situados fuera de él y por tanto no está conectado causalmente ni correlacionalmente con nada externo a él.

Sangre sucia: Sangre que contiene los desechos generados por las células.

Sangre Limpia: Sangre que contiene oxigeno y nutrientes para las células.

Tórax: El tórax es la parte del cuerpo humano que está entre la base del cuello y el diafragma. Contiene a los pulmones, al corazón, a grandes vasos sanguíneos como la arteria aorta (ascendente, arco y descendente), a la vena cava inferior, al esófago, conducto torácico y su división es el mediastino.

Diafragma: Es un músculo en forma de bóveda que cierra por arriba (donde es convexo) la cavidad torácica y limita por abajo (donde es cóncavo) la cavidad abdominal. Su parte media es aponeurótica o tendinosa, llamada centro frénico; a su alrededor se encuentran las porciones musculares. Es característico de todos los mamíferos y aparece en algunas aves de manera rudimentaria.

Espacios intercostales: El espacio intercostal está compuesto por los 3 músculos intercostales (intercostal externo, intercostal medio e intercostal interno) y el respectivo paquete vasculonervioso, compuesto (de superior a inferior) por vena, arteria y nervio, que pasa a través de cada espacio intercostal, cercano al borde inferior de la costilla suprayacente.

Marcapasos: El marcapasos es un aparato electrónico generador de impulsos, éste impulsa artificial y rítmicamente el corazón cuando los marcapasos naturales del corazón no pueden mantener el ritmo y la frecuencia adecuados. Además estos dispositivos monitorizan la actividad eléctrica cardiaca espontánea, y según su programación desencadenan impulsos eléctricos o no.

Tono vascular: Estado de contracción parcial de las arterias, generado por las contracciones del corazón.

Patología: Encargada del estudio de las enfermedades en su más amplio sentido, es decir, como procesos o estados anormales de causas conocidas o desconocidas.

Biopsia: Operación que consiste en extirpar en el individuo vivo un fragmento de órgano o de tumor con objeto de someterlo a examen microscópico.

Histopatología: Ciencia que se dedica al estudio de los cambios en un tejido causados por una enfermedad.

Biopsia excisional: Llama también exéresis. Una biopsia es la extirpación completa de un órgano o un tumor, generalmente sin márgenes, que se realiza normalmente en quirófano bajo anestesia general o local y con cirugía mayor o menor respectivamente.

Ateroesclerosis: Grupo de enfermedades que se caracterizan por un decremento en la elasticidad y ensanchamiento de las paredes del cuerpo arterial.

Venas sistemáticas: Venas de la circulación sistémica o general, circulan la sangre pobre en oxígeno desde los capilares o microcirculación sanguínea de los tejidos a la parte derecha del corazón. Las venas de la circulación sistémica también poseen unas válvulas, llamadas válvulas semilunares que impiden el retorno de la sangre hacia los capilares.

La sangre: Es un tejido especial, dada su naturaleza líquida. Visto como fluido con un alto porcentaje en agua que contiene muy diversas sustancias disueltas y macromoléculas y células en suspensión.

Los vasos: Son los conductos encargados del transporte de la sangre. Su diámetro y estructura son variables dependiendo de la localización y la función que desarrollan.

Pericardio o Saco pericardio: Membrana fibroserosa de 2 capas que envuelve al corazón y a los grandes vasos separándolos de las estructuras vecinas.

Miocardio: Tejido muscular del corazón.

Estimulo sinusal: Estímulo rítmico de autoexcitación, que provoca que el corazón se contraiga de 60 a 100 veces por minuto. De fallar el nódulo sinoauricular, esta función recae sobre el nódulo de Aschoff-Tawara, que lo haría normalmente con una frecuencia de 40 a 60 estímulos por minuto, produciendo de esta forma un latido más débil (menos frecuente).

Hipertensión: Es una enfermedad crónica caracterizada por un incremento continuo de las cifras de presión sanguínea en las arterias. Aunque no hay un umbral estricto que permita definir el límite entre el riesgo y la seguridad, de acuerdo con consensos internacionales, una presión sistólica sostenida por encima de 139 mmHg o una presión diastólica sostenida mayor de 89 mmHg, están asociadas con un aumento medible del riesgo de aterosclerosis y por lo tanto, se considera como una hipertensión clínicamente significativa.

Anastomosis: Comunicaciones naturales, indirectas o directas, entre dos venas.

Coagulación: Mecanismo de la sangre producido por las plaquetas para detener el flujo de sangre fuera del cuerpo cuando se rompe una vena o una arteria.

Choque cardiogénico: Choque cardiaco o síndrome de falla de poder: Es el choque circulatorio que se origina cuando el corazón bombea sangre de manera inadecuada para satisfacer las necesidades del cuerpo.

Sístole ventricular: Es la contracción del tejido muscular cardiaco ventricular. Esta contracción provoca un aumento de presión en el interior de los ventrículos.

Cardiomegalia global: Es un crecimiento limitado de algunas cavidades o vasos

Fracción de eyección: Es el porcentaje de sangre expulsada de un ventrículo con cada latido.

Catéter: Dispositivo que puede ser introducido dentro de un tejido o vena. Los catéteres permiten la inyección de fármacos, el drenaje de líquidos o bien el acceso de otros instrumentos médicos.

Lumen: Centro de la arteria que se está estudiando, también conocido como luz arterial.

Ateroma: Lesiones focales (características de la ateroesclerosis) que se inician en la capa íntima de una arteria. El exceso de partículas de lipoproteína de baja densidad (LDL) en el torrente sanguíneo se incrusta en la pared de la arteria.

Trombosis: Es un coágulo en el interior de un vaso sanguíneo y uno de los causantes de un infarto agudo de miocardio. También se denomina así al propio proceso patológico, en el cual, un agregado de plaquetas o fibrina ocluye un vaso sanguíneo.

Fluoroscopia: La fluoroscopia es una técnica de imagen usada en medicina para obtener imágenes en tiempo real de las estructuras internas de los pacientes mediante el uso de un fluoroscopio. En su forma más simple, un fluoroscopio consiste en una fuente de rayos X y una pantalla fluorescente entre las que se sitúa al paciente. Sin embargo, los fluoroscopios modernos acoplan la pantalla a un intensificador de imagen de rayos X y una cámara de vídeo CCD, lo que permite que las imágenes sean grabadas y reproducidas en un monitor.

Intensificador de imagen: Sustancia liquida con moléculas radioactivas las cuales se activan con los rayos X emitiendo fotones intensificando de esta manera el tejido en el cual están siendo irrigadas.

Triglicéridos: Los triglicéridos son grasas que suministran energía a los músculos. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas de la sangre, poseen densidades más bajas que el agua (flotan sobre el agua), y pueden ser sólidos o líquidos a la temperatura normal del ambiente. Cuando son sólidos se llaman "grasas", y cuando son líquidos se llaman "aceites". Un triglicérido, también llamado triacilglicérido, es un compuesto químico que consiste de una molécula de glicerol y tres ácidos grasos.

Trombo Blanco: Agregado plaquetario generado por una lesión endotelial.

Anexo C.-

Interacción de la luz con el tejido.

Anexo C: Interacción de la luz con el tejido.

Existe una gran variación en las propiedades ópticas del tejido debido a sus naturaleza biológica con respecto a la absorción, dispersión y en menor medida el índice de refracción.

Algunos ejemplos de variaciones presentadas entre estas propiedades en diversos tejidos son evidentes, tales como la variación en la absorción en diversos tipos de piel o en estructuras transparentes del ojo frente a la absorción en el epitelio pigmentario de la retina.

Otros son menos obvios, como las diferencias enormes en la absorción y dispersión del tejido pulmonar (por ejemplo, la absorción en los pulmones rosas de la vida no fumador en una zona con poca contaminación del aire en comparación con la de los pulmones negros de un fumador empedernido que vive en un ambiente con aire contaminado).

Las propiedades ópticas de los tejidos dependen del tamaño, la morfología y estructura de los componentes en los tejidos (por ejemplo, membranas lipídicas, núcleos, fibras de colágeno). Las proporciones de estos componentes varían cuando el tejido presenta algún tipo de enfermedad afectando las propiedades de dispersión, proporcionando así un medio para fines de diagnóstico, especialmente en aplicaciones de imagen, de igual manera existen diferencias en las mediciones debidas a las condiciones del tejido cuando estas se realizaron sean in situ o in vitro.

Por esto es necesario el conocimiento de anatomía humana, patología y comportamiento del tejido para poder realizar una interpretación clínica, sin embargo la comprensión general de las características ópticas del tejido ayuda muchas veces a la correcta interpretación de las imágenes tomográficas que se obtienen con OCT.

Las principales propiedades ópticas de los tejidos son la absorción, el esparcimiento, esparcimiento simple o múltiple y la comprensión de la teoría de transporté de luz en tejido [12].

La descripción de la propagación de la luz en los tejidos incorpora ambos puntos de vista sobre la naturaleza de la luz para su comprensión. En la descripción electromagnética, la luz está compuesta de ondas oscilantes eléctricas y magnéticas -*Figura C.1*-.



Figura C.1.- Imagen descriptiva de las ondas electromagnéticas que pasan en dirección +z, siendo la onda descrita con el color rojo al eléctrica y la onda con el color azul la magnética.

El enfoque que se tomara es el de la descripción electromagnética, esto porque las propiedades ópticas de los tejidos pueden mejorar o disminuir dependiendo de la longitud de onda con la cual se analiza el tejido.

La capacidad de la luz para penetrar en los tejidos depende como los tejidos absorben la luz dentro del rango espectral conocido como la ventana terapéutica (o la ventana de diagnóstico), la mayoría de los tejidos presentan una oposición que amortigua la penetración de la luz permitiendo una penetración significativa. Esta ventana se extiende desde 600 a 1300 nm, de la región del naranja del espectro visible al NIR.

Al final de la IR la penetración está limitada por las propiedades de absorción de agua. Dentro de la ventana terapéutica, la dispersión es dominante sobre la absorción, por lo que la luz de propagación se vuelve difusa. Siendo la absorción de la luz en los tejidos definida por el contenido de agua, la oxigenación de las células, diversos procesos metabólicos los cuales son diversos factores que afectan la absorción y también el esparcimiento, en un medio.

Si un tejido absorbe simplemente la luz que incide en este sin esparcirla, las propiedades ópticas biomédicas serian mínimas, La atenuación de la luz en un medio no esparcivo se puede describir como una función exponencial comúnmente referida a la ley de Lambert-Beer

$$I(d) = I_0 e^{-\mu_0 d}$$
 Ec. C.1

Donde I(d) es la intensidad a una distancia d, que representa la distancia del tejido a la fuente de luz, I_o indica la intensidad de la luz incidente en el tejido y $-\mu_0$ [m-1] indica la absorción del tejido.

El coeficiente de absorción del tejido se define cuando un fotón se propaga por una distancia Δd infinitesimal siendo la probabilidad de absorción es μa veces la distancia, en otras palabras la absorción es $1/\mu a$.

La absorción del tejido varía dependiendo de la longitud de onda, siendo generalmente afectados por la melanina, hemoglobina, bilirrubina y agua entre otros, esto se puede observar en la -Figura *C.1-* donde se comparan diversas substancias bioquímicas.



Figura C.2.- Coeficiente de absorción como función de la longitud de onda a 250nm a 2.5 μm de agua, hemoglobina (Hb), oxihemoglobina (HbO2) y melanina, las longitudes de onda de interés para OCT son de 700nm a 2μm.

La ventana óptica es la que presenta condiciones favorables para la obtención de datos médicos relevantes. En la *-Figura C.2-* se observan los tejidos más importantes a diferentes rangos que presentan baja absorción.



Figura C.3.- Grafica tomada de Tuan Vo-Dinh, "Biomedical Photonics Handbook", CRC Press 2002, donde se muestra la región visible del espectro electromagnético y su coeficiente de absorción en las longitudes de onda de 100 nm a 10,000 nm.

Observando la grafica de la -Figura C.2- se pude reafirmar que el agua contiene un coeficiente de absorción constante en las longitudes de onda del UV hasta el IR lejano, también posee una atenuación este índice de atenuación; el cual es afectado en las diferentes longitudes de onda como se observa en la -Figura C.3- de la cual se concluye que la penetración de las diversas longitudes de onda a diferentes profundidades depende de la absorción de la luz que presenta el tejido y determina la obtención de las imágenes tomográficas.



Figura C.4.- Grafica donde se muestra el índice de atenuación del espectro de absorción del agua en las longitudes de onda de 600 nm a 1050 nm.

Como se discutió anteriormente, la dispersión se produce cuando existe una variación espacial en el índice de refracción, ya sea continua o abrupta (por ejemplo, debido a las partículas localizadas), en los medios de comunicación celulares, los dispersores importantes son la orgánulos subcelulares.

El intervalo de tamaño exhibido por estos orgánulos incluye las longitudes de onda de la ventana terapéutica, ya que sus dimensiones son desde <100 nm a 6 μ m.

La mitocondria, el sitio de la respiración y la producción de energía en las células, son los dispersores dominantes entre los orgánulos. Estas estructuras son más o menos cilíndricas y varían en tamaño dependiendo del tipo celular, con dimensiones características de 0,5 a 2 μ m.

Las mitocondrias, además de estar encerrado en un lípido membrana, también tienen pliegues de lípidos se ejecutan dentro de ellos.

Esta estructura da a estos orgánulos una óptica de alta contraste con el citoplasma circundante y produce los efectos observados, el medio en el cual está el objeto de estudio (las arterias) es la sangre, la cual presenta propiedades de dispersión estas dependen del hematocrito (fracción de volumen de glóbulos rojos) y su grado de aglomeración.