

Turnitin Cristian Bocanegra

por Cristian BOCANEGRA

Fecha de entrega: 04-dic-2025 03:34p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2835821586

Nombre del archivo: ThesisFinal-Bocanegra.pdf (19.35M)

Total de palabras: 33294

Total de caracteres: 169430

¹⁷
**PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATÓLICA DEL PERÚ
ESCUELA DE POSGRADO**



**Implementación de un sistema de tomografía de coherencia
óptica con elastografía para la detección temprana del
queratocono.**

²⁹
Tesis para obtener el grado académico de Maestro en Física Aplicada que
presenta:

Cristian Alejandro Bocanegra Mongrut

Asesor:

José Fernando Zvietcovich Zegarra

Lima, 2025

Dedico esta tesis a Dios, por la vida, por que él es la luz y la fortaleza en los momentos difíciles. A mi familia, por su amor, paciencia y sacrificios que hicieron posible este camino. A mis profesores que me acompañaron en la maestría por enseñarme con generosidad, rigor, siendo guías en el camino. A mi asesor el Dr. Fernando Zvietcovich por ser guía, tener confianza y su exigencia justa durante todo el camino de formación de este trabajo de tesis. Y a mis amigos por el apoyo y palabras oportunas.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el CONCYTEC-PROCIENCIA en el marco del concurso E041-2023-02 "Desarrollo del primer sistema de tomografía óptica coherente con elastografía en el Perú para la detección temprana del Queratocono y otras enfermedades oculares" [numero de contrato PE501082168-2023].

Se hace constar que se utilizó ChatGPT (versión GPT-5) únicamente como herramienta de apoyo para la corrección de estilo, gramática y redacción del presente documento de tesis. El contenido técnico, experimental y científico, así como los análisis, resultados, conclusiones e interpretaciones, son de propia autoría.

Se agradece también el financiamiento de Wellcome Trust Early Career Award 300307/Z/23/Z; OPTICA Foundation Challenge Award (2023).

Abstract

In this research work, corneal biomechanical measurement is proposed for the detection of keratoconus in early stages and the evaluation of clinical corneal cross-linking (CXL) protocols. The translation of the optical coherence elastography (OCE) system to a clinical format is carried out; it is composed of a *Swept Source* OCT at 1300 nm with an air-coupled ultrasonic transducer (ACUS), which allows the excitation of Lamb waves without contact and the recording of thickness and spatio temporal velocity maps.

The OCE is validated on corneal silicone mannequins with three different hardnesses, where the phase velocity and the shear modulus G increase at different intra-ocular pressures (10–20 mmHg). It is then validated on *ex vivo* porcine corneas, yielding phase velocities between 3 and 9 m/s and G values that exceed 30–70 kPa in virgin conditions to approximately 150 kPa after applying CXL.

Finally, the biomechanical change of three CXL protocols (Dresden, A10 and A03; with equal fluence of 5.4 J/cm^2) is studied in 12 *ex vivo* porcine corneas. In the irradiation stage, the increase in G was greater for Dresden ($\Delta G_{UV} = 95.64 \pm 11.02\%$), followed by A10 ($33.93 \pm 5.47\%$) and A03 ($24.30 \pm 7.02\%$); on the other hand, the slope over time m_G was higher in A03 ($86.35 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), then A10 ($50.50 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) and Dresden ($36.61 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$). The results obtained show that OCE can measure biomechanical parameters such as corneal stiffness in a non-invasive way, and it is also concluded that accelerated CXL protocols require higher UV doses to achieve an increase in stiffness comparable to the Dresden protocol.

Resumen

En este trabajo de investigación se plantea la medición biomecánica corneal para la detección del queratocono en estadios tempranos y la evaluación de protocolos clínicos de crosslinking corneal (CXL). Se realiza la traslación a un formato clínico el sistema de elastografía por tomografía de coherencia óptica (OCE) que se compone de un OCT *Swept Source* a 1300 nm con un transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS), lo que permite excitar sin contacto ondas Lamb y registrar espesor y mapas espacio temporales de velocidad.

El OCE se valida en maniqués de silicona corneales de tres durezas diferentes, donde la velocidad de fase y el módulo de corte G aumentan a diferentes presiones intraoculares (10–20 mmHg). Luego se valida en córneas porcinas *ex vivo*, dando velocidades de fase entre 3 y 9 m/s y G que superan 30–70 kPa en condiciones vírgenes a aproximadamente 150 kPa luego de aplicar CXL.

Por último, se estudia el cambio biomecánico de tres protocolos de CXL (Dresden, A10 y A03; con igual fluencia $5,4 \text{ J/cm}^2$) en 12 córneas porcinas *ex vivo*. En la etapa de irradiación, el incremento de G fue mayor para Dresden ($\Delta G_{UV} = 95,64 \pm 11,02\%$), seguido del A10 ($33,93 \pm 5,47\%$) y A03 ($24,30 \pm 7,02\%$), en cambio la pendiente en el tiempo m_G fue mayor en A03 ($86,35 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), luego A10 ($50,50 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) y Dresden ($36,61 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$). Los resultados obtenidos muestran que el OCE puede medir de forma no invasiva los parámetros biomecánicos como la rigidez corneal y se concluye también que los protocolos acelerados de CXL requieren mayores dosis de UV para lograr un aumento en la rigidez comparable al protocolo Dresden.

Índice general

| | |
|--|-----------|
| Abstract | III |
| Resumen | IV |
| Índice de figuras | VII |
| Índice de tablas | XV |
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. Introducción y motivación | 1 |
| 1.2. Planteamiento del problema | 2 |
| 1.3. Justificación del estudio | 3 |
| 1.4. Objetivos de la investigación | 4 |
| 1.4.1. Objetivo general | 4 |
| 1.4.2. Objetivos específicos | 4 |
| 2. Estado del Arte y Marco Teórico | 5 |
| 2.1. Propiedades biomecánicas de la córnea | 5 |
| 2.2. Fundamentos de tomografía de coherencia óptica con elastografía (OCE) | 7 |
| 2.3. Principios de elastografía de coherencia óptica (OCE) | 14 |
| 2.3.1. Fuentes de excitación y clasificaciones | 14 |
| 2.3.2. Propagación y tipos de ondas mecánicas en tejidos | 16 |
| 2.4. Estimadores de velocidad de onda | 18 |
| 2.4.1. Tiempo de vuelo | 18 |
| 2.4.2. Análisis de Fourier | 18 |
| 2.4.3. Derivada de fase | 19 |
| 2.5. Protocolos de adquisición y sincronización | 19 |
| 2.5.1. Modo M | 19 |
| 2.5.2. Modo M-B | 20 |
| 2.5.3. Modo B-M | 20 |
| 2.6. Cross-Linking (CXL) | 21 |
| 2.6.1. Principio de funcionamiento del CXL | 22 |
| 2.6.2. Soluciones de CXL | 22 |
| 2.6.3. Protocolos de CXL: Dresden y acelerados | 23 |
| 3. Traslación clínica del sistema de OCE | 24 |
| 3.1. Introducción y motivación | 25 |
| 3.2. Diseño del sistema OCT | 26 |
| 3.2.1. Caracterización del sistema | 27 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 3.3. | Integración del transductor ultrasónico acoplado al aire | 30 |
| 3.3.1. | Diseño y principio de funcionamiento del módulo ultrasónico acoplado al aire (ACUS) | 30 |
| 3.3.2. | Modelado acústico del transductor ACUS | 31 |
| 3.3.3. | Alineamiento y calibración | 34 |
| 3.4. | Traslación del sistema experimental a un formato clínico | 35 |
| 3.4.1. | Montaje, alineación y control de adquisición | 35 |
| 3.4.2. | Plataforma de posicionamiento del sistema y sujeción del paciente | 37 |
| 3.4.3. | Implementación del sistema de Badal | 37 |
| 3.5. | Protocolo de adquisición modo M-B | 42 |
| 4. | Estimación de Elasticidad en Maniqués Corneales y Validación en Córneas Porcinas Ex Vivo | 47 |
| 4.1. | Introducción y motivación | 47 |
| 4.2. | Validación experimental en maniqués corneales | 48 |
| 4.2.1. | Arreglo experimental | 48 |
| 4.2.2. | Preparación de las muestras | 48 |
| 4.2.3. | Medición experimental (OCE y Mecánicas) | 50 |
| 4.2.4. | Procesamiento y análisis de datos | 51 |
| 4.2.5. | Resultados | 54 |
| 4.3. | Validación experimental en Córneas Porcinas Ex Vivo | 57 |
| 4.3.1. | Arreglo experimental | 57 |
| 4.3.2. | Preparación de las muestras <i>ex vivo</i> | 58 |
| 4.3.3. | Medición experimental | 58 |
| 4.3.4. | Procesamiento y análisis de datos | 59 |
| 4.3.5. | Resultados | 61 |
| 4.4. | Discusión y conclusiones | 63 |
| 5. | Evaluación de Protocolos de Crosslinking Corneal | 64 |
| 5.1. | Introducción y motivación | 64 |
| 5.2. | Propuesta experimental | 65 |
| 5.2.1. | Arreglo experimental | 65 |
| 5.2.2. | Preparación de la muestra | 67 |
| 5.2.3. | Medición experimental | 68 |
| 5.2.4. | Procesamiento y análisis de los datos | 68 |
| 5.3. | Resultados | 69 |
| 5.3.1. | Cambios temporales del espesor corneal | 69 |
| 5.3.2. | Cambios de la velocidad de propagación de onda | 72 |
| 5.3.3. | Cambios temporales en la rigidez corneal | 75 |
| 5.4. | Discusión y conclusiones | 78 |
| 6. | Conclusiones y Recomendaciones | 81 |
| 6.1. | Conclusiones generales | 81 |
| 6.2. | Recomendaciones de mejora | 82 |
| 6.3. | Trabajos futuros | 82 |
| | Referencias | 85 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| 2.1. Distribución del material y sus condiciones de frontera en función del espesor (d) y la longitud de onda (λ_c). Se muestran tres niveles de caracterización del medio: homogéneo, estratificado y heterogéneo, así como dos condiciones de frontera: placa delgada y medio semi-infinito [13]. . . | 5 |
| 2.2. Propagación de ondas mecánicas en medios con diferentes propiedades: (a) medio elástico e isotrópico, (b) medio viscoelástico e isotrópico, y (c) medio elástico y anisotrópico. Las curvas (d–f) muestran las velocidades de fase $c_\phi(\omega)$ correspondientes: (d) no dispersiva, (e) dependiente de la frecuencia, y (f) anisotrópica según la orientación de las fibras [13]. . . | 6 |
| 2.3. Perfil de intensidad de interferencia de retrodispersión de las diferentes capas en la profundidad del tejido. | 8 |
| 2.4. Esquema del sistema OCT en <i>time domain</i> (TD-OCT). El espejo de referencia se desplaza a lo largo del eje óptico una distancia Δz para obtener interferencia. | 8 |
| 2.5. Esquema del sistema OCT en <i>spectral domain</i> (SD-OCT). La información de profundidad se obtiene con una rejilla de difracción y un detector lineal. | 9 |
| 2.6. Esquema del sistema <i>Swept Source</i> OCT (SS-OCT). Los caminos ópticos de referencia y muestra se combinan para analizar su interferencia. Cada capa de la muestra retrodispersa el haz desde una profundidad diferente. | 9 |
| 2.7. (a) Espectro de la fuente de luz centrado en $\lambda_0 = 1300$ nm con ancho $\Delta\lambda = 50$ nm (FWHM). (b) Espectro $S_L(k)$ en el dominio del número de onda k | 11 |
| 2.8. Esquema de la estructura corneal: epitelio, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio, con espesores promedio. . . | 12 |
| 2.9. Componentes de la señal de interferencia $I_D(k)$: (a) $I_{DC}(k)$, (b) $I_{SI}(k)$ y (c) $I_{AC}(k)$ | 12 |
| 2.10. Señal de interferencia total $I_D(k)$ como suma de las componentes DC, SI y AC. | 13 |
| 2.11. Componentes en el dominio espacial tras la FT: (a) $I_{DC}(z)$, (b) $I_{SI}(z)$ y (c) $I_{AC}(z)$ | 13 |
| 2.12. Señal $I_D(z)$: amplitud de los picos ubicados en las posiciones espaciales de las capas del tejido. | 13 |
| 2.13. Clasificación de las fuentes de excitación según el tipo de interacción (contacto/no contacto) y la naturaleza de la excitación (activa/pasiva) [13]. | 14 |
| 2.14. Esquema de un ACUS alineado coaxial y confocalmente con el sistema OCT, de modo que la excitación y el punto de escaneo coinciden espacialmente [29]. | 15 |

| | |
|---|----|
| 2.15. Tipos de ondas mecánicas generadas en un medio elástico mediante una excitación mecánica. (a) Esquema de una fuente de excitación focalizada; (b) simulación numérica de desplazamientos axiales donde se distinguen las componentes principales: onda de corte (<i>shear wave</i>), onda Lamb (superficial), onda de corte longitudinal y onda de compresión [13]. | 16 |
| 2.16. Propagación y modos de ondas Lamb en tejidos blandos. (a) Esquema de excitación mecánica sobre una placa delgada que simula la córnea; (b) representación de los modos simétrico (S_0) y antisimétrico (A_0) con sus patrones de desplazamiento; y (c) relación teórica de dispersión de la velocidad de fase para diferentes espesores corneales y módulo de corte μ , donde a altas frecuencias las velocidades tienden a la velocidad de onda de corte c_s [13]. | 17 |
| 2.17. Protocolo de adquisición en modo M. (a) Esquema del sistema que adquiere M repeticiones de A-lines en una posición lateral fija x_0 a lo largo del tiempo. (b) Propagación espacio-tiempo de la onda en el punto espacial; la pendiente m de la gráfica lineal representa el inverso de la velocidad de la onda propagada [13]. | 20 |
| 2.18. Protocolo de adquisición en modo M-B. (a) Adquisición OCE a lo largo del plano xz . (b) Fotograma del movimiento señalando t_0 en rojo. (c) Análisis espacio-tiempo de la propagación de la onda en t_0 . (d) Diagrama temporal del protocolo M-B. (e) Distribución de las adquisiciones en una matriz 3D espacio-temporal [13]. | 21 |
| 2.19. Protocolo de adquisición en modo B-M. (a) Adquisición en el plano xz . (b) Fotograma del movimiento en el instante t_0 . (c) Análisis espacio-tiempo de la propagación. (d) Diagrama temporal del protocolo B-M con diferentes posiciones laterales y M repeticiones. (e) Conjunto de <i>frames</i> de movimiento en el plano xz distribuidos a lo largo del tiempo en una matriz 3D [13]. | 21 |
| 2.20. Tratamientos actuales del queratocono: comparación entre anillos intracorneales (modifican la óptica sin alterar la biomecánica de base), CXL (único tratamiento con evidencia consistente de detener la progresión en la mayoría de pacientes) y trasplante corneal (reservado para estadios avanzados). | 22 |
| 3.1. Esquema comparativo entre un sistema OCE experimental de laboratorio que mantiene un alineamiento correcto de la óptica del sistema y obtiene imagen y su versión compacta orientada a clínica que muestra un sistema de fijación de la cabeza del paciente para evitar movimientos, capacidad de desplazamiento con una plataforma para medir ambos ojos, un sistema de fijación de la vista del paciente utilizando un estímulo visual compensado por error refractivo y que pueda realizar las mediciones sin contacto. | 25 |
| 3.2. Esquema general del sistema <i>Swept Source OCT</i> , se distinguen los componentes principales: fuente láser de barrido, interferómetro, brazo de referencia, brazo de muestra con sistema de corrección Badal y módulo de excitación, así como el sistema de adquisición y control digital. | 27 |
| 3.3. Imágenes de: (a) Espectro de la fuente de luz centrado en $\lambda_0 = 1300$ nm con ancho $\Delta\lambda = 100$ nm, (b) Espectro $S_L(k)$. | 28 |

| | |
|--|----|
| 3.4. Señal de interferencia de las componentes de $I_D(k)$, (a) Señal de la componente DC $I_{DC}(k)$, (b) Señal de la componente SI $I_{SI}(k)$, y (c) Señal de la componente AC $I_{AC}(k)$ | 29 |
| 3.5. Señal en el espacio de profundidad de las componentes luego de aplicar la FT donde (a) Componente DC $I_{DC}(z)$, (b) Componente SI $I_{SI}(z)$, y (c) Componente AC $I_{AC}(z)$ | 29 |
| 3.6. Señal de interferencia, (a) $I_D(k)$ formada por la suma de las componentes $I_{DC}(k)$, $I_{SI}(k)$ y $I_{AC}(k)$, y (b) Señal $I_D(z)$ que muestra la amplitud de los diferentes picos ubicados en las posiciones espaciales de las capas del tejido formada por la suma de las componentes $I_{DC}(z)$, $I_{SI}(z)$ y $I_{AC}(z)$. | 30 |
| 3.7. Esquema general del sistema OCE, se distinguen los componentes principales: fuente láser de barrido, interferómetro, brazo de referencia, brazo de muestra con sistema de corrección Badal, módulo de excitación con ACUS, y un sistema de control de presión a la cual se pone la muestra, así como el sistema de adquisición y control digital. | 31 |
| 3.8. Esquema tridimensional del alineamiento coaxial entre el transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS) y la superficie corneal, la frecuencia de operación de 0,5 MHz permite una excitación efectiva a través del aire sin atenuación significativa, manteniendo una distancia segura de aproximadamente 25 mm respecto al ojo, esta configuración asegura comodidad clínica para el paciente. | 31 |
| 3.9. Esquema de la geometría del transductor ACUS mostrando la apertura D , el hueco central H_D , la distancia focal F y la región focal con dimensiones L_f y D_f | 32 |
| 3.10. Esquema de los perfiles de intensidad del ACUS, (a) Distribución axial de intensidad $I(z)$ mostrando el máximo en el foco $z = F$ y los lóbulos laterales, (b) Distribución radial de intensidad $ \Phi(r, \omega) $ en el plano focal; el lóbulo central representa la zona de máxima excitación acústica. . . . | 33 |
| 3.11. Esquema del perfil de intensidad del haz acústico, indicando el criterio de <i>Full Width at Half Maximum</i> (FWHM), correspondiente al ancho completo a mitad del máximo. | 34 |
| 3.12. Esquema de alineamiento y calibración del módulo acústico y óptico del sistema OCE. El transductor ACUS se dispone coaxialmente con la lente del OCT frente a una cámara presurizada que simula el globo ocular. La presión intraocular se regula mediante una bomba de jeringa y se monitorea con un sensor de presión conectado a un sistema de control NI-DAQ. | 35 |
| 3.13. Interfaz del software de adquisición en LabVIEW para el control del sistema OCE, mostrando la configuración de parámetros, la visualización del B-scan y el monitoreo de la señal interferométrica en tiempo real. . . | 35 |
| 3.14. Detalle de los parámetros de adquisición configurables en LabVIEW: número de A-líneas, número de B-frames, tipo de escaneo y sincronización con el módulo de excitación acústica (ACUS). | 36 |
| 3.15. Plataforma motorizada XYZ para el posicionamiento preciso del sistema OCE durante mediciones in vivo. | 37 |
| 3.16. Mentonera y soporte frontal ajustables para asegurar estabilidad del paciente y evitar movimientos involuntarios. | 38 |

| | |
|---|----|
| 3.17. Sistema de fijación visual tipo Badal para mantener la mirada y compensar errores refractivos durante la medición. | 38 |
| 3.18. Modelado de primer orden del sistema de Badal y su integración con el ojo en la configuración afocal. | 39 |
| 3.19. Esquema óptico del sistema de Badal mostrando el desplazamiento Δx del lente L_3 , el cual ajusta la vergencia sin modificar el plano imagen. | 39 |
| 3.20. Comparación esquemática entre ojo normal, miope e hipermetrope, mostrando la posición del plano imagen en cada caso. | 40 |
| 3.21. Ejemplo de corrección refractiva: (a) ojo con miopía, (b) corrección refractiva de miopía con un lente divergente, (c) ojo con hipermetropía y (c) corrección refractiva de hipermetropía con un lente convergente. | 41 |
| 3.22. Corrección para ojo miope: desplazamiento negativo de L_3 que produce divergencia del haz y corrige el enfoque anterior a la retina. | 41 |
| 3.23. Corrección para ojo hipermetrope: desplazamiento positivo de L_3 que produce convergencia del haz y corrige el enfoque posterior a la retina. | 41 |
| 3.24. Esquema del protocolo MB-mode multimeridiano utilizado para mapear la propagación de ondas mecánicas generadas en el vértice del maniquí corneal: (a) Esquema del protocolo multimeridiano y (b) Esquema del movimiento de los espejos el sistema de galvos donde se mueven según los clock del trigger de adquisición para que se encuentre en sincronía la adquisición de datos con la excitación acústica. | 43 |
| 3.25. Diagrama de adquisición multimeridiana mostrando la secuencia de excitación acústica (Trg Ex) y sincronización de escaneo (Trg Ad) utilizada para la reconstrucción de mapas espacio-temporales. | 44 |
| 3.26. Esquema de corrección de fase en función de la variación de espesor y curvatura del modelo corneal, utilizada para compensar artefactos ópticos y asegurar la linealidad del desplazamiento. | 44 |
| 3.27. Representación del protocolo multimeridiano aplicado sobre el modelo corneal, mostrando las trayectorias de adquisición en ángulos radiales equiespaciados señalando cual es el meridiano de 0° y el de 90° | 45 |
| 4.1. Arreglo experimental del sistema OCE aplicado sobre un maniquí de sílica con forma de córnea: (a) Se muestra la configuración coaxial entre el haz óptico del OCT y el ACUS y (b) Simulación del patrón de propagación generado por la excitación mecánica sobre la superficie del maniquí. | 49 |
| 4.2. Proceso de fabricación de maniqués corneales. (a,b) Componentes RTV615 parte A y B; (c) PDMS como elemento base; (d) dióxido de titanio (TiO_2) como agente dispersor de la luz; (e) moldes que simulan la curvatura corneal; (f) horno para curado térmico del maniquí; (g) maniqués corneales terminados. | 49 |
| 4.3. Imagen estructural de los 8 meridianos obtenida por OCT del maniquí corneal, mostrando su curvatura y espesor. | 51 |
| 4.4. Imagen de la propagación de la onda Lamb en los 8 meridianos del maniquí corneal capturada mediante OCE a una excitación de 3000 Hz. | 51 |
| 4.5. Mapas espacio-tiempo correspondientes a los 8 meridianos del maniquí corneal. | 52 |
| 4.6. Mapa espacio-tiempo correspondiente al meridiano de 0° del maniquí corneal. | 52 |

| | |
|--|----|
| 4.7. Mapa de dispersión obtenido mediante análisis FFT-2D, mostrando la relación $\omega(k)$ para las ondas Lamb A_0 en el meridiano de 0° a una excitación de 3000 Hz. | 52 |
| 4.8. Distribución polar del espesor corneal estimado en ocho meridianos del maniquí a 3000 Hz con su valor de promedio y desviación estandar STD. | 53 |
| 4.9. Distribución polar de la velocidad de fase promedio (3000 Hz) en los meridianos analizados con su valor de promedio y desviación estandar STD. | 53 |
| 4.10. Representación del modelo de placa delgada (membrana) utilizado para el cálculo del módulo de corte G . (a) Imagen de una córnea con aire en la superficie superior y agua en la inferior, donde la excitación se realiza en el centro de la superficie superior. (b) Vista 2D y 3D del modelo de placa delgada mostrando la propagación de ondas en la membrana [27]. | 54 |
| 4.11. Comparación del espesor del maniquí corneal (membrana) para las tres durezas: (a) Dureza 1 (10:1:5), (b) Dureza 2 (10:1:10) y (c) Dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP. | 55 |
| 4.12. Comparación de la velocidad de fase para las tres durezas del maniquí corneal (membrana): (a) Dureza 1 (10:1:5), (b) Dureza 2 (10:1:10) y (c) Dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP. | 56 |
| 4.13. Comparación del G para las tres durezas de los maniqués corneales (membrana): (a) Dureza 1 (10:1:5), (b) Dureza 2 (10:1:10) y (c) Dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP. | 56 |
| 4.14. Comparación del G estimado a 3 kHz para las tres durezas: (a) Rígido de dureza 1 (10:1:5), (b) Medio de dureza 2 (10:1:10) y (c) Blando de dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP. | 56 |
| 4.15. Comparación del G estimado a 5 kHz para las tres durezas: (a) Rígido de dureza 1 (10:1:5), (b) Medio de dureza 2 (10:1:10) y (c) Blando de dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP. | 57 |
| 4.16. Arreglo del sistema OCE usado para las validaciones en córneas porcinas <i>ex vivo</i> . Se muestra la integración coaxial del módulo óptico (OCT) y el módulo acústico (ACUS), así como la conexión del sistema de control de presión intraocular (IOP) al globo ocular. | 58 |
| 4.17. Imagen estructural OCT de la córnea porcina <i>ex vivo</i> , mostrando la curvatura corneal y los límites epitelial y endotelial. | 59 |
| 4.18. Mapas espacio-tiempo de propagación de ondas en córneas porcinas <i>ex vivo</i> . Se muestra la estimación de la velocidad de fase para ambos sentidos de propagación a una excitación de 3000 Hz. | 59 |
| 4.19. Distribución polar del espesor corneal medido en ocho meridianos. Se observa una geometría simétrica. Espesor medio: $885,91 \pm 20,37 \mu\text{m}$ | 60 |
| 4.20. Distribución polar de la velocidad de fase a 3000 Hz. Velocidad de fase media: $5,84 \pm 0,45 \text{ m/s}$ | 60 |
| 4.21. Velocidad de fase c_{ph} vs. frecuencia para cuatro córneas porcinas <i>ex vivo</i> , (a) Cornea 1, (b) Cornea 2, (c) Cornea 3 y (d) Cornea 4, antes del tratamiento (líneas continuas) y después del CXL (líneas punteadas). Cada columna corresponde a IOP = 10, 15 y 20 mmHg, respectivamente. | 61 |
| 4.22. Comparación del espesor corneal promedio en cuatro córneas porcinas <i>ex vivo</i> , (a) Cornea 1, (b) Cornea 2, (c) Cornea 3 y (d) Cornea 4, antes y después del CXL, para IOP = 10, 15 y 20 mmHg. | 61 |

| | |
|---|----|
| 4.23. Módulo de corte G estimado con el modelo mRLF para cuatro córneas porcinas <i>ex vivo</i> , (a) Cornea 1, (b) Cornea 2, (c) Cornea 3 y (d) Cornea 4, antes (líneas continuas) y después (líneas punteadas) del CXL. Cada columna corresponde a IOP = 10, 15 y 20 mmHg. | 62 |
| 5.1. Esquema de la configuración experimental para la evaluación de protocolos de CXL corneal mediante OCE. Se muestra el camino óptico del sistema OCT y el camino óptico de la fuente UV que integra la fuente UV (365 nm) a través de un espejo dicróico. | 65 |
| 5.2. Vista detallada del módulo de integración del sistema OCE con el módulo de la luz UV-A, se tienen los componentes principales indicados con recuadro rojo: galvos para escaneo lateral, lente objetivo, espejo dicróico, transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS) y lámpara UV de 365 nm. | 66 |
| 5.3. Diagrama del brazo de muestra del sistema OCE con el módulo de luz UV-A, mostrando como se acopla la trayectoria óptica del haz de escaneo con el haz UV-A, y en el mismo camino el ACUS, en línea roja se muestra el haz de escaneo (1300 nm), en violeta el haz UV-A (365nm). | 67 |
| 5.4. Arreglo experimental de CXL en córneas porcinas <i>ex vivo</i> . Se visualiza la aplicación de riboflavina bajo iluminación UV-A (365 nm) acoplado al sistema OCE que registra la respuesta a la excitación mecánica del ACUS en tiempo real. | 67 |
| 5.5. Cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ durante el tratamiento de CXL Dresden (DRE). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es la medida del espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}). | 70 |
| 5.6. Cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 10 minutos (A10). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es la medida del espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}). | 70 |
| 5.7. Cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 3 minutos (A03). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es la medida del espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}). | 71 |
| 5.8. Comparación del cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ para los protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es el espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}). | 72 |

| | |
|--|----|
| 5.9. Cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ durante el tratamiento de CXL Dresden (DRE). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ representa la velocidad de propagación inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}). | 73 |
| 5.10. Cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 10 minutos (A10). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ representa la velocidad inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}). | 73 |
| 5.11. Cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 3 minutos (A03). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ representa la velocidad inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}). | 74 |
| 5.12. Comparación del cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ para los tres protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ es la velocidad inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}). | 75 |
| 5.13. Cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante el protocolo de CXL Dresden (DRE). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}). | 76 |
| 5.14. Cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante el protocolo de CXL acelerado de 10 minutos (A10). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}). | 76 |
| 5.15. Cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante el protocolo de CXL acelerado de 3 minutos (A03). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}). | 77 |
| 5.16. Comparación del cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ para los protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado 10 min (A10) y Acelerado 3 min (A03). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}). | 78 |

| | |
|---|----|
| 6.1. Propagación de la velocidad de fase en una córnea humana <i>in vivo</i> sin queratocono, excitada con el ACUS a 3500 Hz. El promedio de velocidad es de 11.39 m/s con una desviación estándar de 0.443 m/s. | 83 |
| 6.2. Propagación de la velocidad de fase en una córnea humana <i>in vivo</i> con queratocono, excitada con el ACUS a 3500 Hz. El promedio de velocidad es de 9.27 m/s con una desviación estándar de 1.245 m/s. | 83 |
| 6.3. Velocidad de fase en córneas humanas <i>in vivo</i> . Las imágenes muestran el comportamiento de la velocidad por meridianos, evidenciando la diferencia de propagación en (a) ojo sano y (b) ojo con queratocono. . . . | 84 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| 2.1. Comparación de parámetros entre el protocolo estándar de Dresden y protocolos acelerados de CXL. | 23 |
| 3.1. Caracterización y parámetros ópticos del sistema <i>Swept Source OCT</i> | 28 |
| 5.1. Protocolos de <i>cross-linking</i> corneal (CXL) empleados en el estudio. . . . | 68 |
| 5.2. Comparación de los resultados de los protocolos de CXL, mostrando sus respectivas características: irradiancia UV-A, energía total, módulo de corte inicial G_0 , incremento de G durante la irradiación UV, pendiente m_G durante la irradiación, y espesor corneal promedio Th_0 | 79 |

Capítulo 1

Introducción

1.1. Introducción y motivación

La córnea humana es un tejido blando con propiedades biomecánicas únicas. Constituye la primera interfaz óptica del ojo humano y es la principal responsable del poder refractivo ocular; en otras palabras, determina en gran medida la calidad visual de una persona. Cualquier alteración en sus propiedades estructurales o mecánicas puede modificar su curvatura y transparencia, afectando el poder refractivo y, por ende, la visión. La transparencia y curvatura corneal dependen estrechamente de su biomecánica: la disposición laminar del colágeno en el estroma determina la rigidez y anisotropía del tejido ocular [1, 2].

En este sentido, las alteraciones en la forma, estructura y biomecánica de la córnea están asociadas con enfermedades patológicas como el queratocono. Esta es una enfermedad degenerativa y progresiva que se caracteriza por un adelgazamiento y deformación localizada, usualmente en la región inferior de la córnea, que genera una pérdida significativa en la calidad óptica. En sus etapas iniciales, el tratamiento puede incluir procedimientos como el *crosslinking* corneal o la implantación de anillos intracorneales; sin embargo, en estadios más avanzados, suele requerirse un trasplante de córnea [1, 3]. Por lo tanto, las alteraciones biomecánicas, como las observadas en el queratocono, inducen una deformación ectásica que deteriora sustancialmente la visión del paciente [2, 4-6].

Tradicionalmente, el diagnóstico del queratocono se ha basado en parámetros topográficos y paquidérmicos que describen únicamente los cambios morfológicos y geométricos, sin proporcionar información directa sobre la rigidez corneal. Esta limitante ha impulsado el desarrollo de métodos que permitan evaluar las propiedades biomecánicas de manera más directa, tanto con técnicas invasivas como no invasivas, para detectar la enfermedad en estadios tempranos y evaluar con mayor precisión su progresión [7, 8].

El tratamiento de *crosslinking* corneal (CXL) se considera el procedimiento más eficaz para detener la progresión del queratocono. Este consiste en la instilación de riboflavina sobre la córnea, seguida de irradiación con luz UV para inducir la formación de enlaces covalentes entre las fibras de colágeno del estroma. A pesar de su efectividad, persisten desafíos como la detección del queratocono en etapas iniciales y la falta de métodos que cuantifiquen los cambios biomecánicos inducidos por el CXL de manera no invasiva y localizada. Entre los diferentes protocolos existentes, el protocolo Dresden (3 mW/cm^2 durante 30 minutos) ha demostrado aumentar significativamente

la rigidez corneal, aunque los protocolos acelerados, personalizados o con remoción epitelial buscan reducir tiempos o adaptar dosis [9]. Resulta, por tanto, fundamental contar con herramientas capaces de cuantificar los efectos biomecánicos del CXL *in vivo* y en tiempo real, para validar su eficacia y optimizar su aplicación clínica [5, 6, 10-12].

La elastografía es una técnica de imagen médica que proporciona información sobre las propiedades mecánicas de los tejidos. La elasticidad es un parámetro biomecánico clave tanto para comprender procesos fisiológicos como para evaluar enfermedades y respuestas a tratamientos. La elastografía se ha aplicado con éxito en modalidades como la resonancia magnética (MRE) y el ultrasonido (USE), permitiendo generar mapas de elasticidad a escala milimétrica. Con la aparición de la tomografía de coherencia óptica (OCT), basada en la interferencia óptica, fue posible alcanzar resoluciones micrométricas y profundidades de penetración del orden de 1–2 mm, dando origen a la elastografía por tomografía de coherencia óptica (OCE) [13-18].

La OCE combina la alta resolución espacial de la OCT con una sensibilidad submicrométrica a desplazamientos generados por ondas mecánicas inducidas en el tejido. El análisis de la propagación de estas ondas permite estimar la velocidad de corte y, a partir de ella, calcular parámetros biomecánicos como el módulo de corte (G) [13, 19].

Esta investigación busca trasladar estas capacidades a un sistema OCE que permita cuantificar parámetros biomecánicos bajo condiciones controladas en estudios con córneas animales *ex vivo*, con el objetivo de caracterizar la respuesta biomecánica posterior a distintos protocolos de CXL [20-24]. Así, el enfoque de esta tesis se orienta hacia la detección temprana del queratocono mediante parámetros biomecánicos, ofreciendo una perspectiva innovadora para el diagnóstico y manejo clínico de esta patología.

En el capítulo 1 se plantea la problemática de la enfermedad del queratocono y las limitaciones actuales, también muestra los objetivos del trabajo de tesis de investigación. En el capítulo 2 se realiza una revisión de la biomecánica de los tejidos, fundamentos del sistema OCT y OCE, el tipo de fuentes de excitación, estimadores y diferentes protocolos, además de una explicación de tratamientos clínicos como el *crosslinking* (CXL).

En el capítulo 3 se explica la traslación clínica del sistema OCE y el protocolo de adquisición que se usa. El capítulo 4 aborda los experimentos con maniqués de silicona en forma de una córnea humana con diferentes características y el experimento con córneas de porcino *ex vivo*, se explica también, la metodología experimental y sus resultados.

En el capítulo 5 se analiza la comparación biomecánica de diferentes protocolos de *crosslinking* (CXL) clínicos durante todo el tiempo de tratamiento, estas comparaciones se realizan en córneas porcinas *ex vivo*. Por último en el capítulo 6 se discute el trabajo realizado y se propone el trabajo futuro en clínica, y se muestra que el sistema sí permite identificar en córneas humanas *in vivo* las diferencias de los parámetros biomecánicos.

1.2. Planteamiento del problema

El queratocono es una enfermedad degenerativa y progresiva que provoca un adelgazamiento y deformación del tejido corneal, especialmente en su región inferior, lo que compromete la calidad óptica del ojo del paciente [2, 6]. Aunque la topografía y la paquimetría son herramientas clínicas valiosas, estas solo permiten describir las

consecuencias geométricas derivadas de la pérdida de rigidez biomecánica [4, 7, 8]. Por ello, el diagnóstico temprano resulta limitado y con frecuencia se produce una intervención tardía, cuando el daño visual ya es irreversible.

El procedimiento de CXL ha demostrado ser eficaz para frenar la progresión del queratocono, aunque su éxito depende de múltiples factores, como la profundidad de penetración de la luz UV, la concentración de riboflavina, la composición del vehículo (p. ej., dextrano) y el tipo de protocolo utilizado (Dresden, acelerado, personalizado) [9]. Sin embargo, la falta de herramientas que permitan cuantificar los cambios biomecánicos *in vivo* y en tiempo real limita la posibilidad de adaptar los protocolos a las necesidades de cada paciente [5, 10-12, 25].

La OCE basada en la propagación de ondas mecánicas ha demostrado en estudios experimentales la capacidad de medir directamente la velocidad de ondas de corte o Lamb en la córnea, lo que permite estimar parámetros como el módulo de corte (G) y el módulo de Young (E) con alta resolución espacial [26-31]. Esta tecnología ofrece una oportunidad real para superar las limitaciones de las técnicas actuales, al permitir mediciones biomecánicas locales y no invasivas [13, 16-18].

No obstante, su adopción clínica enfrenta desafíos como la estandarización de modelos físicos para la interpretación de ondas mecánicas en medios anisótropos, la validación experimental en condiciones *ex vivo* e *in vivo*, y la correlación de los parámetros elastográficos con los resultados clínicos [26, 32-35].

Por tanto, es necesario desarrollar un sistema de OCT con elastografía optimizado para la córnea, capaz de generar y registrar la propagación de ondas mecánicas mediante excitación sin contacto, garantizando seguridad, repetibilidad y precisión en entornos clínicos reales [20, 35-39]. Esta tesis aborda esa necesidad, buscando implementar un sistema de tomografía de coherencia óptica con elastografía que contribuya a la detección temprana del queratocono y a la evaluación objetiva de los protocolos de CXL.

1.3. Justificación del estudio

La progresión del queratocono puede detenerse mediante el *corneal crosslinking* (CXL) si el tratamiento se aplica en fases tempranas [5, 6], cuando la estructura corneal aún conserva integridad biomecánica. No obstante, la ausencia de herramientas clínicas que detecten y cuantifiquen alteraciones biomecánicas locales antes de la manifestación morfológica limita la eficacia de las intervenciones actuales y favorece diagnósticos tardíos [2, 4, 7].

El desarrollo de un sistema de tomografía de coherencia óptica con elastografía (OCT-OCE) orientado a la córnea representa una solución tecnológica innovadora, ya que permitiría generar mapas cuantitativos de rigidez con resolución micrométrica, detectar debilitamientos focales incipientes y evaluar de forma no invasiva el impacto biomecánico de tratamientos como el CXL. A diferencia de los métodos convencionales, que ofrecen mediciones globales con baja sensibilidad a cambios locales, la OCE basada en ondas mecánicas brinda acceso directo a parámetros elásticos fundamentales, como el módulo de corte (G) y el módulo de Young (E), a partir de la velocidad de propagación de ondas de corte o Lamb en la córnea [13, 26-28, 31].

La implementación de esta tecnología en un formato clínico requiere integrar un sistema OCT de alta sensibilidad con un método de excitación sin contacto, como

el ultrasonido acoplado al aire (ACUS), alineado coaxialmente con el haz óptico. Esta configuración no solo garantiza seguridad y confort para el paciente, sino que también maximiza la eficiencia en la detección de desplazamientos nanométricos y en la estimación precisa de propiedades mecánicas [35, 36, 39, 40].

Asimismo, un sistema de estas características ofrecería una herramienta versátil para la investigación traslacional en oftalmología, al facilitar la comparación objetiva entre protocolos de CXL, como el de Dresden y los acelerados, y permitir la optimización del tratamiento según la respuesta biomecánica individual [9, 10, 12, 25].

En este sentido, la presente tesis se justifica por su potencial impacto clínico al proponer una solución tecnológica que permite la detección temprana del queratocono y la evaluación cuantitativa de terapias, contribuyendo así a preservar la visión y mejorar la calidad de vida de los pacientes [4, 7, 23, 26, 38].

1.4. ³¹Objetivos de la investigación

1.4.1. ³¹Objetivo general

Implementar un sistema de tomografía de coherencia óptica con elastografía para obtener imágenes de la estructura y biomecánica de la córnea para la detección temprana del queratocono.

1.4.2. ³⁹Objetivos específicos

1. Realizar la traslación de un sistema OCT de laboratorio a un formato clínico que tenga la capacidad de generar excitación mecánica de tejidos usando un transductor ultrasónico acoplado al aire.
2. ¹⁰Desarrollar un protocolo de adquisición de datos en el sistema OCT clínico que permita medir la propagación de ondas mecánicas en tejidos.
3. Estimar la velocidad de ondas mecánicas y calcular el módulo de corte en maniqués elásticos que imiten la córnea y en modelos animales ex vivo.
4. Comparar el impacto temporal de diferentes protocolos de Crosslinking aplicados en la clínica en la biomecánica de ojos de porcino ex vivo empleando elastografía de coherencia óptica basada en ondas.

Capítulo 2

Estado del Arte y Marco Teórico

2.1. Propiedades biomecánicas de la córnea

La córnea es un tejido con un comportamiento mecánico complejo debido a su estructura laminar compuesta por fibrillas de colágeno y a su naturaleza viscoelástica [1, 17, 31]. Desde un punto de vista físico, se considera un medio estratificado y transversalmente anisotrópico, en el que las propiedades elásticas dependen de la orientación de las fibrillas de colágeno, del espesor y de las condiciones de frontera del tejido [13, 26].

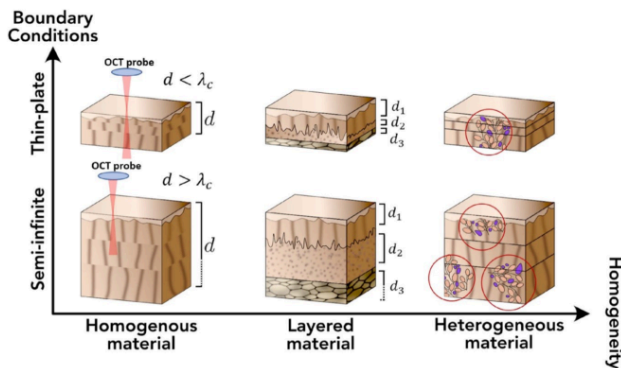


FIGURA 2.1 Distribución del material y sus condiciones de frontera en función del espesor (d) y la longitud de onda (λ_c). Se muestran tres niveles de caracterización del medio: homogéneo, estratificado y heterogéneo, así como dos condiciones de frontera: placa delgada y medio semi-infinito [13].

En la figura 2.1 se ilustran las distintas condiciones que puede presentar un tejido en el cual se propagan ondas mecánicas [27, 31]. El eje horizontal representa los diferentes tipos de materiales, homogéneos, estratificados o heterogéneos, mientras que el eje vertical indica las condiciones de frontera del tejido en función de la relación entre su espesor (d) y la longitud de onda de la excitación mecánica (λ_c).

Cuando el espesor es menor que la longitud de onda, el tejido puede considerarse

una placa delgada, en la que las ondas se reflejan entre las interfaces superior e inferior del tejido [27, 30, 31]. En cambio, si el espesor es mayor que la longitud de onda, el medio se aproxima a un material semi-infinito, donde las ondas se propagan sin interactuar significativamente con las fronteras o capas del tejido [23].

En la córnea humana, cuyo espesor promedio es de aproximadamente 0.5 mm, la longitud de onda de la excitación mecánica se encuentra en el rango de $\lambda_c \approx 0.3-1.0$ mm. Por tanto, la córnea puede comportarse tanto como una placa delgada como un medio semi-infinito, dependiendo de las condiciones experimentales. Esta dualidad afecta la propagación de las ondas Lamb y evidencia la dependencia de la rigidez del tejido con la frecuencia de excitación y con la presión intraocular (IOP) [26, 32-34].

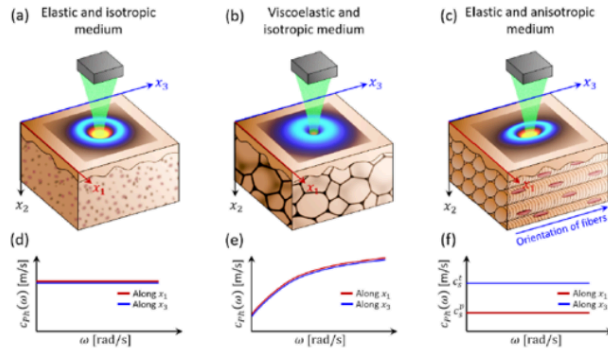


FIGURA 2.2 Propagación de ondas mecánicas en medios con diferentes propiedades: (a) medio elástico e isotrópico, (b) medio viscoelástico e isotrópico, y (c) medio elástico y anisotrópico. Las curvas (d–f) muestran las velocidades de fase $c_{\phi}(\omega)$ correspondientes: (d) no dispersiva, (e) dependiente de la frecuencia, y (f) anisotrópica según la orientación de las fibras [13].

La figura 2.2 muestra tres modelos de propagación de ondas mecánicas en distintos tipos de medios: (a) un medio elástico e isotrópico, en el que la velocidad de fase es constante; (b) un medio viscoelástico e isotrópico, en el que la velocidad de fase aumenta con la frecuencia; y (c) un medio elástico y anisotrópico, donde la velocidad de fase depende de la dirección de propagación respecto a la orientación de las fibras. En el caso de la córnea, esta dependencia se asocia con la disposición de las fibras de colágeno en el estroma [16, 18].

En este contexto, el comportamiento anisotrópico de la córnea puede describirse mediante el módulo de corte dependiente del ángulo, definido por la ecuación 2.1. En dicha expresión, G_0 representa la componente isotrópica y ΔG la componente anisotrópica asociada a la orientación de las fibras de colágeno. El ángulo θ corresponde a la dirección de propagación de la onda mecánica respecto al eje principal de las fibras:

$$G(\theta) = G_0 + \Delta G \cdot \cos^2(\theta) \quad (2.1)$$

De acuerdo con la ecuación 2.1, la rigidez del tejido aumenta cuando la propagación de la onda coincide con la dirección de las fibras de colágeno [1, 17, 22, 26].

En condiciones fisiológicas, la córnea se comporta como una placa delgada, viscoelástica y anisotrópica. Su respuesta a la excitación mecánica depende de tres factores principales: (1) las propiedades viscoelásticas del colágeno y de la matriz extracelular; (2) la disposición laminar del estroma; y (3) la presión intraocular, que genera tensión en las fibras y modifica la respuesta biomecánica del tejido [1, 26, 33, 34].

La propagación de ondas Lamb en la córnea puede ser detectada mediante OCE. Estas ondas dependen no solo del espesor corneal, sino también de la organización interna de las fibras del estroma. Por ello, los análisis de dispersión deben considerar las condiciones de frontera (figura 2.1) y la anisotropía del material (figura 2.2) [13, 27, 28, 30].

Las figuras 2.1 y 2.2 ayudan a visualizar las condiciones que afectan la propagación de ondas en tejidos biológicos. En el caso de la córnea, factores como el espesor, las condiciones de frontera, el grado de homogeneidad o estratificación y la orientación de las fibras de colágeno determinan cómo se propagan las ondas mecánicas y, por tanto, cómo debe interpretarse la información elastográfica obtenida.

Debido a esta complejidad estructural, la respuesta biomecánica de la córnea depende de la dirección de propagación de la onda, la frecuencia de excitación y la presión aplicada. Comprender estos factores es esencial para interpretar correctamente los datos adquiridos mediante OCE y estimar con precisión los parámetros de rigidez corneal [17, 31].

2.2. Fundamentos de tomografía de coherencia óptica con elastografía (OCE)

OCT es una técnica interferométrica con luz de baja coherencia que permite obtener imágenes estructurales de tejidos biológicos con resolución micrométrica. Con OCE, además de la información estructural, es posible medir desplazamientos tisulares a partir de la información de fase, con sensibilidad en el orden de los nanómetros. Esta medición de desplazamientos, combinada con la estructura, permite calcular propiedades biomecánicas como el módulo de Young (E) o el módulo de corte (G) [16-18, 23, 31].

La base física de OCT se describe mediante la interferencia entre dos haces de luz que recorren caminos ópticos diferentes: el brazo de referencia, que se refleja en un espejo, y el brazo de muestra, cuya luz se retrodispersa desde el tejido. La intensidad interferométrica detectada depende del retardo óptico entre ambos caminos. Su análisis permite reconstruir perfiles axiales de retrodispersión (A-lines), como se muestra en la figura 2.3, donde se observan las contribuciones de cada capa del tejido [17, 41].

En la configuración *time domain* (TD-OCT), el espejo del brazo de referencia se desplaza longitudinalmente una distancia Δz para igualar las longitudes de camino óptico de los dos brazos del interferómetro (muestra y referencia), como se muestra en la figura 2.4. La interferencia se observa cuando el retardo entre caminos está dentro de la longitud de coherencia de la fuente de luz (*source*). Este sistema presenta buena sensibilidad, pero requiere un escaneo mecánico del espejo de referencia, lo que limita la velocidad de adquisición [41].

En *spectral domain* (SD-OCT), también denominado dominio espectral o de Fourier, el espejo de referencia permanece fijo (es decir, $\Delta z = 0$) y la información en profundidad se extrae del espectro de interferencia registrado en un detector lineal tras

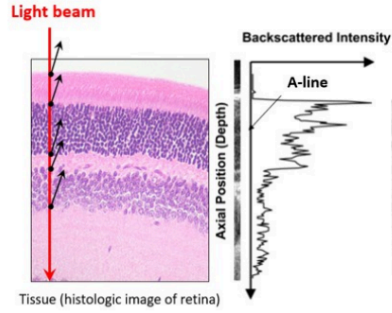


FIGURA 2.3 Perfil de intensidad de interferencia de retrodispersión de las diferentes capas en la profundidad del tejido.

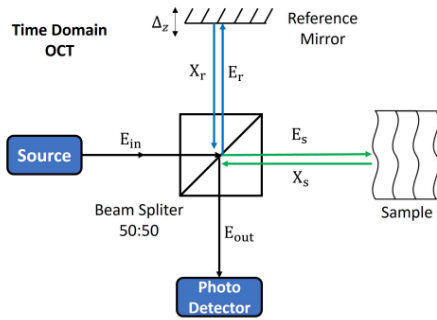


FIGURA 2.4 Esquema del sistema OCT en *time domain* (TD-OCT). El espejo de referencia se desplaza a lo largo del eje óptico una distancia Δz para obtener interferencia.

una rejilla de difracción (figura 2.5). El perfil axial (A-line) se reconstruye aplicando la transformada de Fourier. Al no requerir movimiento mecánico del espejo de referencia, la velocidad de adquisición aumenta respecto de TD-OCT [17].

El sistema *Swept Source* OCT (SS-OCT), ilustrado en la figura 2.6, combina la adquisición en dominio espectral con una fuente láser de barrido (p. ej., 200 kHz). En este régimen, existe la relación $k = 2\pi/\lambda$. La señal incidente en el divisor de haz (*beam splitter*) se divide en dos: el brazo de referencia se refleja en un espejo y retorna al divisor; el brazo de muestra se retrodispersa en cada capa del tejido y también retorna al divisor, donde interfiere con el brazo de referencia y se dirige al fotodetector.

Para este tipo de sistema, la intensidad de interferencia detectada, $I_D(k)$, depende de las propiedades espectrales de la fuente $s(k)$ y de la respuesta de la muestra a través de la función de transferencia $H(k)$. El campo de entrada de la fuente, E_{in} , puede describirse como 2.2 [41]:

$$E_{in}(k) = s(k) e^{ikx} e^{-i\omega t} \quad (2.2)$$

$$S(k) = |s(k)|^2 \quad (2.3)$$

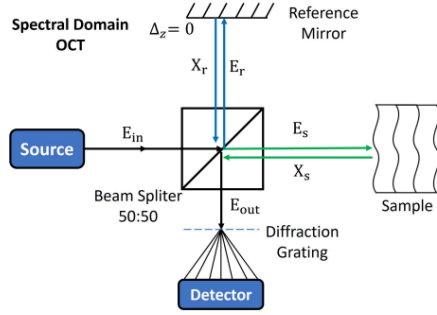


FIGURA 2.5 Esquema del sistema OCT en *spectral domain* (SD-OCT). La información de profundidad se obtiene con una rejilla de difracción y un detector lineal.

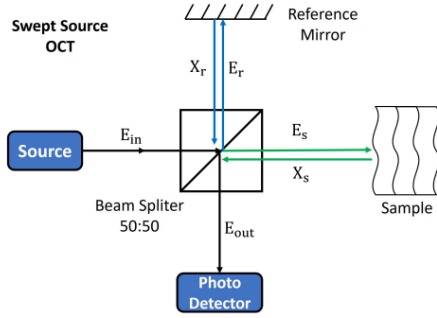


FIGURA 2.6 Esquema del sistema *Swept Source* OCT (SS-OCT). Los caminos ópticos de referencia y muestra se combinan para analizar su interferencia. Cada capa de la muestra retrodispersa el haz desde una profundidad diferente.

donde $s(k)$ es la amplitud espectral de la fuente y $S(k)$ su densidad espectral (ecuación 2.3). El campo del brazo de referencia ($E_r(k)$), reflejado en el espejo, y el campo del brazo de muestra ($E_s(k)$), retrodispersado por la muestra, se escriben como 2.4:

$$E_r(k) = s(k) e^{i2kx_r} e^{-i\omega t}, \quad E_s(k) = s(k) e^{i2kx_s} e^{-i\omega t} H(k), \quad (2.4)$$

donde x_r y x_s representan los recorridos ópticos de referencia y muestra, respectivamente (figura 2.6).

La función de transferencia de la muestra $H(k)$ modela la retrodispersión de las capas y puede escribirse como 2.5:

$$H(k) = \sum_{j=1}^N r_j \exp\left(i2k \sum_{m=1}^j n_m \tau_m\right), \quad r_j = \frac{n_{j+1} - n_j}{n_{j+1} + n_j}, \quad (2.5)$$

donde r_j es el coeficiente de reflexión entre capas, n_m el índice de refracción y τ_m el

espesor de cada capa. Así, el campo de muestra puede reescribirse como 2.6:

$$E_s(k) = s(k)e^{ik2x_s}e^{-i\omega t}H(k) \quad (2.6)$$

El campo total en el fotodetector (E_{out}), que denotamos E_D , es la suma de los campos de referencia y muestra (ecuación 2.7):

$$E_D(k) = E_r(k) + E_s(k) \quad (2.7)$$

La intensidad de interferencia registrada en el fotodetector se define como 2.8:

$$I_D(k) = \langle E_D(k) E_D^*(k) \rangle_t \quad (2.8)$$

Desarrollando 2.8:

$$\begin{aligned} I_D(k) &= \langle (E_r + E_s)(E_r + E_s)^* \rangle_t \\ I_D(k) &= \langle E_r E_r^* + E_r E_s^* + E_s E_r^* + E_s E_s^* \rangle_t \\ I_D(k) &= \langle E_r E_r^* \rangle_t + \langle E_s E_s^* \rangle_t + \langle E_r E_s^* + E_s E_r^* \rangle_t \end{aligned} \quad (2.9)$$

Donde $I_r(k) = \langle E_r E_r^* \rangle_t$ es la intensidad de referencia e $I_s(k) = \langle E_s E_s^* \rangle_t$ la intensidad de muestra. Resolviendo los términos:

$$\begin{aligned} I_D(k) &= I_r + I_s + \left\langle \frac{1}{2}s(k)e^{i2kx_r}e^{-i\omega t} \frac{1}{2}s(k)^*e^{-i2kx_s}e^{i\omega t}H(k)^* \right\rangle_t \\ &\quad + \left\langle \frac{1}{2}s(k)e^{i2kx_s}e^{-i\omega t}H(k) \frac{1}{2}s(k)^*e^{-i2kx_r}e^{i\omega t} \right\rangle_t \\ I_D(k) &= \frac{1}{4}S(k)S(k)^* + \frac{1}{4}S(k)S(k)^*H(k)H(k)^* \\ &\quad + \frac{1}{4}S(k)S(k)^*H(k)^* + \frac{1}{4}S(k)H(k)S(k)^* \\ I_D(k) &= \frac{1}{4}S(k) + \frac{1}{4}S(k)|H(k)|^2 + \frac{1}{4}S(k)\{H(k)^* + H(k)\} \\ I_D(k) &= \frac{1}{4}S(k) + \frac{1}{4}S(k)|H(k)|^2 + \frac{1}{4}S(k)\{2\text{Re}\{H(k)\}\} \\ I_D(k) &= \frac{1}{4}S(k) + \frac{1}{4}S(k)|H(k)|^2 + \frac{1}{2}S(k)\text{Re}\{H(k)\} \end{aligned} \quad (2.10)$$

De 2.10 se identifican: $I_{DC}(k) = \frac{1}{4}S(k)$ (componente DC), $I_{SI}(k) = \frac{1}{4}S(k)|H(k)|^2$ (auto-interferencia de muestra) e $I_{AC}(k) = \frac{1}{2}S(k)\text{Re}\{H(k)\}$ (término de interferencia). En conjunto:

$$I_D(k) = I_{DC}(k) + I_{SI}(k) + I_{AC}(k) \quad (2.11)$$

La señal detectada $I_D(k)$ se transforma al dominio espacial aplicando la transformada de Fourier (FT), obteniéndose:

$$I_D(z) = FT\{I_D(k)\} \quad (2.12)$$

$$I_D(z) = I_{DC}(z) + I_{SI}(z) + I_{AC}(z) \quad (2.13)$$

con

$$I_{DC}(z) = \frac{1}{4} FT \{S(k)\} \quad (2.14)$$

$$I_{SI}(z) = \frac{1}{4} FT \{S(k)|H(k)|^2\} \quad (2.15)$$

$$I_{AC}(z) = \frac{1}{2} FT \{S(k) \operatorname{Re}\{H(k)\}\} \quad (2.16)$$

De la componente AC (ecuación 2.16) se obtiene la información de las reflexiones de retrodispersión de las capas del tejido; a partir de ella se reconstruyen los A-lines. En OCE, la diferencia de fase de esta señal entre tiempos consecutivos codifica los desplazamientos axiales submicrométricos [13].

En OCT, la resolución axial está determinada por las características de la fuente. La resolución axial (longitud de coherencia) l_c viene dada por 2.17:

$$l_c = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \frac{\lambda_c^2}{\Delta\lambda}, \quad (2.17)$$

donde λ_c es la longitud de onda central y $\Delta\lambda$ el ancho de banda (FWHM).

Por ejemplo, para una fuente centrada en $\lambda_0 = 1300$ nm con $\Delta\lambda = 50$ nm, la figura 2.7(a) muestra el espectro en λ ; al pasar al dominio k , figura 2.7(b), el espectro $S_L(k)$ adquiere forma gaussiana en k .

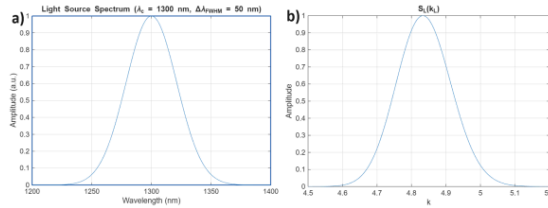


FIGURA 2.7 (a) Espectro de la fuente de luz centrado en $\lambda_0 = 1300$ nm con ancho $\Delta\lambda = 50$ nm (FWHM). (b) Espectro $S_L(k)$ en el dominio del número de onda k .

Como ejemplo, considérese la córnea de la figura 2.8. El esquema muestra cinco capas: epitelio ($\tau \approx 50 \mu m$), membrana de Bowman ($\tau \approx 15 \mu m$), estroma ($\tau \approx 470 \mu m$), membrana de Descemet ($\tau \approx 12 \mu m$) y endotelio ($\tau \approx 6 \mu m$). El estroma representa aproximadamente el 90% del espesor total [1].

Para este tejido (figura 2.8), el sistema OCT adquiere la señal total $I_D(k)$ (ecuación 2.11), suma de: la componente DC $I_{DC}(k)$ (figura 2.9(a)), señal constante asociada a referencia y muestra; la componente $I_{SI}(k)$ (figura 2.9(b)), debida a auto-interferencias en la muestra; y la componente $I_{AC}(k)$ (figura 2.9(c)), que contiene la información en profundidad del tejido.

La suma de las tres contribuciones forma la señal detectada $I_D(k)$ (figura 2.10). La interferencia producida por los cambios de índice entre capas genera un patrón cuya frecuencia se relaciona con las distancias (profundidades) de dichas capas.

Aplicando la FT a $I_D(k)$, se obtiene $I_D(z)$, que muestra la distribución en profundidad de las capas (figura 2.11). La componente DC $I_{DC}(z)$ es la FT de la señal constante (figura 2.11(a)); la componente SI $I_{SI}(z)$ corresponde a reflexiones múltiples de menor

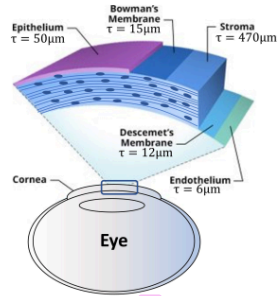


FIGURA 2.8 Esquema de la estructura corneal: epitelio, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio, con espesores promedio.

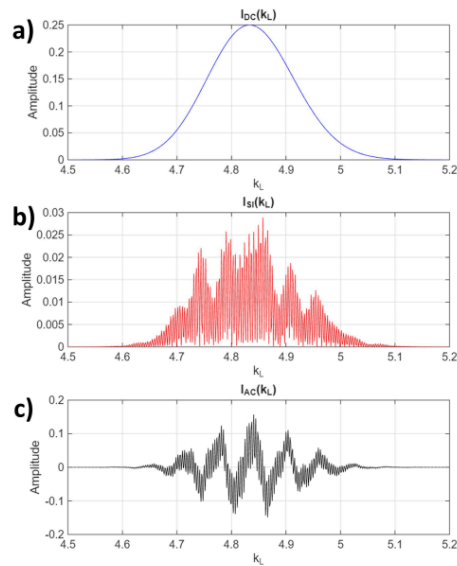


FIGURA 2.9 Componentes de la señal de interferencia $I_D(k)$: (a) $I_{DC}(k)$, (b) $I_{SI}(k)$ y (c) $I_{AC}(k)$.

amplitud (figura 2.11(b)); y la componente AC $I_{AC}(z)$ contiene la información espacial de las interfaces (figura 2.11(c)).

La suma $I_D(z) = I_{DC}(z) + I_{SI}(z) + I_{AC}(z)$ (figura 2.12) presenta picos cuya amplitud y posición corresponden a las distintas capas del tejido. A partir de esta señal es posible estimar espesores de capas y, posteriormente, realizar el análisis biomecánico en OCE.

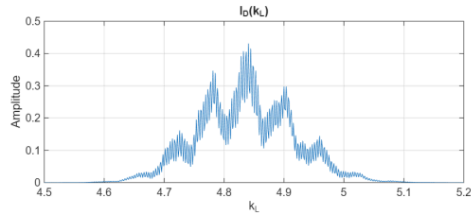


FIGURA 2.10 Señal de interferencia total $I_D(k)$ como suma de las componentes DC, SI y AC.

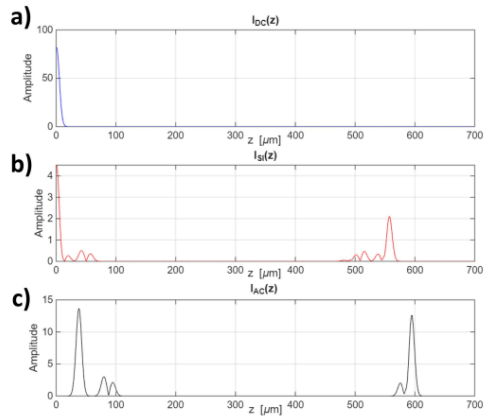


FIGURA 2.11 Componentes en el dominio espacial tras la FT: (a) $I_{DC}(z)$, (b) $I_{SI}(z)$ y (c) $I_{AC}(z)$.

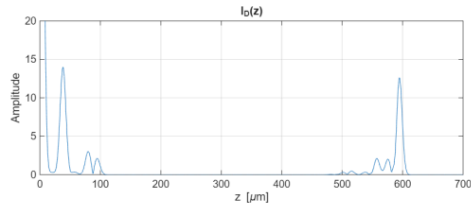


FIGURA 2.12 Señal $I_D(z)$: amplitud de los picos ubicados en las posiciones espaciales de las capas del tejido.

2.3. Principios de elastografía de coherencia óptica (OCE)

A continuación se presentan los fundamentos físicos de la OCE, técnica que combina la tomografía de coherencia óptica con una excitación mecánica controlada para generar la propagación de ondas y, a partir de sus parámetros, cuantificar propiedades biomecánicas de los tejidos [16-18, 31].

Se muestran los diferentes tipos de excitación mecánica empleados para inducir ondas en el tejido; por ejemplo, los transductores ultrasónicos acoplados al aire (ACUS), que generan excitación no invasiva y sin contacto.

Asimismo, se analizan los tipos de ondas mecánicas relevantes (ondas de corte, Lamb y longitudinales) y se esquematiza su propagación en distintos medios, considerando el caso particular de la córnea humana.

2.3.1. Fuentes de excitación y clasificaciones

La fuente de excitación mecánica determina el tipo de onda generada en la muestra. Estas fuentes pueden clasificarse (i) según el modo de interacción con el tejido: de contacto o sin contacto, y (ii) según la naturaleza de la excitación: activa o pasiva [13, 16-18].

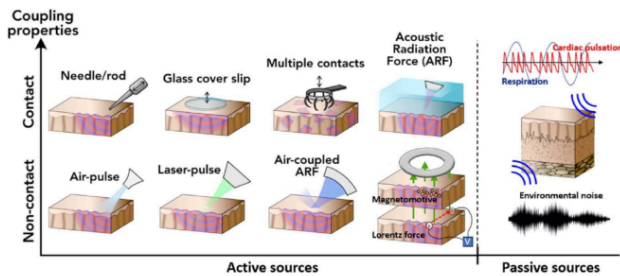


FIGURA 2.13 Clasificación de las fuentes de excitación según el tipo de interacción (contacto/no contacto) y la naturaleza de la excitación (activa/pasiva) [13].

En la figura 2.13 se sintetiza esta clasificación. El eje vertical distingue entre fuentes de contacto y de no contacto; el eje horizontal diferencia fuentes activas de pasivas. Las fuentes pasivas no se controlan externamente (por ejemplo, pulsación cardíaca o respiración) y suelen observarse en mediciones *in vivo* [13, 16-18].

Las fuentes activas con contacto transmiten la excitación directamente al tejido mediante una interfaz sólida o líquida. Entre ellas se incluyen agujas o probetas vibrantes que generan oscilaciones puntuales, sistemas de compresión que inducen deformaciones periódicas y arreglos multicontacto que distribuyen la excitación sobre un área mayor [15-18]. Estos métodos son invasivos y, por tanto, poco adecuados para la córnea de pacientes, dado el riesgo de daño por contacto.

Las fuentes activas sin contacto son las más empleadas en OCE, pues inducen ondas sin perturbar mecánicamente la superficie. Entre ellas se encuentran los impulsos de aire (*air-pulse*), que aplican una sobrepresión breve; los pulsos láser (*laser-pulse*),

que generan ondas por mecanismos optoacústicos o fotoinducidos; y la fuerza de radiación acústica acoplada al aire (ARF), que produce una presión localizada sobre la superficie del tejido [23, 36, 40].

Por su parte, las fuentes pasivas corresponden a vibraciones intrínsecas del organismo (p. ej., latido cardíaco y respiración) o a excitaciones ambientales; son de interés en contextos *in vivo* y para esquemas de medición oportunista [35, 40].

2.3.1.1. Transductores de ultrasonido acoplados al aire

Los transductores ultrasónicos acoplados al aire (ACUS) permiten generar excitaciones mecánicas que producen pequeñas deformaciones tisulares sin contacto con la muestra, lo cual es ideal para estudios oculares [17, 22, 23, 36, 40]. Un ACUS convierte una señal eléctrica de frecuencia f en una onda de presión acústica que se propaga en el aire y se enfoca sobre la muestra [16, 18, 31, 42].

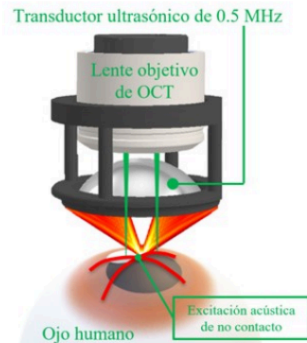


FIGURA 2.14 Esquema de un ACUS alineado coaxial y confocalmente con el sistema OCT, de modo que la excitación y el punto de escaneo coinciden espacialmente [29].

La figura 2.14 ilustra un diseño referencial de ACUS alineado coaxial y confocal al haz OCT. Un transductor, típicamente de 500 kHz, se alinea con el lente objetivo del OCT para focalizar la excitación acústica en el mismo punto en el que se enfoca el haz de escaneo, maximizando así la eficiencia de acoplamiento y la sensibilidad a desplazamientos nanométricos [31, 36].

2.3.2. Propagación y tipos de ondas mecánicas en tejidos

La propagación de las ondas mecánicas en tejidos corneales depende de sus propiedades elásticas, viscosas y estructurales, así como de las condiciones de frontera del tejido. La córnea se considera un medio viscoelástico, anisotrópico y con geometría de placa delgada, en el cual la propagación de ondas permite estimar parámetros biomecánicos fundamentales [13, 26, 30, 33].

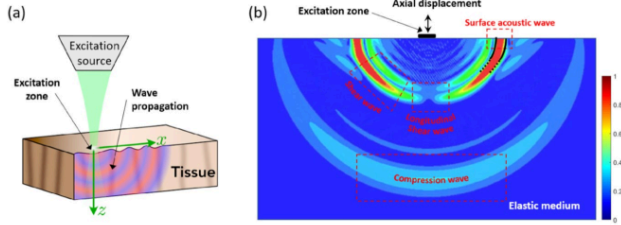


FIGURA 2.15 Tipos de ondas mecánicas generadas en un medio elástico mediante una excitación mecánica. (a) Esquema de una fuente de excitación focalizada; (b) simulación numérica de desplazamientos axiales donde se distinguen las componentes principales: onda de corte (*shear wave*), onda Lamb (superficial), onda de corte longitudinal y onda de compresión [13].

Cuando un estímulo mecánico externo genera una oscilación en el tejido por ejemplo, la excitación acústica generada por un ACUS, se produce una perturbación superficial que se propaga según la relación entre el espesor del tejido (d) y la longitud de onda mecánica (λ_m), como se indicó previamente en la figura 2.1 [13, 30].

Si $d \gg \lambda_m$, el tejido se comporta como un medio elástico semiinfinito; si $d \approx \lambda_m$, se generan ondas guiadas o Lamb; y si $d \ll \lambda_m$, la energía se confina a la superficie, produciendo ondas longitudinales superficiales (LSW).

2.3.2.1. Ondas de corte

Las ondas de corte (*shear waves*) son aquellas en las que las partículas del medio se desplazan transversalmente a la dirección de propagación de la onda (figura 2.15) [16, 31]. Su velocidad depende directamente del módulo de corte G y de la densidad ρ del material, de acuerdo con la ecuación 2.18:

$$c_s = \sqrt{\frac{G}{\rho}} \quad (2.18)$$

En un medio elástico e isotrópico ideal, las ondas de corte son no dispersivas, es decir, su velocidad no depende de la frecuencia. Sin embargo, en tejidos biológicos, la viscoelasticidad introduce una dependencia con la frecuencia angular ω , lo que da lugar al módulo de corte complejo definido como 2.19:

$$G^*(\omega) = G'(\omega) + i G''(\omega) \quad (2.19)$$

Donde G' representa la componente elástica y G'' la componente viscosa [16, 31, 43]. En tejidos viscoelásticos, esta naturaleza compleja causa dispersión, la velocidad varía con la frecuencia y atenuación, la amplitud decae con la distancia. En la córnea,

las ondas de corte se atenúan rápidamente debido a la alta viscoelasticidad del estroma [20, 21, 28].

2.3.2.2. Ondas Lamb

Las ondas Lamb se originan cuando una onda de corte interactúa con las fronteras superior e inferior de una estructura delgada, produciendo reflexiones múltiples que interfieren constructivamente dentro del medio [21, 27]. Su propagación está gobernada por las ecuaciones de Rayleigh–Lamb, que describen los modos simétrico (S_0) y antisimétrico (A_0), como se muestra en la figura 2.16:

$$\frac{\tan(qh)}{\tan(ph)} = -\frac{4k^2 pq(q^2 - k^2)^2}{(q^2 - k^2)^2} \quad (2.20)$$

Donde p y q son los números de onda longitudinal y transversal, h el semiespesor de la placa y k el número de onda total.

En la córnea, que se comporta como una placa blanda y delgada, el modo antisimétrico fundamental A_0 es el dominante y se propaga más rápidamente [27, 30]. En este modo, los desplazamientos longitudinales y transversales se combinan, y la velocidad de fase depende de la frecuencia:

$$c_{A_0}(\omega) \approx \left(\frac{G}{\rho}\right)^{1/4} \sqrt{\omega h} \quad (2.21)$$

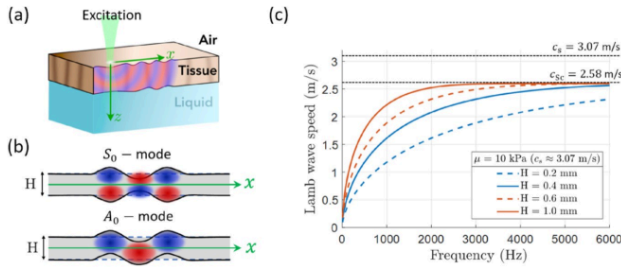


FIGURA 2.16 Propagación y modos de ondas Lamb en tejidos blandos. (a) Esquema de excitación mecánica sobre una placa delgada que simula la córnea; (b) representación de los modos simétrico (S_0) y antisimétrico (A_0) con sus patrones de desplazamiento; y (c) relación teórica de dispersión de la velocidad de fase para diferentes espesores corneales y módulo de corte μ , donde a altas frecuencias las velocidades tienden a la velocidad de onda de corte c_s [13].

2.3.2.3. Ondas de corte longitudinales (LSW)

Las ondas longitudinales superficiales (LSW), mostradas en la figura 2.15, se producen cuando la longitud de onda mecánica λ_m es mucho mayor que el espesor del tejido (d). En este caso, la excitación se propaga predominantemente a lo largo de la superficie, generando un modo longitudinal de corte (*Longitudinal Shear Wave, LSW*) [13, 29, 44].

La velocidad de fase de estas ondas depende del módulo de Young (E) y del coeficiente de Poisson (ν), y se expresa como:

$$c_{LSW} = \sqrt{\frac{E(1-\nu)}{\rho(1+\nu)(1-2\nu)}} \quad (2.22)$$

En el contexto corneal, este tipo de ondas se manifiesta principalmente en regiones periféricas del tejido o bajo excitaciones de baja frecuencia, donde el comportamiento se aproxima al de un medio elástico superficial.

2.4. Estimadores de velocidad de onda

La estimación de la velocidad de propagación de las ondas generadas por excitaciones mecánicas en tejidos biológicos es fundamental para la cuantificación de sus propiedades biomecánicas, especialmente las elásticas locales mediante OCE. Los métodos empleados para determinar estas velocidades buscan caracterizar la relación entre el desplazamiento $u(x, t)$ y la distancia espacial o temporal recorrida por la excitación. En el caso de la córnea, donde las ondas Lamb A_0 se propagan en una geometría de placa delgada, la determinación precisa de la velocidad de fase $c_p(\omega)$ permite inferir parámetros como el módulo de corte G o el módulo de Young E , mediante modelos matemáticos de dispersión [13].

2.4.1. Tiempo de vuelo

El método de tiempo de vuelo (ToF, *Time of Flight*) consiste en medir el retardo temporal Δt que experimenta el frente de onda al desplazarse entre dos posiciones espaciales x_1 y x_2 [20, 21, 28, 34]. La velocidad se calcula como se indica en la ecuación 2.23:

$$v = \frac{\Delta x}{\Delta t} \quad (2.23)$$

Donde $\Delta x = x_2 - x_1$ representa la distancia entre puntos. En OCE, este procedimiento se implementa rastreando el máximo del desplazamiento axial o del gradiente temporal de $u(x, t)$ [31]. Es un método directo e intuitivo, apropiado para medios con baja dispersión y comportamiento lineal entre fase y tiempo.

2.4.2. Análisis de Fourier

El método espectral de Fourier analiza la propagación en el dominio de la frecuencia y número de onda (ω, k), aplicando la transformada bidimensional del mapa espacio-tiempo $u(x, t)$, como se muestra en la ecuación 2.24 [13, 28]:

$$U(k, \omega) = \iint u(x, t) e^{-i(kx - \omega t)} dx dt \quad (2.24)$$

En el espectro resultante de la transformada de Fourier 2D, la energía de las ondas Lamb se concentra sobre una curva que cumple la relación de dispersión 2.25:

$$\omega = k c_p(\omega) \quad (2.25)$$

La pendiente de la curva $\omega(k)$ define la velocidad de fase $c_p(\omega)$. Este método espectral permite distinguir modos de propagación (A_0 , S_0) y ajustar los datos experimentales a modelos teóricos de dispersión [23].

2.4.3. Derivada de fase

El método de la *derivada de fase* aprovecha la información de fase del campo complejo reconstruido por OCE. Si se asume una onda plana como la descrita en 2.26 [17, 18]:

$$u(x, \omega) = A(\omega) e^{i[k(\omega)x + \phi_0]} \quad (2.26)$$

Entonces la velocidad de fase se calcula mediante la ecuación 2.27:

$$c_p(\omega) = \frac{\omega}{\partial\phi(x, \omega)/\partial x} \quad (2.27)$$

Donde $\phi(x, \omega)$ es la fase espacial obtenida del campo complejo. En tejidos con geometría de placa delgada, como la córnea, la derivada de fase ofrece una estimación de alta precisión de la dispersión de la velocidad de onda [29, 33].

2.5. Protocolos de adquisición y sincronización

2.5.1. Modo M

El modo M (*motion mode*) constituye la forma más simple y directa de adquisición en un sistema OCE. Este tipo de adquisición se basa en fijar un único punto espacial de la córnea y medir la **evolución temporal de la señal de interferencia del sistema OCT** sensible a fase bajo la excitación mecánica producida por el ACUS. Este modo es útil para validar la sensibilidad a desplazamientos submicrométricos y para analizar, en una posición, cómo se comporta la córnea en condiciones controladas [17, 21].

En este esquema, el haz OCT se fija sobre la córnea (típicamente en el vértice del ápex corneal), mientras el ACUS emite pulsos repetitivos. La señal detectada corresponde a la interferencia temporal $I(t)$, cuya fase $\phi(t)$ se relaciona directamente con el desplazamiento axial [17, 18] según 2.28:

$$u(t) = \frac{\lambda_0}{4\pi n} \Delta\phi(t) \quad (2.28)$$

Donde λ_0 es la longitud de onda central del láser OCT y n el índice de refracción de la córnea. Esta relación permite convertir variaciones de fase en desplazamientos con resolución submicrométrica [23].

El modo M, figura 2.17, permite evaluar: (i) la sensibilidad mínima detectable del sistema; (ii) la reproducibilidad de la excitación acústica (promediando múltiples pulsos y evaluando la consistencia de la respuesta); y (iii) la dinámica viscoelástica local, a partir de la atenuación temporal y de la fase relativa entre excitación y respuesta.

Se ha mostrado que, en córneas humanas *ex vivo* sometidas a CXL, el modo M permite detectar incrementos significativos en la amplitud de la respuesta elástica local, lo que respalda su uso como herramienta rápida de evaluación preclínica [20-22, 24].

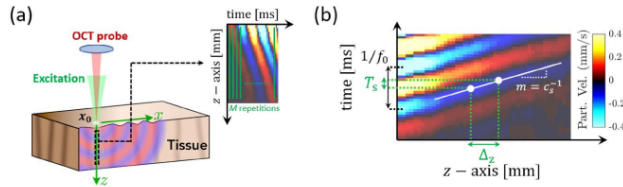


FIGURA 2.17 Protocolo de adquisición en modo M. (a) Esquema del sistema que adquiere M repeticiones de A-lines en una posición lateral fija x_0 a lo largo del tiempo. (b) Propagación espacio-tiempo de la onda en el punto espacial; la pendiente m de la gráfica lineal representa el inverso de la velocidad de la onda propagada [13].

2.5.2. Modo M-B

El modo M-B extiende el modo M adquiriendo información temporal en diferentes posiciones espaciales a lo largo de una misma dirección lateral (escaneo lateral). En este modo, el haz OCT se desplaza secuencialmente por distintos puntos de la córnea o del tejido, mientras el ACUS genera pulsos de excitación central repetitivos y sincronizados con las adquisiciones del OCT. En cada posición lateral se registra un historial temporal $u(x, t)$; el conjunto de adquisiciones forma un mapa espacio-tiempo de propagación de ondas [23, 35, 36]. La información adquirida puede expresarse como en 2.29:

$$u(x, t) = \frac{\lambda_0}{4\pi n} \Delta\phi(x, t) \quad (2.29)$$

Donde $\Delta\phi(x, t)$ es la diferencia de fase medida en la posición lateral x a lo largo del tiempo. Este mapa permite visualizar directamente la propagación de ondas Lamb o de corte a través de la córnea [28, 30, 33].

Una ventaja de este modo es la posibilidad de construir espectros $\omega(k)$ mediante transformadas de Fourier 2D, para ajustar la dispersión a diferentes modos de propagación (p.ej., modelo NITI) y estimar G [13, 26, 32].

2.5.3. Modo B-M

El modo B-M combina la información estructural de un barrido B-scan con la sensibilidad temporal del modo M. Primero se adquiere una imagen estructural de la córnea en corte transversal (B-scan), lo que permite identificar con precisión la región de interés; luego, en puntos del B-scan (a lo largo del escaneo lateral), se registra una serie temporal de fase como en el modo M [17, 18, 23].

A diferencia del modo M-B, en el que el barrido lateral se utiliza para reconstruir un mapa espacio-tiempo de propagación, en el modo B-M la prioridad es correlacionar la información estructural con la biomecánica local. Este protocolo permite: (i) localizar regiones específicas a partir del B-scan; (ii) adquirir desplazamientos de fase locales mediante series temporales en esos puntos; y (iii) correlacionar los cambios temporales de respuesta con las características estructurales [38].

Este enfoque se considera más intuitivo para la práctica clínica, pues los médicos y personal técnico están acostumbrados a interpretar imágenes estructurales y correlacionarlas con cambios de propiedades biomecánicas [2, 34, 35, 40].

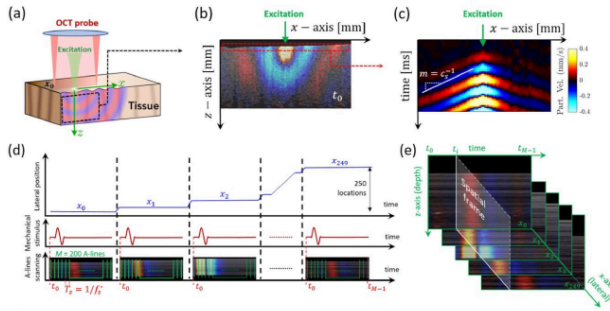


FIGURA 2.18 Protocolo de adquisición en modo M-B. (a) Adquisición OCE a lo largo del plano xz . (b) Fotograma del movimiento señalando t_0 en rojo. (c) Análisis espacio-tiempo de la propagación de la onda en t_0 . (d) Diagrama temporal del protocolo M-B. (e) Distribución de las adquisiciones en una matriz 3D espacio-temporal [13].

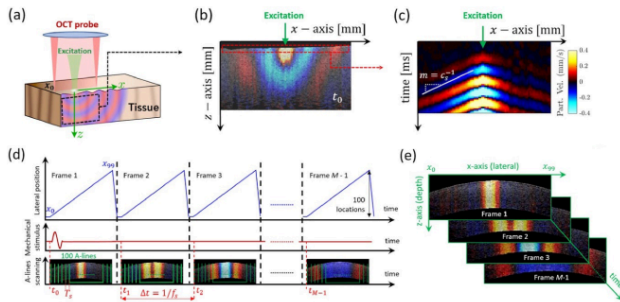


FIGURA 2.19 Protocolo de adquisición en modo B-M. (a) Adquisición en el plano xz . (b) Fotograma del movimiento en el instante t_0 . (c) Análisis espacio-tiempo de la propagación. (d) Diagrama temporal del protocolo B-M con diferentes posiciones laterales y M repeticiones. (e) Conjunto de *frames* de movimiento en el plano xz distribuidos a lo largo del tiempo en una matriz 3D [13].

2.6. Cross-Linking (CXL)

En la actualidad existen diferentes tratamientos corneales como los anillos intraestromales, el *cross-linking* (CXL) y el trasplante de córnea, figura 2.20. El CXL es el único tratamiento estándar con evidencia consistente para frenar la progresión degenerativa del queratocono y otras ectasias corneales [5, 6].

Su principio se basa en inducir enlaces covalentes adicionales entre las fibras de colágeno y proteoglucanos del estroma mediante fotosensibilización con riboflavina y radiación UV-A (365–370 nm). Este proceso incrementa la rigidez corneal y estabiliza su geometría, reduciendo la deformación progresiva del queratocono. El objetivo clínico es detener la progresión preservando transparencia y curvatura corneal. En la figura

Current Keratoconus treatments:



FIGURA 2.20 Tratamientos actuales del queratocono: comparación entre anillos intracorneales (modifican la óptica sin alterar la biomecánica de base), CXL (único tratamiento con evidencia consistente de detener la progresión en la mayoría de pacientes) y trasplante corneal (reservado para estadios avanzados).

2.20 se observa la impregnación con riboflavina y la irradiación UV-A: el baño amarillo-verdoso corresponde a la fluorescencia del fotosensibilizador, indicador de una difusión adecuada sobre el área corneal antes de la fotoactivación [4, 5, 9].

2.6.1. Principio de funcionamiento del CXL

El CXL clásico utiliza riboflavina al 0.1% como fotosensibilizador y radiación UV-A entre 365–370 nm. La fotoexcitación genera estados que transfieren energía o electrones, dando lugar a reacciones tipo radicalarias y mediadas por oxígeno, que producen enlaces covalentes entre moléculas del estroma [5, 6, 9, 10].

El objetivo es aumentar la rigidez del tejido [5, 9]. La dosis de energía (fluencia) se expresa como 2.30:

$$\Phi = E t \text{ [J/cm}^2\text{]} \quad (2.30)$$

Donde E es la irradiancia (mW/cm^2) y t el tiempo de exposición (s). En el protocolo estándar de Dresden, $E = 3 \text{ mW/cm}^2$ y $t = 30 \text{ min}$ (1800 s), resultando en una fluencia total aproximada de

$$\Phi \approx 5,4 \text{ J/cm}^2$$

A nivel microestructural, la *zona de demarcación* observada por microscopía u OCT se correlaciona con el incremento de rigidez medido por OCE y otras técnicas [11, 20]. En modelos animales y humanos, OCE detecta incrementos locales de velocidad de onda tras CXL, consistentes con el aumento del módulo de rigidez G [20-24].

2.6.2. Soluciones de CXL

Las formulaciones clínicas más empleadas incluyen riboflavina con dextrano o HPMC (hidroxipropilmetilcelulosa), en soluciones isotónicas o hipoosmolares para controlar hidratación y penetración en el estroma [5]. La formulación transepitelial (sin epitelioectomía) incorpora potenciadores de permeación para atravesar el epitelio; su eficacia biomecánica es menor que el protocolo *epitelio-off* estándar, aunque mejora el perfil de seguridad en córneas delgadas cercanas a límites de espesor [6, 9, 10]. Otros

fotosensibilizadores (verde de indocianina, rosa de Bengala) se han estudiado en modelos animales; aunque muestran refuerzos localizados, su traslación clínica es limitada frente a la riboflavina [21].

La elección de la solución depende del espesor corneal y del perfil de riesgo del paciente, buscando optimizar difusión y oxigenación para maximizar la eficacia del entrecruzamiento [5, 6].

2.6.3. Protocolos de CXL: Dresden y acelerados

El protocolo de Dresden (*epitelio-off*) es la referencia clínica: instilación de riboflavina durante 30 min e irradiación UV-A por 30 min a 3 mW/cm², obteniendo $\Phi = 5,4 \text{ J/cm}^2$ [5, 10].

TABLA 2.1 Comparación de parámetros entre el protocolo estándar de Dresden y protocolos acelerados de CXL.

| Características | Dresden | Acelerado 10 min | Acelerado 3 min |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Irradiancia UV-A | 3 mW/cm ² | 9 mW/cm ² | 30 mW/cm ² |
| Fluencia total de energía | 5,4 J/cm ² | 5.4 J/cm ² | 5.4 J/cm ² |
| Tiempo de instilación | 30 min | 30 min | 30 min |
| Instilación + Irradiación UV | 30 min | 10 min | 3 min |
| Tiempo total | 60 min | 40 min | 33 min |

Los protocolos acelerados elevan la irradiancia UV-A y reducen el tiempo manteniendo la misma fluencia total (5,4 J/cm²), de acuerdo con el principio de reciprocidad de Bunsen–Roscoe (tabla 2.1). Sin embargo, la disponibilidad de oxígeno puede limitar la equivalencia biomecánica, motivo por el cual se han propuesto protocolos pulsados para favorecer la reoxigenación [6, 9, 12].

En clínica, se ha documentado estabilidad o mejora de parámetros biomecánicos y un aumento de rigidez sostenido al menos dos años tras protocolos acelerados, aunque la magnitud del cambio depende del espesor corneal, de la fluencia efectiva y de la disponibilidad de oxígeno [9, 25].

Capítulo 3

Traslación clínica del sistema de OCE

Este capítulo se centra en la traslación de un sistema de OCT de laboratorio hacia un formato clínico, con capacidad para generar excitaciones mecánicas controladas, desarrollar un protocolo de adquisición para medir la propagación de ondas en el tejido, estimar sus velocidades y calcular el módulo de corte (G) tanto en maniqués elásticos que simulen la córnea como en modelos animales *ex vivo*, comparando el impacto biomecánico de diferentes protocolos de *crosslinking* corneal (CXL).

En primer lugar, se llevó a cabo la adaptación de un sistema OCT existente, originalmente diseñado para uso experimental, hacia un formato apropiado para aplicaciones clínicas. Para ello, se integrará una fuente de excitación ultrasónica acoplada al aire, capaz de generar ondas mecánicas en tejidos blandos sin contacto físico directo. El transductor, con una frecuencia de resonancia de 0.5 MHz, se alineará confocalmente con el eje óptico del sistema OCT, lo que permitirá una transferencia de energía más eficiente y una mayor sensibilidad a los desplazamientos inducidos en el tejido.

Esta etapa no solo se enfocó en el ensamblaje físico del sistema, sino también en la caracterización de la excitación acústica mediante pruebas preliminares en medios homogéneos (maniqués de referencia). Estas pruebas permitieron evaluar los desplazamientos generados y verificar la compatibilidad temporal entre el pulso ultrasónico y la velocidad de adquisición del sistema OCT.

Cabe resaltar que este tipo de excitación no genera desplazamientos estructurales visibles, sino que induce pequeñas variaciones de fase en la señal interferométrica, las cuales pueden ser detectadas gracias a la sensibilidad de fase del OCT. Además, se integro un sistema de fijación visual tipo Badal, que permite al paciente mantener la mirada en un estímulo visual durante la medición. El sistema completo se montó sobre una plataforma con movimiento tridimensional para un posicionamiento preciso del ojo y una mentonera para estabilizar la cabeza y minimizar movimientos involuntarios.

Posteriormente, se desarrolló un protocolo de adquisición y análisis de datos que permita capturar y procesar la propagación de las ondas mecánicas generadas en el tejido. Para ello, se empleó un sistema de OCT sensible a la fase, que permite detectar desplazamientos tisulares del orden de nanómetros. El protocolo incluye la adquisición de las señales interferométricas y la aplicación de algoritmos de procesamiento, como la transformada de Fourier y el análisis de diferencia de fase, para determinar la velocidad de propagación de las ondas inducidas.

3.1. Introducción y motivación

La traslación clínica de del sistema OCE es el nexo entre el formato de laboratorio que sirve para investigación, y el formato clínico que es para estudios directos en pacientes. Los primeros sistemas de OCT realizados en diferentes laboratorios se enfocaron en demostrar la sensibilidad nanométrica sensible a fase y en validar la detección de ondas mecánicas en condiciones controladas, la práctica clínica exige diseños más compactos, reproducibles y seguros [13, 16-18, 31, 35].

El interés en trasladar esta tecnología a la clínica se justifica por las limitaciones de las herramientas actualmente disponibles para evaluar la biomecánica corneal. Métodos como el Corvis ST o el Ocular Response Analyzer proporcionan parámetros globales de deformación, pero carecen de resolución espacial y no permiten mapear la distribución regional de rigidez [4, 7, 8, 35]. La OCE, en contraste, combina sensibilidad axial del orden de micrómetros con alta resolución espacial, lo que en consecuencia nos da la facilidad de detectar en etapas tempranas patologías como el queratocono.

Además, la OCE ha demostrado ser una técnica versátil para evaluar la eficacia de tratamientos terapéuticos como el *crosslinking* corneal. Estudios *ex vivo* en córneas humanas y en córneas porcinas han reportado incrementos significativos en la rigidez tras protocolos de Dresden y acelerados de *crosslinking*, detectados mediante incrementos en la velocidad de propagación de ondas Lamb [20-24, 27]. Esto refuerza que es sumamente necesario poder realizar la traslación clínica del sistema de laboratorio, porque permitirá estudiar y evaluar las respuestas biomecánicas de las córneas *in vivo* de los pacientes.

La motivación adicional proviene de la seguridad y la practicidad. Para la clínica, los sistemas deben minimizar el tiempo de adquisición, garantizar alineación precisa y cumplir estrictamente con normativas de seguridad sobre potencia óptica y acústica [39]. De esta forma, el uso de transductores ultrasónicos acoplados al aire (ACUS) y su integración coaxial con el sistema de OCT ha mostrado ser una solución segura [23, 36].

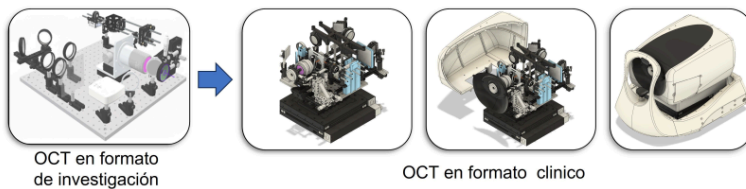


FIGURA 3.1 Esquema comparativo entre un sistema OCE experimental de laboratorio que mantiene un alineamiento correcto de la óptica del sistema y obtiene imagen y su versión compacta orientada a clínica que muestra un sistema de fijación de la cabeza del paciente para evitar movimientos, capacidad de desplazamiento con una plataforma para medir ambos ojos, un sistema de fijación de la vista del paciente utilizando un estímulo visual compensado por error refractivo y que pueda realizar las mediciones sin contacto.

La traslación clínica del sistema de OCE, figura 3.1, es la necesidad de complementar el estudio estructural de la córnea con la información biomecánica, y con

aplicaciones directas en diagnóstico temprano de diferentes patologías, como el queratocono, y en el seguimiento de terapias de refuerzo corneal [17, 30, 31].

3.2. Diseño del sistema OCT

El sistema de OCT empleado en este trabajo se basa en la arquitectura de dominio espectral con una fuente de barrido (*Swept Source*), seleccionado este sistema por su alta sensibilidad de detección de fase, su velocidad de adquisición y su facilidad para realizar mediciones en tejidos biológicos [16-18, 31, 41].

A diferencia de los sistemas de dominio temporal o de dominio espectral con rejilla de difracción descritos en la Sección de fundamentos de OCE del capítulo 2, el *Swept Source OCT* utiliza una fuente láser de longitud de onda variable, SL132120, para este diseño centrada en $\lambda = 1300$ nm, que barre el espectro en el tiempo a 200 kHz, permitiendo obtener interferogramas en función de la frecuencia óptica y posteriormente transformarlos al dominio espacial mediante la transformada de Fourier [17]. Este principio garantiza una resolución axial de aproximadamente $7.46 \mu\text{m}$ y una profundidad de imagen de 3 mm aproximadamente, adecuada para la caracterización completa de la córnea.

El sistema, figura 3.2, está compuesto por cuatro partes principales: el interferómetro de fibra óptica, el brazo de referencia, el brazo de muestra, y el sistema de adquisición y control [17].

El interferómetro está conformado por divisores de haz (*beam splitters*, BS1-BS3, TW1300R5A2, con relaciones de 50:50 que distribuyen la potencia óptica entre los brazos de referencia y de muestra. La fuente láser se conecta mediante un aislador óptico, IO-H-1310APC, el cual evita reflexiones no deseadas hacia el láser de la fuente y la protege, ofreciendo entonces una estabilidad del barrido. Un circulador óptico (CIRC1), CIR-1310-50-APC, que dirige la señal hacia la muestra y posteriormente la señal retro dispersada desde la muestra hacia el foto detector balanceado, PDB480C-AC. La configuración al usar un interferómetro de fibra óptica reduce la sensibilidad a vibraciones y permite una alineación estable, condiciones fundamentales que se deben cumplir para el uso del sistema en un ambiente clínico.

El brazo de referencia conecta la fibra a un colimador (Collimator1), F260APC-C, y a un conjunto de elementos ópticos, siendo un lente de compensación de dispersión óptica, LSM05DC, compensa la dispersión del lente objetivo LSM05, un lente de enfoque, AC254-100-C, y un espejo de primera superficie como muestra de referencia, PF10-03-P01, dispuestos de tal manera que igualan la longitud de trayecto de camino óptico con el brazo de muestra. El espejo es móvil y actúa como una superficie de referencia que refleja el haz en el mismo camino óptico, y su posición define la profundidad de enfoque en la reconstrucción estructural del perfil del tejido de muestra. Este diseño permite controlar con precisión el retardo de fase Δz .

El brazo de muestra conecta en un inicio la fibra con un colimador (Collimator 2), F260APC-C, y dirige el haz hacia la muestra a través de un lente objetivo, LSM05, que enfoca el punto de escaneo sobre la superficie corneal. El sistema incluye un par de espejos que se mueven de forma que permiten poder escanear una superficie del tejido de muestra, es un sistema de galvanómetros (*Galvos*), Saturn 1 System - 3mm, entonces este sistema de Galvos nos permite realizar el escaneo espacial, generando reconstrucciones bidimensionales (*B-scans*).

El haz pasa por un espejo dicroico, DML950P, que permite la integración coaxial del módulo de excitación visual (Badal), entonces el brazo de muestra incorpora un sistema de Badal, el cual corrige el error refractivo del paciente durante las mediciones *in vivo* y facilita la alineación ocular del sistema OCT con el paciente.

Este sistema permite integrar de forma coaxial el módulo de excitación mecánica ACUS y la detección óptica asegurando que ambos coincidan espacialmente, garantizando una medición precisa de los desplazamientos generados por las ondas mecánicas [23, 36].

El control general del sistema se realiza mediante una tarjeta de adquisición NI-DAQ sincronizada con el barrido espectral del láser. Las señales de interferencia son detectadas por un fotodetector balanceado y digitalizadas mediante un módulo A/D de alta velocidad, tal como se muestra en el esquema, el procesamiento en tiempo real de los interferogramas se efectúa en una computadora (DSP) donde se realiza la cuantificación de los datos de las señales obtenidas [17].

El control sincronizado entre la excitación mecánica y la adquisición óptica es fundamental, permitiendo obtener mapas espacio temporales del desplazamiento axial con resolución nanométrica [13, 31, 35].

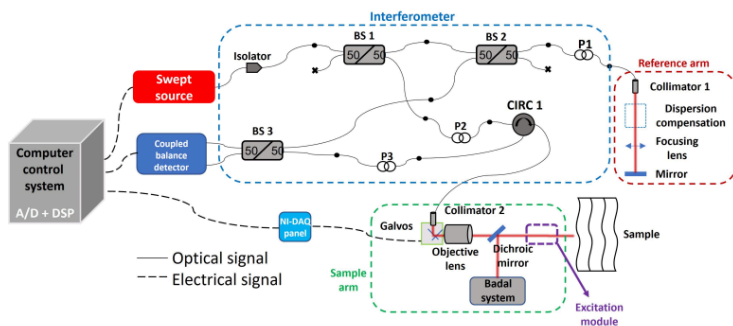


FIGURA 3.2 Esquema general del sistema *Swept Source OCT*, se distinguen los componentes principales: fuente láser de barrido, interferómetro, brazo de referencia, brazo de muestra con sistema de corrección Badal y módulo de excitación, así como el sistema de adquisición y control digital.

3.2.1. Caracterización del sistema

El sistema OCT de fuente de barrido (*Swept Source OCT*) fue caracterizado para determinar sus principales parámetros ópticos, tal como se caracterizó, en conjunto, en el trabajo de tesis de Roger Valencia [45]. Los valores obtenidos se presentan en la tabla 3.1, donde se resumen los resultados de resolución lateral, axial, profundidad máxima, *roll-off* y relación señal-ruido (SNR).

La caracterización del sistema OCT tienen una resolución axial experimental de $7,46 \mu\text{m}$ y una resolución axial experimental de $15,54 \mu\text{m}$, una resolución lateral de $35 \mu\text{m}$ y una profundidad axial efectiva de $7,9 \text{ mm}$. El sistema tiene una atenuación de señal de $-1,672 \text{ dB/mm}$, con una potencia óptica segura de $5,33 \text{ mW}$ sobre la muestra,

cumpliendo las normas de seguridad ocular ANSI Z136.1 para longitudes de onda de 1300 nm.

TABLA 3.1 Caracterización y parámetros ópticos del sistema *Swept Source OCT*.

| Parámetro | Valor |
|---|------------------------------|
| Longitud de onda central (λ_0) | 1300 nm |
| Rango espectral ($\Delta\lambda$) | 100 nm |
| Tasa de barrido | 200 kHz |
| Potencia óptica en muestra | 5.33 mW |
| Resolución lateral | 35 μm |
| Resolución en profundidad | 6.46 $\mu\text{m}/\text{px}$ |
| Resolución axial experimental | 15.54 μm |
| Profundidad axial máxima | 7.9 mm |
| Pérdida de sensibilidad (<i>roll-off</i>) | -1.672 dB/mm |
| Relación señal-ruido (SNR) | 67.51 dB |

En consecuencia, de la ecuación de resolución axial 2.17 si se tiene una fuente de luz de λ_0 centrada en 1300 nm con un $\Delta\lambda = 100$ nm con el criterio de FWHM obtenemos una resolución de 7.46 μm , en la figura 3.3(a) se muestra el espectro de la fuente láser de barrido con estas características, al pasar de λ a k , figura 3.3(b), el espectro $S_L(k)$ de la fuente de barrido queda con una forma gaussiana en k .

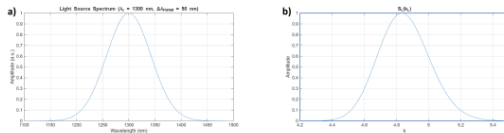


FIGURA 3.3 Imágenes de: (a) Espectro de la fuente de luz centrado en $\lambda_0 = 1300$ nm con ancho $\Delta\lambda = 100$ nm, (b) Espectro $S_L(k)$.

De este modo, se tiene como ejemplo la córnea de la figura 2.8, el sistema OCT adquiere la señal de interferencia $I_D(k)$, la cual es la suma de la componente DC $I_{DC}(k)$, figura 3.4(a), la componente $I_{SI}(k)$, figura 3.4(b), y la componente $I_{AC}(k)$, figura 3.4(c).

Así, la suma de las tres señales de interferencia forma señal $I_D(k)$ que llega al fotodetector del sistema OCT, como se ve en la figura 3.6, esta señal es en función del número de onda k donde la interferencia de las distintas capas del tejido producen reflexiones donde su frecuencia espacial está relacionada con la información en profundidad de las capas del tejido.

Se aplica la FT a la señal de interferencia $I_D(k)$ y se obtiene la señal $I_D(z)$ que muestra las posiciones en profundidad de los cambios del medio n dentro del tejido corneal, esta señal $I_D(z)$ es la suma de las componentes DC $I_{DC}(z)$, figura 3.5(a), la componente SI $I_{SI}(z)$, figura 3.5(b) y de la componente AC $I_{AC}(z)$, figura 3.5(c).

En la figura 3.6 se tiene la FT de la señal de interferencia, $I_D(z)$, donde los picos de amplitud son las diferentes posiciones en la profundidad de las capas del tejido.

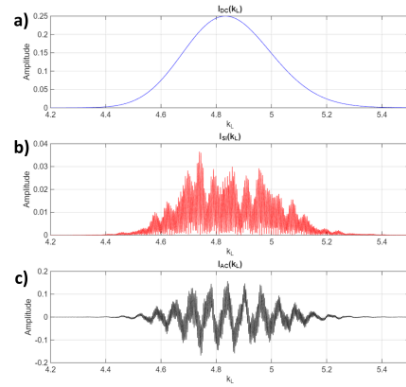


FIGURA 3.4 Señal de interferencia de las componentes de $I_D(k)$, (a) Señal de la componente DC $I_{DC}(k)$, (b) Señal de la componente SI $I_{SI}(k)$, y (c) Señal de la componente AC $I_{AC}(k)$.

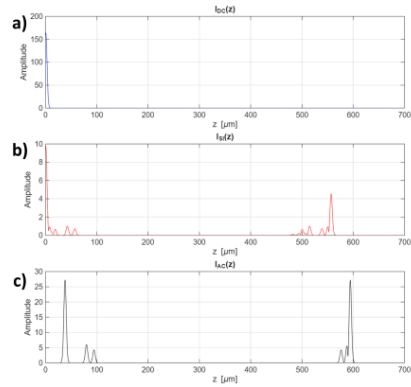


FIGURA 3.5 Señal en el espacio de profundidad de las componentes luego de aplicar la FT donde (a) Componente DC $I_{DC}(z)$, (b) Componente SI $I_{SI}(z)$, y (c) Componente AC $I_{AC}(z)$.

Por lo tanto, a partir de la señal de interferencia adquirida, se puede reconstruir el perfil de la profundidad de la estructura de la córnea y obtener información del tejido.

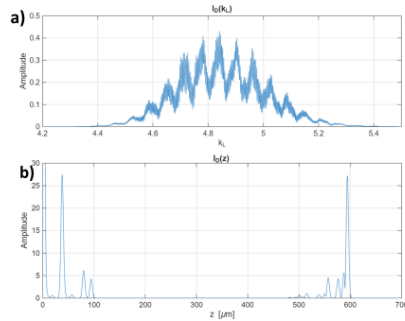


FIGURA 3.6 Señal de interferencia, (a) $I_D(k)$ formada por la suma de las componentes $I_{DC}(k)$, $I_{SI}(k)$ y $I_{AC}(k)$, y (b) Señal $I_D(z)$ que muestra la amplitud de los diferentes picos ubicados en las posiciones espaciales de las capas del tejido formada por la suma de las componentes $I_{DC}(z)$, $I_{SI}(z)$ y $I_{AC}(z)$

3.3. Integración del transductor ultrasónico acoplado al aire

3.3.1. Diseño y principio de funcionamiento del módulo ultrasónico acoplado al aire (ACUS)

El *Air-Coupled Ultrasound System* (ACUS) constituye el módulo encargado de generar la excitación de las ondas mecánicas en la córnea dentro del sistema OCE, figura 3.7. Su diseño se basa en un transductor piezoeléctrico de alta frecuencia de resonancia, $0,5\text{MHz}$, capaz de emitir pulsos acústicos a través del aire que inducen deformaciones controladas en la superficie del tejido sin contacto físico directo [21]. Esto es fundamental para la seguridad clínica del paciente y la repetibilidad de las mediciones, al eliminar posibles artefactos debidos al contacto mecánico [23, 31, 36].

El principio de funcionamiento del ACUS se basa en la transmisión de energía acústica a través del aire hacia la superficie corneal enfocada en un punto espacial. Cuando un pulso acústico incide sobre la córnea, se genera una presión que es transitoria que produce desplazamientos del orden de nanómetros en el estroma. Estas perturbaciones se propagan como ondas guiadas en el tejido, principalmente del tipo Lamb A_0 y ondas de corte superficiales, las cuales son detectadas por el sistema OCE [13, 23, 30].

La frecuencia de operación típica del ACUS empleado en el sistema OCE corneal se encuentra en torno a $0,5\text{MHz}$, rango que nos genera que la excitación a través del aire no se atenúe y se pierda, y también nos garantiza poder generar la excitación a una distancia prudente, lo cual clínicamente es necesario para evitar generar fastidio y molestia en los pacientes, figura 3.8 [31, 36, 42].

El diseño geométrico y la integración coaxial del ACUS pueden observarse en la figura 3.9, donde se muestra la disposición confocal entre el transductor y el haz óptico del sistema OCT. Esta configuración garantiza que la excitación acústica y la detección óptica se realicen sobre el mismo eje [23, 36].

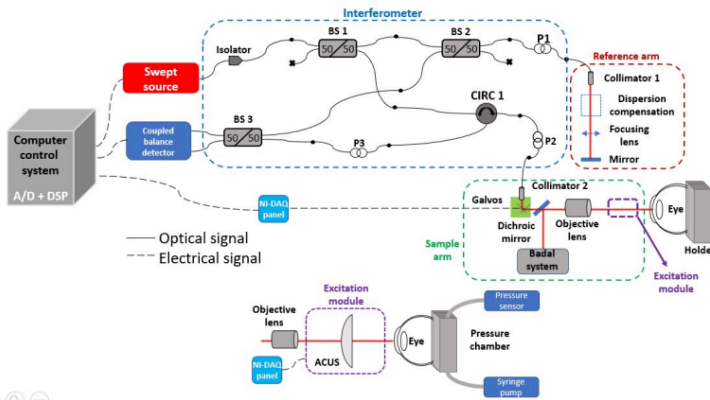


FIGURA 3.7 Esquema general del sistema OCE, se distinguen los componentes principales: fuente láser de barrido, interferómetro, brazo de referencia, brazo de muestra con sistema de corrección Badal, módulo de excitación con ACUS, y un sistema de control de presión a la cual se pone la muestra, así como el sistema de adquisición y control digital.

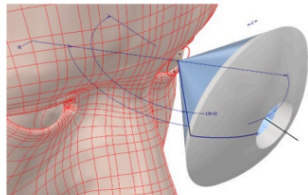


FIGURA 3.8 Esquema tridimensional del alineamiento coaxial entre el transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS) y la superficie corneal, la frecuencia de operación de 0,5 MHz permite una excitación efectiva a través del aire sin atenuación significativa, manteniendo una distancia segura de aproximadamente 25 mm respecto al ojo, esta configuración asegura comodidad clínica para el paciente.

Del mismo modo, el sistema emplea pulsos de corta duración, lo que asegura que la energía acústica transferida permanezca muy por debajo de los límites de exposición ocular seguros establecidos por la norma ANSI Z136.1 y las directrices internacionales de bioseguridad en ultrasonido [24, 39].

3.3.2. Modelado acústico del transductor ACUS

Desde el punto de vista geométrico, el transductor tiene una apertura D , un hueco central H_D que permite que el haz óptico pase sin obstáculos y una distancia focal F , como se observa en la figura 3.9. Dicho diseño produce un foco acústico elipsoidal, caracterizado por una longitud L_f y un diámetro D_f , que definen el volumen efectivo de excitación [36, 42].

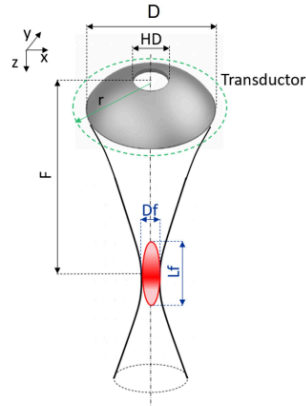


FIGURA 3.9 Esquema de la geometría del transductor ACUS mostrando la apertura D , el hueco central H_D , la distancia focal F y la región focal con dimensiones L_f y D_f .

El comportamiento acústico puede modelarse mediante funciones analíticas derivadas de la teoría de difracción de apertura circular. La intensidad axial normalizada $I(z)$, evaluada sobre el eje z , figura (a) 3.10, se describe como [42]:

$$I(z) = \left[\text{sinc} \left(\frac{1}{2} S \left(\frac{z}{F} - 1 \right) \right) \right]^2, \quad S = \frac{z\lambda}{a^2} \quad (3.1)$$

Donde S es el número de Fresnel acústico, $a = D/2$ el radio del transductor y $\lambda = c_a/f$ la longitud de onda acústica en aire ($c_a = 340$ m/s). Esta función tipo *sinc* describe la variación de intensidad en torno al foco, con un máximo en $z \approx F$ y lóbulos laterales cuya separación axial obedece a [42]:

$$\Delta z \sim \frac{\lambda F}{a} \quad (3.2)$$

En el plano focal ($z = F$), el perfil de la intensidad radial $|\Phi(r, \omega)|$ se modela mediante una función de tipo Bessel de primer orden [42]:

$$|\Phi(r, \omega)| = \left(\frac{ka^2}{F} \right) \left[\text{jinc} \left(\frac{ra}{\lambda F} \right) \right]^2, \quad \text{jinc}(x) = \frac{J_1(2\pi x)}{\pi x}, \quad k = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (3.3)$$

El patrón resultante presenta un lóbulo central y anillos decrecientes, que definen el volumen de excitación efectiva sobre la superficie corneal, figura (b) 3.10.

La presión acústica efectiva aplicada sobre la superficie corneal se considera proporcional a la magnitud del campo acústico [36]:

$$p(t) \propto |\Phi(r, \omega)| \quad (3.4)$$

Esta presión actúa como una carga normal en el tejido corneal que excita modos guiados, principalmente Lamb A_0 en la córnea, considerada como una placa delgada.

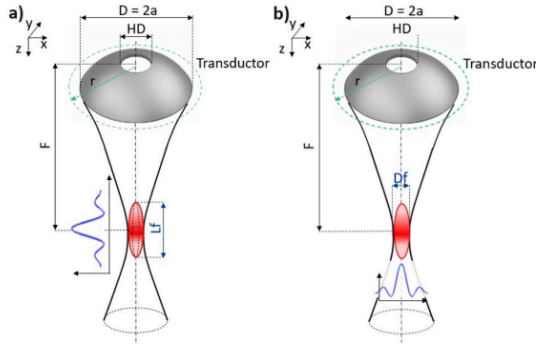


FIGURA 3.10 Esquema de los perfiles de intensidad del ACUS, (a) Distribución axial de intensidad $I(z)$ mostrando el máximo en el foco $z = F$ y los lóbulos laterales, (b) Distribución radial de intensidad $|\Phi(r, \omega)|$ en el plano focal; el lóbulo central representa la zona de máxima excitación acústica.

Estas ondas superficiales pueden propagarse lateralmente y su velocidad está directamente relacionada con el módulo de corte efectivo del tejido [13, 29, 30].

Las expresiones $I(z)$ y $|\Phi(r, \omega)|$ permiten dimensionar el foco acústico, determinar su tamaño, la profundidad de campo acústico y la energía incidente segura sobre la córnea [36, 39].

Esto asegura una excitación localizada y estable, sin comprometer la integridad del tejido, y facilita la relación entre el diseño del transductor, la distribución espacial de presión y la respuesta de la excitación mecánica medida por OCE [23].

Para caracterizar cuantitativamente el campo acústico y su interacción dinámica con el tejido corneal, se modeló el transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS) considerando una apertura circular con enfoque esférico de radio $a = D/2$, un hueco central de radio $r_0 = HD/2$ y un foco geométrico a una distancia F . En aire, la longitud de onda se define como $\lambda = c_{\text{air}}/f$ y el número de onda como $k = 2\pi/\lambda$. En el diseño considerado, los parámetros son: $f = 500$ kHz, $HD = 15$ mm, $D = 50$ mm ($a = 25$ mm) y $F = 35$ mm, tal como se muestra en la Figura 3.9 presentada en la Sección 2.3.1.1.

La intensidad normalizada en el plano axial z , correspondiente al perfil axial ($r = 0$) alrededor del foco, se expresa como $I(z)$.

Por otro lado, la envolvente compleja del campo acústico correspondiente al perfil radial en el plano focal ($z = F$) se aproxima por $|\Phi(r, \omega)|$.

Las expresiones $I(z)$ y $|\Phi(r, \omega)|$ permiten dimensionar el foco acústico, tamaño, lóbulos, profundidad de foco, este análisis nos da una mejor idea entre el diseño del ACUS y la interpretación cuantitativa de las mediciones OCE en córnea.

Teniendo en cuenta el criterio de ancho completo a mitad de máxima intensidad, *Full Width at Half Maximum* (FWHM), el parámetro FWHM se emplea para cuantificar el tamaño de la extensión espacial efectiva del foco acústico, tanto en dirección axial como lateral. Como se muestra en la Figura 3.11 [42], se define como el intervalo comprendido entre los puntos x_a y x_b donde la función alcanza la mitad de su valor máximo $f_{\text{MAX}}/2$.

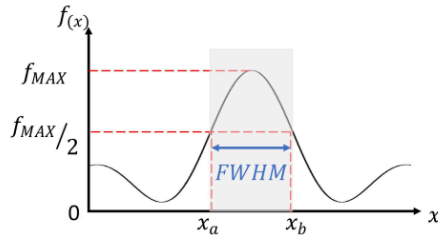


FIGURA 3.11 Esquema del perfil de intensidad del haz acústico, indicando el criterio de *Full Width at Half Maximum* (FWHM), correspondiente al ancho completo a mitad del máximo.

Mediante mediciones experimentales realizadas con un micrófono óptico, se obtuvieron los siguientes valores de FWHM [23, 36]:

- FWHM lateral: 0,37 mm en intensidad y 0,55 mm en presión.
- FWHM axial: 1,6 mm en intensidad y 2,4 mm en presión.

Los valores teóricos correspondientes fueron de 0,685 mm (lateral) y 0,85 mm (axial), respectivamente. Estos resultados, reportados por Alonso Cifuentes en su trabajo tesis “*Development of a Non-Contact, Ultrasound-Based, Compression Optical Coherence Elastography Technique for the Biomechanical Characterization of the Cornea*” (en proceso), nos dan la similitud entre el modelo analítico y las mediciones experimentales.

3.3.3. Alineamiento y calibración

El alineamiento y la calibración del sistema OCE aseguran que el haz óptico y el campo acústico del transductor ACUS coincidan espacial y temporalmente sobre la córnea [17, 31, 36]. Este procedimiento garantiza que la excitación mecánica y el escaneo de la muestra se realicen en la misma región, optimizando la sensibilidad, la resolución y la repetibilidad de las mediciones.

El esquema general del acoplamiento se muestra en la figura 3.12, en figuras anteriores también se ha mostrado el alineamiento como en la figura 3.8, donde el ACUS se encuentra alineado coaxialmente con la lente objetiva del OCT frente a una cámara de control de presión que simula la presión intraocular (PIO) del ojo.

La presión intraocular se controla mediante una bomba que es una jeringa conectada a un sensor de presión, mientras que la sincronización entre excitación acústica y adquisición óptica se realiza a través de la tarjeta de adquisición NI-DAQ [26, 32, 33, 35].

El procedimiento de adquisición inicia con la verificación de colinealidad entre el haz óptico y el eje acústico empleando un maniquí de silicona que simula una muestra de superficie plana. Posteriormente, se ajusta el foco acústico para hacerlo coincidir con el foco óptico, la calibración de presión se realiza con la detección de la fase en la muestra. Este proceso permite mantener la presión incidente dentro de los límites de seguridad establecidos por la norma IEC 60601-2-37 para aplicaciones con el ACUS en un entorno clínico [39, 41].

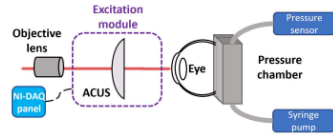


FIGURA 3.12 Esquema de alineamiento y calibración del módulo acústico y óptico del sistema OCE. El transductor ACUS se dispone coaxialmente con la lente del OCT frente a una cámara presurizada que simula el globo ocular. La presión intraocular se regula mediante una bomba de jeringa y se monitorea con un sensor de presión conectado a un sistema de control NI-DAQ.

3.4. Traslación del sistema experimental a un formato clínico

3.4.1. Montaje, alineación y control de adquisición

El montaje clínico del sistema OCE integra el módulo óptico, el transductor ACUS que es el módulo de excitación mecánica sin contacto y el subsistema de control sobre una plataforma estable [13, 16, 31]. La alineación inicial se realiza verificando la coincidencia del eje óptico del haz OCT con el eje acústico del transductor, asegurando una excitación y detección coaxial y confocal sobre el tejido [23, 36].

El control del sistema y la adquisición de datos se realizan mediante una interfaz desarrollada en LabVIEW, figura 3.13. Esta interfaz nos permite configurar los parámetros de escaneo como el área de escaneo, el número de A-lines, adquisiciones temporales, por B-frame, adquisiciones espaciales, el número de B-frames y el modo de adquisición OCE, sincronizando los pulsos del ACUS con la adquisición de datos, figura 3.14 [13, 28, 30, 31].

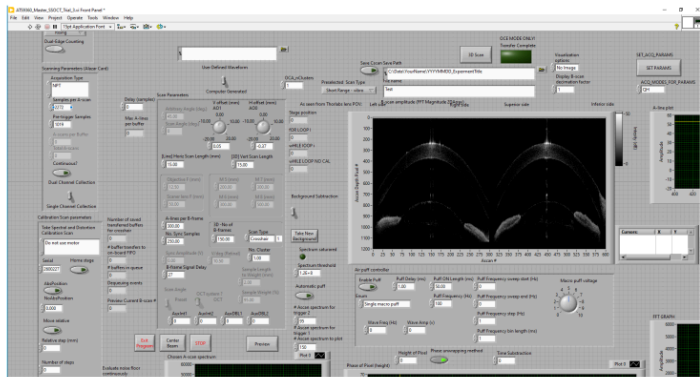


FIGURA 3.13 Interfaz del software de adquisición en LabVIEW para el control del sistema OCE, mostrando la configuración de parámetros, la visualización del B-scan y el monitoreo de la señal interferométrica en tiempo real.

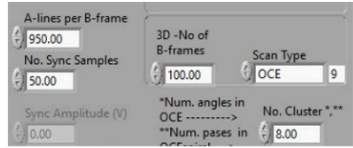


FIGURA 3.14 Detalle de los parámetros de adquisición configurables en LabVIEW: número de A-lines, número de B-frames, tipo de escaneo y sincronización con el módulo de excitación acústica (ACUS).

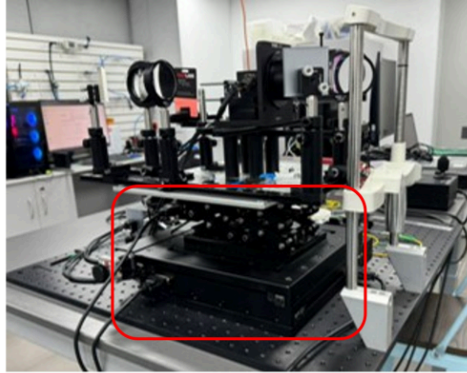
En esta interfaz entonces se tiene que los $A - lines\ per\ B - frame$ son las adquisiciones temporales, los $B - frames$ son la cantidad de posiciones espaciales en las que se tomará adquisición de datos, $N_o\ Sync\ Samples$ son la cantidad de muestras que no se realizará adquisición, este parámetro se indica para realizar el cambio de posición espacial del haz del sistema OCT el cual se realiza con el movimiento de los espejos del sistema de Galvos, el modo de adquisición OCE, $Scan\ Type$, es en el cual elegimos que tipo de escaneo se realizará, y $Cluster$ es la cantidad de meridianos que se realizará, todo esto se realiza sincronizando los pulsos del ACUS con la adquisición de datos, figura 3.14. Así, la fuente del sistema es de 200 kHz - 5 μs , por lo tanto, el tiempo total de la adquisición se calcula como 3.5 [13]:

$$Time_{Tot} = [(A-lines + N_o\ Sync) 5 \mu s] \cdot B-frames \cdot \# \text{ meridianos} \quad (3.5)$$

Durante las mediciones, podemos monitorear en tiempo real la señal interferométrica y las imágenes estructurales, optimizando la alineación del sistema y también nos permite garantizar la estabilidad de fase. Este control en la interfaz nos permite ajustar los parámetros de adquisición y controlar los tiempos que demora cada adquisición de datos, siendo de gran importancia para la traslación clínica y adquisiciones en córneas *in vivo* [17, 18, 35].

3.4.2. Plataforma de posicionamiento del sistema y sujeción del paciente

La plataforma del sistema OCE clínico, figura 3.1, integra los módulos óptico, acústico y de posicionamiento, junto con un soporte ergonómico que asegura precisión y estabilidad durante la medición in vivo, figuras 3.15 y 3.16 [13, 17, 35].



PLATAFORMA MOTORIZADA XYZ

FIGURA 3.15 Plataforma motorizada XYZ para el posicionamiento preciso del sistema OCE durante mediciones in vivo.

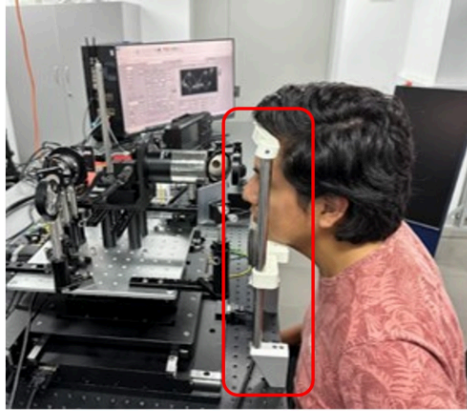
El montaje se basa en una plataforma motorizada XYZ con un recorrido de 100 mm por eje, que permite alinear el haz óptico y el transductor ACUS respecto a la córnea del paciente. Este sistema posibilita el escaneo del ojo derecho e izquierdo del paciente, sin hacer que el paciente se mueva debido a que la plataforma solo se puede mover un rango máximo de 100 mm, manteniendo la alineación coaxial y confocal del ACUS con el sistema óptico [23, 31, 36].

Para reducir movimientos involuntarios lo más posible, el paciente apoya la cabeza sobre una mentonera y soporte frontal ajustables, lo que minimiza errores por desplazamiento fuera del eje óptico, figura 3.16. Además, se emplea un sistema de fijación visual tipo Badal, figura 3.17, que proyecta un estímulo de imagen visual compensando el error refractivo y manteniendo fija la dirección de la mirada, haciendo con la mentonera la sujeción de la cabeza del paciente lo más estable posible.

Todas las mediciones se realizan sin contacto, combinando la excitación del ACUS y la detección óptica sensible a fase del sistema OCT. Este diseño garantiza seguridad ocular porque es sin contacto y compatibilidad con entornos clínicos al controlar también los tiempos de adquisición [34, 36, 39].

3.4.3. Implementación del sistema de Badal

El sistema de Badal se incorporó en el sistema OCE para permitir la fijación visual y la compensación de errores refractivos durante la adquisición a una persona,



MENTONERA Y SOPORTE FRONTAL

FIGURA 3.16 Mentonera y soporte frontal ajustables para asegurar estabilidad del paciente y evitar movimientos involuntarios.

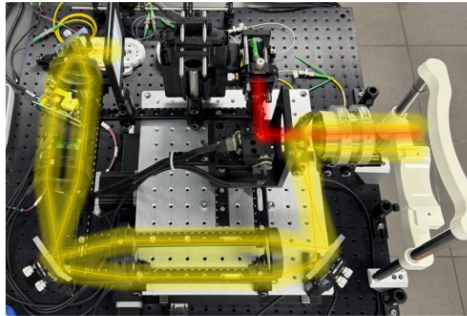


FIGURA 3.17 Sistema de fijación visual tipo Badal para mantener la mirada y compensar errores refractivos durante la medición.

paciente, in vivo, figuras 3.17 3.18 [17, 35, 38]. Su principio se basa en un conjunto de lentes dispuesto de manera que el plano imagen del estímulo permanece fijo, independientemente del desplazamiento axial del elemento móvil el cual en nuestro sistema es el lente L_3 , en el sistema de Badal tenemos un proyector de imagen, MIROIR, seguido de un lente L_1 , AC508-100-A, colocado a una distancia f_1 , seguido a este lente a una distancia $f_1 + f_2$ un lente L_2 , AC508-100-C, el cual a una distancia f_2 forma un segundo plano objeto, y a una distancia f_3 de este plano se posiciona el lente L_3 , AC508-100-C, seguido a este lente a una distancia $f_3 + f_4$ el lente L_4 , AC508-180-AB, el lente objetivo $LSM05$ del sistema OCT se posiciona a una distancia del L_4 de $f_4 + f_{objetivo}$, y a

la distancia focal del lente objetivo se posiciona el ojo del paciente de forma coaxial al sistema OCT [29].

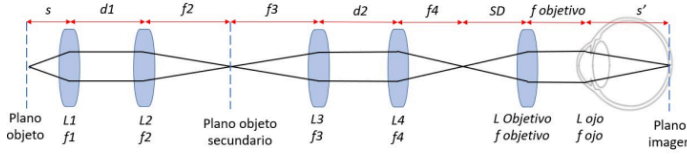


FIGURA 3.18 Modelado de primer orden del sistema de Badal y su integración con el ojo en la configuración afocal.

Donde resolviendo las matrices que caracterizan un sistema óptico, a primer orden obtenemos:

$$\begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & s' \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{\text{objo}} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_{\text{obj}} \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{\text{obj}} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_4 + SD \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{L4} & 1 \end{pmatrix} \\ \times \begin{pmatrix} 1 & d_2 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{L3} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_3 - \Delta x \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{L2} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & d_1 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{L1} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & s \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$$

En el sistema se resuelve las matrices desde el plano objeto secundario hasta el plano imagen que se formaría en la retina del ojo del paciente tal como se muestra en 3.19

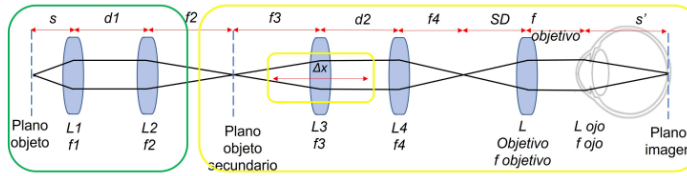


FIGURA 3.19 Esquema óptico del sistema de Badal mostrando el desplazamiento Δx del lente L_3 , el cual ajusta la vergencia sin modificar el plano imagen.

Las matrices que caracterizan al sistema quedan de la siguiente forma:

$$\begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & s' \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{\text{objo}} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_{\text{obj}} \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{\text{obj}} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_4 + SD \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{L4} & 1 \end{pmatrix} \\ \times \begin{pmatrix} 1 & d_2 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\varphi_{L3} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_3 - \Delta x \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$$

El esquema óptico de primer orden, figuras 3.18 3.19, consiste en un sistema afocal compuesto por las lentes L_1-L_4 , seguido de un objetivo y la lente del ojo. El desplazamiento Δx de L_3 modifica la convergencia del haz que ingresa al ojo sin alterar la posición del estímulo.

Los errores refractivos que vamos a considerar corregir son la miopía e hipermetropía, figura 3.20, con lo cual se ve que para una persona con miopía su ojo es de mayor tamaño, y para hipermetropía su ojo es de menor tamaño, por lo que la imagen no enfoca correctamente en la córnea de la persona.

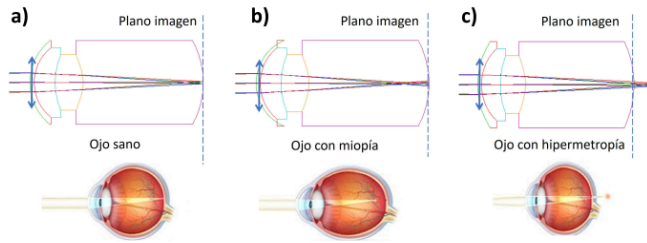


FIGURA 3.20 Comparación esquemática entre ojo normal, miope e hipermetrope, mostrando la posición del plano imagen en cada caso.

Se realizan los cálculos y se obtiene los parámetros que se usan en el sistema de Badal para poder compensar y corregir estos errores refractivos en la córnea, en la figura 3.21(a) se muestra un ojo con miopía donde clínicamente se corrige este error refractivo con un lente divergente como se muestra en la figura 3.21(b) y en la figura 3.21(c) se muestra un ojo con hipermetropía donde clínicamente se corrige este error refractivo con un lente convergente como se muestra en la figura 3.21(d), se tiene en cuenta que en un Ojo sano, sin error refractivo, $\Theta_e = \frac{1}{f_e}$, donde $f_e = s'$, entonces:

$$BFL = \frac{f_e (f_{\text{lente}} - d)}{f_{\text{lente}} + f_e - d}$$

Y donde $BFL = s'$, lo cual reemplazando en la ecuación anterior:

$$s' = \frac{f_e (f_{\text{lente}} - d)}{f_{\text{lente}} + f_e - d}$$

Donde el plano imagen del ojo es f_e , la focal del lente (divergente o convergente) es f_{lente} , y la distancia entre la lente y el ojo es d . Entonces resulta:

$$s' = f_e + x$$

De este modo, se puede modelar los problemas refractivos a primer orden, donde se ajusta el enfoque para sujetos con miopía o hipermetropía, como se puede observar en las figuras 3.22-3.23 [18, 35].

En un ojo miope, la imagen se forma antes de la retina, mientras que en un ojo hipermetrope, detrás de ella, figura 3.20. El sistema de Badal corrige ambos casos mediante el desplazamiento controlado de L_3 : hacia adelante para compensar hipermetropía y hacia atrás para miopía. Esta acción equivale a introducir lentes convergentes o divergentes virtuales, figura 3.21.

El sistema de Badal, entonces como ya se había mencionado, sirve para corregir los errores refractivos del ojo del paciente, tal como se muestra en 3.19 el lente 3 (L_3) se moverá un Δx , este delta lo obtenemos resolviendo la matriz ABCD haciendo el

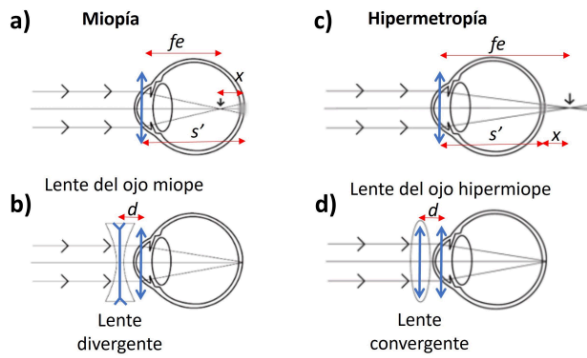


FIGURA 3.21 Ejemplo de corrección refractiva: (a) ojo con miopía, (b) corrección refractiva de miopía con un lente divergente, (c) ojo con hipermetropía y (c) corrección refractiva de hipermetropía con un lente convergente.

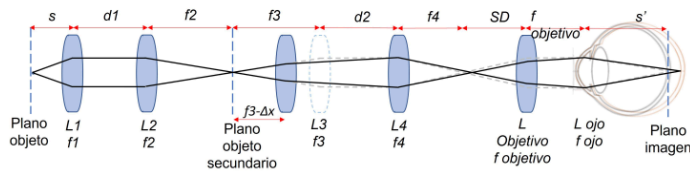


FIGURA 3.22 Corrección para ojo miope: desplazamiento negativo de L_3 que produce divergencia del haz y corrige el enfoque anterior a la retina.

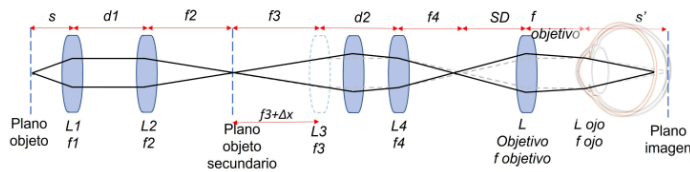


FIGURA 3.23 Corrección para ojo hipermetrópe: desplazamiento positivo de L_3 que produce convergencia del haz y corrige el enfoque posterior a la retina.

parámetro B igual a cero y según la compensación que se tendría por el ojo del paciente y se sabe cuánto se moverá el lente 3

Durante la medición, el estímulo luminoso se proyecta coaxialmente con el haz OCT, permitiendo mantener la fijación ocular estable mientras se preserva la alineación interferométrica. Esta integración mejora la comodidad del paciente, minimiza errores por movimiento y mantiene constante la longitud de referencia óptica.

Entonces, resolviendo la matriz $\begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix}$, se tiene:

$$A = \sigma_1$$

$$B = s' - \sigma_5 - f_{\text{obj}}(\varphi_{\text{ojo}} s' - 1) - (\Delta x - f_3) \sigma_1 - \sigma_3$$

$$C = \sigma_4 - \varphi_{\text{ojo}} - \sigma_2 + \varphi_{\text{obj}}(f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} - 1)$$

$$D = (\Delta x + d_2) \left(\sigma_4 - \varphi_{\text{ojo}} + \varphi_{\text{obj}}(f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} - 1) \right) - f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} \\ + (\Delta x - f_3) \left(\varphi_{\text{ojo}} - \sigma_4 + \sigma_2 - \varphi_{\text{obj}}(f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} - 1) \right) - \sigma_6 + 1.$$

Donde:

$$\sigma_1 = \varphi_3 (\sigma_5 - s' + f_{\text{obj}} (\varphi_{\text{obj}} s' - 1) + \sigma_3) - \varphi_{\text{obj}} s' - \sigma_7 + \varphi_{L4} (\sigma_5 - s' + f_{\text{obj}} (\varphi_{\text{obj}} s' - 1)) + 1$$

$$\sigma_2 = \varphi_3 ((\Delta x + d_2) (\sigma_4 - \varphi_{\text{ojo}} + \varphi_{\text{obj}} (f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} - 1)) - f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} - \sigma_6 + 1)$$

$$\sigma_3 = (\Delta x + d_2) (\sigma_7 + \varphi_{\text{ojo}} s' - \varphi_{L4} (\sigma_5 - s' + f_{\text{obj}} (\varphi_{\text{obj}} s' - 1))) - 1$$

$$\sigma_4 = \varphi_{L4} (f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} + \sigma_6 - 1)$$

$$\sigma_5 = (SD + f_4) (\sigma_7 + \varphi_{\text{ojo}} s' - 1)$$

$$\sigma_6 = (SD + f_4) (\varphi_{\text{ojo}} - \varphi_{\text{obj}} (f_{\text{obj}} \varphi_{\text{ojo}} - 1))$$

$$\sigma_7 = \varphi_{\text{obj}} (s' - f_{\text{obj}} (\varphi_{\text{ojo}} s' - 1))$$

Se resuelve la componente B igualándola a cero, si la persona tiene una corrección refractiva de 2 dioptrías, quiere decir que tiene un ojo hipermetrope, ósea que su plano imagen se encuentra antes que un ojo normal, como se ve en la figura 3.23, deberá moverse 5 mm, y si tiene una corrección de -2 dioptrías deberá moverse como indica la figura 3.22 unos 18 mm.

3.5. Protocolo de adquisición modo M-B

El proceso de adquisición en modo MB-mode multimeridiano constituye la etapa en la cual se escanea y se excita mecánicamente el tejido sin contacto en el sistema OCE, esta etapa entonces es en la cual se combina la excitación acústica del ACUS y la detección óptica sensible a fase para registrar la propagación de ondas mecánicas a lo largo del tejido de la córnea [13, 17, 23]. Este procedimiento sigue directamente

el esquema descrito en la sección 2.5.2, en la cual se describe el protocolo de adquisición del Modo M-B, adaptado entonces para su aplicación *in vivo* y *ex vivo* de tejidos utilizando el sistema de OCE [23, 30, 33].

El protocolo consiste en realizar adquisiciones en secuencias tal como se describe en la figura 3.24, estas adquisiciones se realizan por cada posición espacial, como se ve en la figura posición 1 en el tipo M-mode, se realiza el escaneo espacial del meridiano en diferentes posiciones, N posiciones espaciales por meridiano, desplazando posteriormente el haz óptico en incrementos angulares controlados, por ejemplo cada $22,5^\circ$, hasta cubrir los ocho meridianos principales ($0^\circ, 22,5^\circ, 45^\circ, 67,5^\circ, 90^\circ, 112,5^\circ, 135^\circ$ y $157,5^\circ$), cada desplazamiento espacial del haz óptico se realiza considerando un tiempo N_0 para que los movimientos de los espejos del sistema de Galvos se realice suave sin vibraciones [38].

El esquema general del método se ilustra en la figura 3.24, donde se observa la secuencia de exploración alrededor del punto del ápex corneal, figura 3.24(a) y la sincronización con la excitación mecánica generada por el transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS), figura 3.24(b).

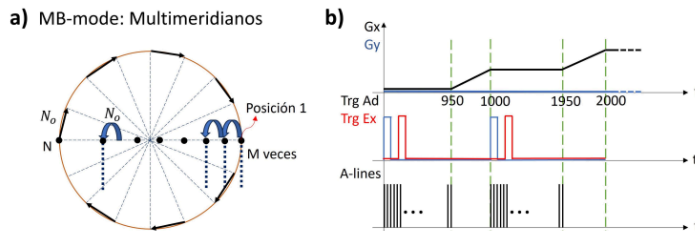


FIGURA 3.24 Esquema del protocolo MB-mode multimeridiano utilizado para mapear la propagación de ondas mecánicas generadas en el vértice del maniquí corneal: (a) Esquema del protocolo multimeridiano y (b) Esquema del movimiento de los espejos el sistema de galvos donde se mueven según los clock del trigger de adquisición para que se encuentre en sincronía la adquisición de datos con la excitación acústica.

En cada meridiano, el sistema OCT registra una secuencia temporal de adquisiciones de interferencia sensibles a fase. Los desplazamientos axiales $u(x, t)$ se obtienen a partir de la diferencia de fase $\Delta\phi(x, t)$ entre líneas A-lines consecutivas, según:

$$u(x, t) = \frac{\lambda_0}{4\pi n} \Delta\phi(x, t) \quad (3.6)$$

Donde de 3.6, λ_0 es la longitud de onda central del sistema OCT y n el índice de refracción del medio del tejido. Esta relación permite convertir variaciones de fase en desplazamientos submicrométricos, con resolución nanométrica, lo que posibilita observar la dinámica de las ondas Lamb A_0 en tiempo real [13, 17, 19].

El procedimiento de adquisición se resume en la figura 3.25, donde se muestra la sincronización entre la excitación mecánica del ACUS, la adquisición óptica y la secuencia de escaneo angular [22, 24, 29]. Cada pulso acústico del ACUS se sincroniza con el inicio de la adquisición de la señal mediante la tarjeta NI-DAQ, garantizando

coherencia temporal entre excitación y detección, lo que permite como se muestra obtener imágenes estructurales 3.25(a) y al mismo tiempo se puede obtener mapas de la propagación de ondas 3.25(b).

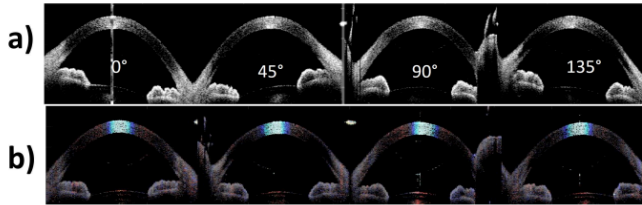


FIGURA 3.25 Diagrama de adquisición multimeridiana mostrando la secuencia de excitación acústica (Trg Ex) y sincronización de escaneo (Trg Ad) utilizada para la reconstrucción de mapas espacio-temporales.

Durante la adquisición, se emplea una corrección de fase dependiente del tejido, figura 3.26, esta estimación de fase permite cuantificar desplazamientos, aunque las variaciones topográficas del tejido de muestra generan artefactos en la fase debido a la curvatura superficial y la refracción en las interfaces de las capas.

Esta es la razón por la que se tiene que aplicar una corrección de la fase que depende del movimiento dentro del tejido, la cual compensa la diferencia de camino óptico en función de la diferencia de índice de refracción y el desplazamiento superficial d_z , en la figura 3.26(a) se puede observar la muestra antes de haber generado la excitación en la cual la partícula dentro del tejido se encuentra en una posición z , y en la figura 3.26(b) se tiene una vez ya realizada la excitación mecánica, donde la partícula dentro del tejido ya no se encuentra en una posición z , sino en una posición afectada por el movimiento de la superficie.

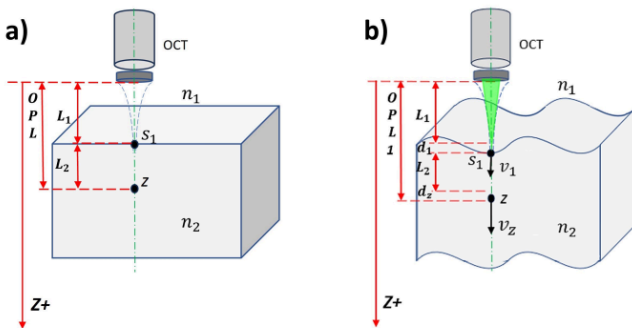


FIGURA 3.26 Esquema de corrección de fase en función de la variación de espesor y curvatura del modelo corneal, utilizada para compensar artefactos ópticos y asegurar la linealidad del desplazamiento.

Al realizar esta corrección de fase se tiene, según la figura 3.26, la ecuación

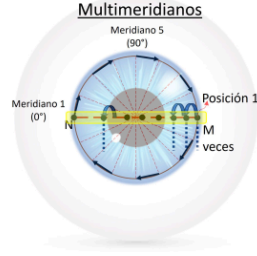


FIGURA 3.27 Representación del protocolo multimeridiano aplicado sobre el modelo corneal, mostrando las trayectorias de adquisición en ángulos radiales equiespaciados señalando cual es el meridiano de 0° y el de 90° .

3.7 para un tiempo inicial $t = 0s$ donde se tiene que la distancia de camino óptico OPL a una partícula en el interior del tejido se calcula como la distancia para una partícula S_1 en la superficie, L_1 por su índice de refracción n_1 , más la distancia para una partícula z en el interior del tejido, L_2 por su índice de refracción n_2 , cuando se realiza la excitación y transcurre un tiempo Δt entonces según la ecuación 3.8 se tiene que el OPL_1 se calcula como: para la partícula de la superficie la distancia L_1 más la distancia que se desplazó d_1 y para la partícula dentro del tejido es la distancia L_2 menos la distancia que se desplazó S_1 más la distancia d_2 que se desplazó z [29].

$$OPL = d \cdot n; \quad OPL_0(z) = L_1 n_1 + L_2 n_2 \quad : t = 0 \quad (3.7)$$

$$d = v \cdot \Delta T; \quad OPL_1(z) = (L_1 + v_1 \Delta T) n_1 + (L_2 + v_2 \Delta T - v_1 \Delta T) n_2; \quad t = \Delta T \quad (3.8)$$

Se tiene entonces la diferencia de camino óptico $\Delta OPL(z)$ es 3.9:

$$\Delta OPL(z) = OPL_1 - OPL_0 \quad (3.9)$$

Derivando entonces la ecuación 3.6 se tiene 3.10

$$v(z) = \frac{\lambda_0}{4\pi T_s} \Delta \phi(z) \quad (3.10)$$

Entonces operando 3.9 con 3.10 se tiene el $\Delta OPL_{\text{corregido}}$ 3.11:

$$\begin{aligned} \Delta OPL(z) &= \Delta \phi_1 \frac{\lambda_0}{4\pi} (n_1 - n_2) + \Delta z \frac{\lambda_0}{4\pi} (n_2) \\ \Delta OPL_{\text{corregido}}(z) &= \Delta OPL_{\text{medido}} - \frac{\lambda_0}{4\pi} \Delta \phi_1 (n_1 - n_2) \end{aligned} \quad (3.11)$$

En términos de fase se puede escribir $\Delta OPL_{\text{corregido}}$ como:

$$\Delta \phi_{\text{corregido}}(z) = \Delta \phi_{\text{medido}} - \Delta \phi_1 (n_1 - n_2)$$

De cual la velocidad de partícula corregida resulta 3.12:

$$v(z) = \Delta\phi_{\text{corregido}}(z) \frac{\lambda_0}{4\pi T_s} \quad (3.12)$$

Una vez corregidos los desplazamientos, los datos se representan como mapas espacio tiempo para cada uno de los meridianos. De estos mapas se obtiene la dirección y velocidad de propagación de las ondas mecánicas, así como su simetría radial. La figura 3.27 muestra la distribución espacial de los meridianos analizados sobre la superficie corneal, donde se puede ver las separaciones distribuidas en iguales intervalos angulares.

El protocolo MB-mode de multimeridianos permite mapear el comportamiento biomecánico de la córnea espacial y temporal. Los datos de la adquisición permiten obtener información de la estructura y velocidad de propagación de onda y con estos datos realizar la estimación del módulo de corte G [13, 26, 32].

Capítulo 4

Estimación de Elasticidad en Maniqués Corneales y Validación en Córneas Porcinas Ex Vivo

En este capítulo se asumió que el tejido puede modelarse como un medio elástico, homogéneo e isotrópico, se estimó el módulo de corte G a partir de la relación entre la velocidad de propagación y la densidad del tejido. Asimismo, se aplicó modelos matemáticos basados en la propagación de ondas Lamb, que incorporan parámetros adicionales como el espesor corneal. Esta fase tiene como propósito establecer la base matemática y computacional que permita convertir las señales ópticas registradas en parámetros biomecánicos cuantificables y clínicamente relevantes.

El siguiente paso consistió en la validación experimental del sistema OCE, tanto en maniqués de silicona diseñados para simular la córnea humana como en córneas porcinas *ex vivo*. Los globos oculares porcinos fueron obtenidos de productos descartados para consumo humano, asegurando su frescura mediante el uso de solución salina balanceada (BSS) para conservar las propiedades biomecánicas del tejido durante el transporte y la medición.

Los maniqués elásticos se fabricaron con silicona a distintas concentraciones para reproducir diferentes niveles de rigidez corneal. Estos modelos permitirán evaluar la sensibilidad del sistema frente a variaciones en la presión intraocular (IOP, por sus siglas en inglés).

Posteriormente, se realizaron experimentos en córneas porcinas *ex vivo*, montadas en un sistema de sujeción diseñado para mantener el control de la IOP. Se trabajará con diferentes niveles de presión (5–30 mmHg), a fin de estudiar su influencia en las mediciones biomecánicas.

4.1. Introducción y motivación

La validación experimental constituye una etapa esencial en la traslación clínica del sistema OCE, ya que permite comprobar su desempeño en condiciones controladas con muestras conocidas antes de realizar aplicaciones *in vivo* en pacientes. Este proceso busca evaluar la precisión, sensibilidad y repetibilidad del sistema OCE frente a variaciones en las propiedades biomecánicas de la córnea, utilizando maniqués de silicona que simulan modelos de tejido corneal.

Los maniqués que reproducen el tejido corneal ofrecen un entorno que permite ajustar parámetros ópticos y acústicos sin las limitaciones biológicas propias de los tejidos vivos, como la degradación. Estas pruebas proporcionan alta repetibilidad, ya que, al tratarse de maniqués, es posible realizar múltiples adquisiciones, optimizando la calibración del alineamiento, el enfoque y la configuración del sistema ACUS.

Posteriormente, la validación en córneas porcinas *ex vivo* permite trasladar el sistema OCE a un escenario más realista con muestras biológicas. En estos tejidos se evalúa la propagación de ondas mecánicas para obtener parámetros biomecánicos bajo diferentes condiciones de presión intraocular (IOP), y después de realizar el tratamiento Dresden de CXL. Las córneas porcinas presentan características anatómicas, fisiológicas y mecánicas similares a las humanas, por lo que constituyen un modelo de referencia ampliamente aceptado.

El objetivo de este capítulo es demostrar la capacidad del sistema OCE para generar, detectar y cuantificar ondas mecánicas en muestras que simulan la córnea y en córneas *ex vivo*, a partir de las cuales se obtendrán parámetros biomecánicos. De esta manera, se busca confirmar que el sistema OCE es apto para el estudio de la biomecánica corneal en condiciones controladas y su futura aplicación en pacientes.

4.2. Validación experimental en maniqués corneales

4.2.1. Arreglo experimental

El arreglo experimental se diseñó para validar el sistema OCE en maniqués corneales de silicona bajo diferentes condiciones de excitación. La configuración del sistema se basa en la figura 3.7, donde el ACUS se alinea coaxialmente con el haz óptico del OCT, permitiendo la generación y detección de ondas mecánicas sobre la superficie del maniqué corneal sin interferir con el haz de escaneo.

El maniqué corneal se fabricó en material de silicona con distintos módulos de rigidez, similares a los del tejido biológico. Este se montó en un módulo de control de presión que simula diferentes condiciones de IOP del ojo. El ACUS generó pulsos acústicos de corta duración que inducen excitaciones mecánicas, produciendo desplazamientos en el tejido del orden de nanómetros, los cuales son detectados mediante el sistema OCT.

La adquisición y la excitación se sincronizaron mediante el módulo NI-DAQ, controlado desde una interfaz en LabVIEW, garantizando coherencia temporal entre la excitación acústica y la adquisición óptica. La figura 4.1(a) muestra el arreglo experimental y la figura 4.1(b) muestra la simulación del patrón de propagación de ondas generado por el ACUS sobre la superficie del maniqué, evidenciando la formación de un frente de onda circular centrado en el ápex del modelo corneal.

4.2.2. Preparación de las muestras

Los maniqués corneales se elaboraron con el fin de replicar las propiedades ópticas y mecánicas de la córnea humana, utilizando materiales viscoelásticos transparentes a base de silicona (PDMS), como se muestra en la figura 4.2(c). Para su fabricación, se emplearon los componentes RTV615 parte A (RTA) y parte B (RTB) en diferentes proporciones (figuras 4.2(a) y 4.2(b)), mezclados manualmente hasta obtener una solución homogénea, cuidando que no queden burbujas ni imperfecciones.

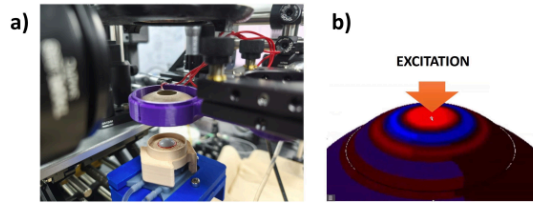


FIGURA 4.1 Arreglo experimental del sistema OCE aplicado sobre un maniquí de silicona con forma de córnea: (a) Se muestra la configuración coaxial entre el haz óptico del OCT y el ACUS y (b) Simulación del patrón de propagación generado por la excitación mecánica sobre la superficie del maniquí.

A la mezcla se agregó dióxido de titanio (TiO_2) en una concentración de 0.05 % en peso (figura 4.2(d)), el cual actúa como agente dispersor de la luz para simular la dispersión del tejido corneal real. Luego, la mezcla se vertió en un molde de resina con forma de córnea (figura 4.2(e)), diseñado para reproducir la curvatura fisiológica corneal y permitir la fabricación de maniqués con diferentes espesores ($450\text{--}600\ \mu\text{m}$), similares a los de una córnea humana.

El curado de los maniqués se realizó en un horno a $60\ ^\circ\text{C}$ durante 5 horas (figura 4.2(f)), obteniéndose finalmente maniqués con distintos módulos de rigidez y espesores. Posteriormente, los maniqués se desmoldaron y almacenaron. Durante las mediciones experimentales, los maniqués mantuvieron su estructura y condiciones iniciales, lo que permitió realizar múltiples mediciones con alta repetibilidad (figura 4.2(g)).

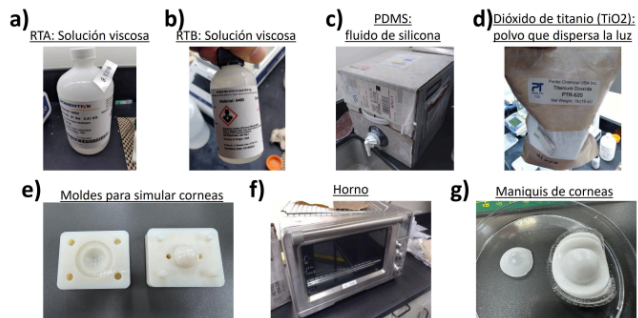


FIGURA 4.2 Proceso de fabricación de maniqués corneales. (a,b) Componentes RTV615 parte A y B; (c) PDMS como elemento base; (d) dióxido de titanio (TiO_2) como agente dispersor de la luz; (e) moldes que simulan la curvatura corneal; (f) horno para curado térmico del maniquí; (g) maniqués corneales terminados.

Este procedimiento permite obtener maniqués con propiedades ópticas y mecánicas comparables a las de la córnea humana, garantizando una estructura homogénea. Estas muestras fueron posteriormente utilizadas en las pruebas experimentales del sis-

tema OCE.

4.2.3. Medición experimental (OCE y Mecánicas)

Las mediciones realizadas en los maniqués corneales se efectuaron utilizando el sistema OCE descrito anteriormente, el cual permite registrar la propagación de ondas Lamb generadas por el ACUS. El objetivo experimental fue generar la propagación de ondas guiadas (ondas Lamb) en maniqués de silicona con diferentes durezas o módulos de rigidez, que simulan el tejido corneal humano, en función de distintas frecuencias de excitación y presiones intraoculares (IOP) controladas.

Los maniqués elásticos, elaborados con diferentes concentraciones de RTA:RTB:PDMS (descritas en la sección de preparación de muestras), fueron posicionados en el arreglo mostrado en la figura 4.1, manteniendo la alineación coaxial entre el sistema OCT y el eje del ACUS, situados confocalmente. Durante las pruebas, se controló la presión fijando valores de 10, 15 y 20 mmHg, que simulan los rangos fisiológicos de la presión intraocular en un ojo humano.

Para cada composición de rigidez se emplearon las proporciones 10:1:5, 10:1:10 y 10:1:15, correspondientes a maniqués rígido (dureza 1), medio (dureza 2) y blando (dureza 3), respectivamente, y las frecuencias de excitación:

$$f = 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 5,0 \text{ kHz}$$

Cada excitación se sincronizó con el inicio de la adquisición OCT mediante el sistema de control NI-DAQ, siguiendo el protocolo descrito en la sección 2.5.2. Para cada medición se adquirieron 950 A-lines por 100 posiciones laterales (N), en 8 meridianos. La tasa de muestreo fue de 200 kHz, suficiente para capturar la propagación completa de la onda. El tiempo de muestreo por posición espacial se calcula como el número de A-lines por el tiempo de barrido de la fuente ($5 \mu s$), resultando en un T_M de 4.75 ms:

$$A\text{-lines} \rightarrow M = 950 \Rightarrow T_M = (950) (5 \mu s) = 4,75 \text{ ms}$$

$$N_o \text{ Sync} \rightarrow N_o = 50$$

$$B\text{-frames} \rightarrow N = 100$$

El tiempo total de adquisición se calcula según la ecuación 3.5:

$$A\text{-lines}_{Tot} = M \cdot N \cdot \# \text{ meridianos} \quad ; \quad \text{meridianos} = 8$$

$$A\text{-lines}_{Tot} = 760,000$$

$$Time_{Tot} = [(M + N_o) 5 \mu s] \cdot N \cdot \# \text{ meridianos}$$

$$Time_{Tot} = 4 \text{ s}$$

De acuerdo con los parámetros experimentales, el tiempo total de cada adquisición fue de 4 s.

El haz óptico se desplazó lateralmente en pasos de $50 \mu m$, generando mapas espacio-tiempo (x, t) para cada frecuencia e IOP, que posteriormente se procesaron para estimar la velocidad de fase.

La repetibilidad del experimento se evaluó realizando tres adquisiciones consecutivas por cada configuración experimental. El índice de refracción del maniquí de silicona fue aproximadamente $n = 1,33$.

Además, para cada muestra de diferente dureza se obtuvieron mediciones mecánicas mediante ensayos de compresión uniaxial, con el fin de correlacionar la rigidez obtenida mecánicamente con la rigidez derivada de las adquisiciones OCE. De esta manera, se validó experimentalmente que el sistema OCE distingue los cambios en la rigidez simulada de los maniqués en función de su composición, frecuencia de excitación y presión aplicada.

4.2.4. Procesamiento y análisis de datos

Los datos adquiridos de los maniqués corneales permiten realizar estimaciones cuantitativas de los parámetros biomecánicos, tales como la velocidad de propagación de la onda, el espesor del tejido y el módulo de rigidez G .

Las adquisiciones proporcionan información estructural, como se muestra en la figura 4.3, en la cual se puede identificar la geometría del maniquí y verificar la correcta alineación del sistema OCT. A partir de esta imagen también se obtiene información sobre el espesor.

Sobre esta base, se obtuvo la imagen de propagación de la onda Lamb (figura 4.4), que permite visualizar la respuesta mecánica del maniquí frente a la excitación generada por el ACUS.

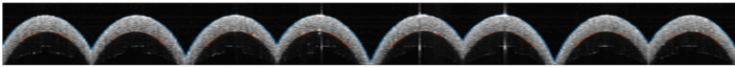


FIGURA 4.3 Imagen estructural de los 8 meridianos obtenida por OCT del maniquí corneal, mostrando su curvatura y espesor.



FIGURA 4.4 Imagen de la propagación de la onda Lamb en los 8 meridianos del maniquí corneal capturada mediante OCE a una excitación de 3000 Hz.

A partir de la información adquirida por el OCT y según el protocolo de adquisición, se analizaron los mapas espacio-tiempo (*space-time maps*) para cada uno de los ocho meridianos, como se muestra en la figura 4.5. En estos mapas se observa el desplazamiento axial en función del tiempo y del eje espacial, corroborando que las ondas Lamb se propagan en ambas direcciones desde el punto central de excitación hacia los bordes del tejido.

Analizando un meridiano (figura 4.6), se obtuvo, mediante la transformada de Fourier bidimensional (FFT-2D), el mapa de dispersión de la propagación de la onda (figura 4.7), donde se identifica la propagación asociada al modo fundamental Lamb A_0 según la frecuencia de excitación. Este procedimiento se repitió para todos los meridianos obtenidos.

A partir de los datos de fase, se obtuvieron los mapas de propagación de la onda Lamb a lo largo de los ocho meridianos. Cada conjunto de datos de respuesta dinámica

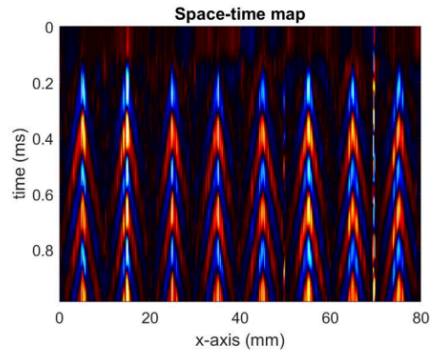


FIGURA 4.5 Mapas espacio-tiempo correspondientes a los 8 meridianos del maniquí corneal.

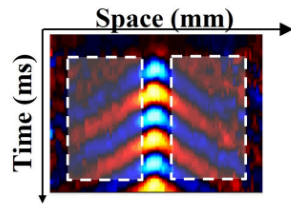


FIGURA 4.6 Mapa espacio-tiempo correspondiente al meridiano de 0° del maniquí corneal.

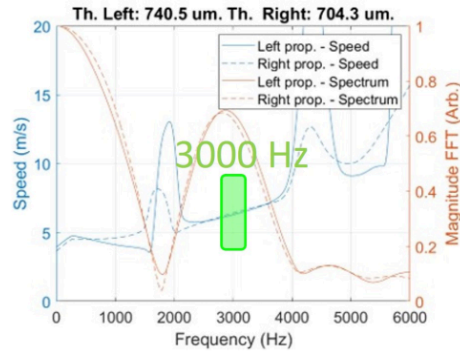


FIGURA 4.7 Mapa de dispersión obtenido mediante análisis FFT-2D, mostrando la relación $\omega(k)$ para las ondas Lamb A_0 en el meridiano de 0° a una excitación de 3000 Hz.

a la excitación acústica fue organizado temporalmente en un mapa (x, t) , donde las oscilaciones representan la propagación de la onda mecánica generada.

Para cada mapa (x, t) se aplicó la transformada de Fourier bidimensional (FFT 2D), lo que permitió obtener el mapa de dispersión. Estos mapas (figura 4.7) evidencian la componente fundamental de la onda Lamb A_0 y su dependencia con la frecuencia de excitación. Con los valores promedio de velocidad y espesor obtenidos por meridiano se generaron diagramas polares (figuras 4.8 y 4.9), que muestran la simetría estructural del maniquí y la simetría de la propagación de las ondas guiadas en distintas direcciones, dada su homogeneidad.

Los resultados promedio para los ocho meridianos se representaron en diagramas polares de espesor (figura 4.19) y velocidad de fase (figura 4.20). El espesor promedio obtenido fue de $885,91 \pm 20,37 \mu\text{m}$, mientras que la velocidad de fase promedio fue de $5,84 \pm 0,45 \text{ m/s}$, en concordancia con valores reportados en la literatura para córneas porcinas.

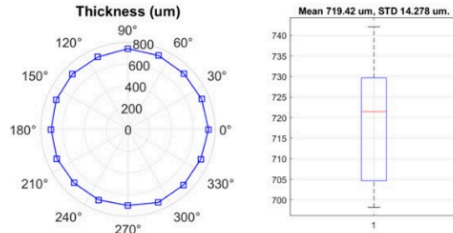


FIGURA 4.8 Distribución polar del espesor corneal estimado en ocho meridianos del maniquí a 3000 Hz con su valor de promedio y desviación estándar STD.

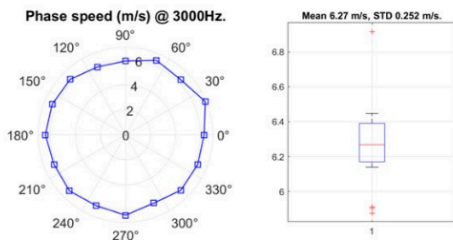


FIGURA 4.9 Distribución polar de la velocidad de fase promedio (3000 Hz) en los meridianos analizados con su valor de promedio y desviación estándar STD.

Se obtuvieron todos los valores de velocidad y espesor, los cuales se ingresaron en el modelo *Modified Rayleigh-Lamb Frequency Equation* (mRLFE) [27], considerando la córnea como una placa delgada viscoelástica Kelvin-Voigt, isotrópica y homogénea, con aire en la superficie superior y fluido en la inferior (figura 4.10). En este modelo, la velocidad de fase depende de varios parámetros, según la ecuación 4.1:

$$c_L = f(G, \tau, \omega, \dots) \quad (4.1)$$

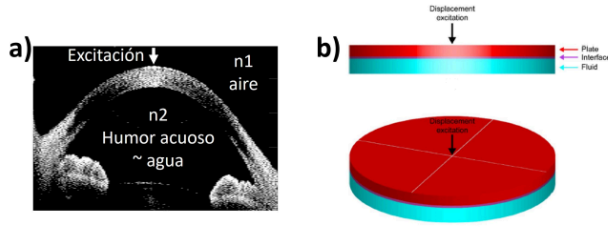


FIGURA 4.10 Representación del modelo de placa delgada (membrana) utilizado para el cálculo del módulo de corte G . (a) Imagen de una córnea con aire en la superficie superior y agua en la inferior, donde la excitación se realiza en el centro de la superficie superior. (b) Vista 2D y 3D del modelo de placa delgada mostrando la propagación de ondas en la membrana [27].

$$M = \begin{bmatrix} (k^2 + \beta^2) \sinh(\alpha d) & 2k\beta \sinh(\beta d) & (k^2 + \beta^2) \cosh(\alpha d) & 2k\beta \cosh(\beta d) & 0 \\ 2k\alpha \cosh(\alpha d) & (k^2 + \beta^2) \cosh(\beta d) & 2k\alpha \sinh(\alpha d) & (k^2 + \beta^2) \sinh(\beta d) & 0 \\ -(k^2 + \beta^2) \sinh(\alpha d) & -2k\beta \sinh(\beta d) & (k^2 + \beta^2) \cosh(\alpha d) & 2k\beta \cosh(\beta d) & \frac{\rho_F \omega^2}{\mu^*} \\ 2k\alpha \cosh(\alpha d) & (k^2 + \beta^2) \cosh(\beta d) & -2k\alpha \sinh(\alpha d) & -(k^2 + \beta^2) \sinh(\beta d) & 0 \\ \alpha \cosh(\alpha d) & k \cosh(\beta d) & -\alpha \sinh(\alpha d) & -k \sinh(\beta d) & -\alpha_F \end{bmatrix} \quad (4.2)$$

De acuerdo con la ecuación 4.1, la velocidad depende del espesor, la frecuencia de excitación y el módulo de corte G , entre otros parámetros. A partir de la imagen estructural se determina el espesor corneal, y de la imagen de propagación se obtiene la velocidad de la onda.

Conociendo la frecuencia de excitación (variable controlada), se estima el módulo G mediante el modelo mRLF, resolviendo la matriz 4.2[27], en los puntos donde $\det(M) = 0$. Así, para la curva de dispersión A_0 , al conocer la velocidad se puede calcular el valor de G (figura 4.10 y matriz 4.2).

Finalmente, para la cuantificación biomecánica se ajustaron las curvas de dispersión experimentales al modelo mRLF, considerando el maniquí como una placa delgada con la superficie superior en aire y la inferior sobre fluido (agua). Este modelo teórico permitió estimar el módulo de corte G del material en función de la frecuencia y de las condiciones experimentales.

El análisis comparativo entre las distintas durezas (dureza 1: 10:1:5, dureza 2: 10:1:10 y dureza 3: 10:1:15) mostró una correspondencia directa entre la rigidez estimada mediante el modelo mRLF, validando la capacidad del sistema OCE para estimar cuantitativamente la rigidez de los tejidos.

4.2.5. Resultados

Los resultados obtenidos en los maniqués corneales de silicona permiten evaluar cuantitativamente la sensibilidad del sistema OCE para detectar la rigidez del material en función de la frecuencia y de la IOP aplicada. El análisis de los resultados se centró en tres parámetros principales: espesor, velocidad de fase y módulo de corte G .

La figura 4.11 muestra la variación del espesor para las tres durezas de maniqué corneal (membrana): dureza 1, más rígido (10:1:5, ver figura 4.11(a); dureza 2,

rigidez media (10:1:10) , ver figura 4.11(b); y dureza 3, blando (10:1:15), ver figura 4.11(c), en función de IOP de 10, 15 y 20 mmHg. En todos los casos, el espesor se mantuvo prácticamente constante a lo largo del rango de frecuencias propuesto en el experimento. Se observa también una disminución del espesor con el incremento de la presión intraocular, debido a la compresión del material de silicona a medida que aumenta la IOP. Por ejemplo, el maniquí de dureza 1 presenta, a una IOP de 10 mmHg, un espesor de $718,442 \pm 13,8 \mu\text{m}$; al aumentar a 15 mmHg es $711,535 \pm 13,8 \mu\text{m}$ y a 20 mmHg es $702,133 \pm 14,3 \mu\text{m}$.

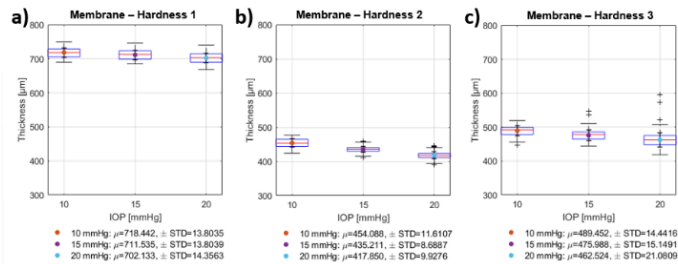


FIGURA 4.11 Comparación del espesor del maniquí corneal (membrana) para las tres durezas: (a) Dureza 1 (10:1:5), (b) Dureza 2 (10:1:10) y (c) Dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP.

En la figura 4.12 se presentan las curvas de velocidad de fase de la onda Lamb en función de la frecuencia para diferentes IOP. Se observa un comportamiento dispersivo donde la velocidad de fase aumenta con la frecuencia de excitación, debido a la relación no lineal entre frecuencia y número de onda en ondas guiadas en placas delgadas. Además, la velocidad también se incrementa con la presión interna, posiblemente por un aumento de la rigidez del maniquí. A una frecuencia de excitación de 3 kHz y una IOP de 15 mmHg, los valores promedio de las velocidades de propagación fueron de aproximadamente 6.3 m/s para el maniquí de dureza 1, figura 4.12(a), 4.7 m/s para el de dureza 2, figura 4.12(b) y 4.2 m/s para el de dureza 3, figura 4.12(c).

En la figura 4.13 se presentan las curvas de G calculadas con el modelo mRLFEn función de la frecuencia para las diferentes IOP propuestas en el experimento. Se observa un comportamiento dispersivo, ya que en ondas guiadas en placas delgadas, como en los maniqués con forma de córnea, existe una relación no lineal entre frecuencia y número de onda. Además, el G también se incrementa cuando aumenta la IOP debido a que la presión interna genera tensión en el maniquí y esto incrementa su rigidez.

Las figuras 4.14 y 4.15 comparan los valores del módulo de corte obtenidos con el sistema OCE mediante el modelo mRLFEn los valores medidos por compresión mecánica. En los tres casos se observó una tendencia ascendente de G calculado por el modelo mRLFEn al aumentar la IOP. Para la dureza 1 (rígido), el valor medio de G varió entre 90 y 120 kPa; para la dureza 2 (media), osciló entre 60 y 90 kPa; y para la dureza 3 (blanda) entre 30 y 50 kPa.

El modelo mRLFEn estimó el comportamiento observado experimentalmente y, respecto a las mediciones mecánicas, se aprecia una tendencia similar. También se observa que los valores mecánicos son comparables, exceptuando el caso del maniquí de

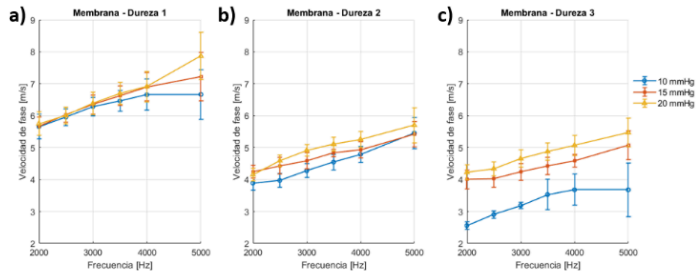


FIGURA 4.12 Comparación de la velocidad de fase para las tres durezas del maniquí corneal (membrana): (a) Dureza 1 (10:1:5), (b) Dureza 2 (10:1:10) y (c) Dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP.

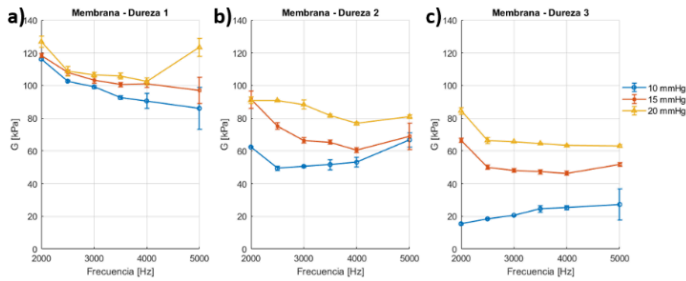


FIGURA 4.13 Comparación del G para las tres durezas de los maniqués corneales (membrana): (a) Dureza 1 (10:1:5), (b) Dureza 2 (10:1:10) y (c) Dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP.

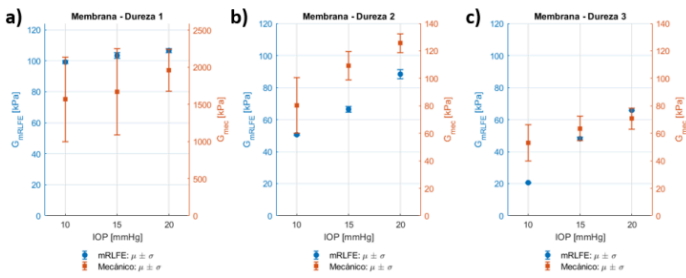


FIGURA 4.14 Comparación del G estimado a 3 kHz para las tres durezas: (a) Rígido de dureza 1 (10:1:5), (b) Medio de dureza 2 (10:1:10) y (c) Blando de dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP.

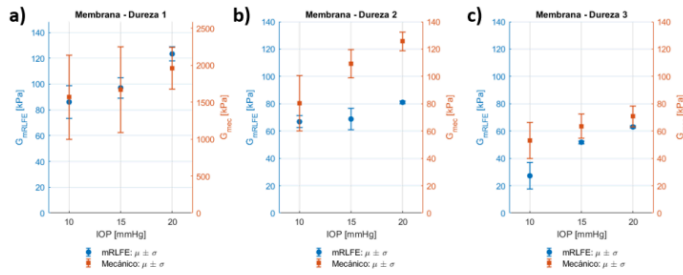


FIGURA 4.15 Comparación del G estimado a 5 kHz para las tres durezas: (a) Rígido de dureza 1 (10:1:5), (b) Medio de dureza 2 (10:1:10) y (c) Blando de dureza 3 (10:1:15) a diferentes IOP.

dureza 1, posiblemente debido a la no linealidad del material de silicona con el que se fabricaron los maniqués corneales.

4.3. Validación experimental en Córneas Porcinas Ex Vivo

4.3.1. Arreglo experimental

Las adquisiciones del sistema OCE en córneas porcinas *ex vivo* se realizaron con el mismo esquema descrito anteriormente (figura 3.7). El arreglo experimental específico para córnea se muestra en la figura 4.16. El objetivo fue comprobar que el sistema detecta parámetros biomecánicos en un tejido biológico, en este caso, córneas porcinas *ex vivo*.

En este arreglo, la córnea porcina se coloca sobre un módulo de sujeción y se conecta al sistema de control de IOP. La bomba de inyección/extracción (jeringa) se conecta a la cámara del ojo mediante una aguja; una segunda aguja se conecta a un sensor de presión, simulando condiciones fisiológicas del tejido ocular.

El sistema OCT adquiere señales interferométricas que contienen información estructural y señales sensibles a fase (desplazamientos del tejido), mientras que el ACUS realiza excitaciones mecánicas sin contacto directo con la superficie corneal.

La sincronización entre ambos subsistemas siguió el protocolo de adquisición M-B mode multimeridiano. Cada pulso de excitación del ACUS se sincronizó con el inicio de la adquisición del OCT. La respuesta del tejido se registró en múltiples posiciones, uniformemente espaciadas en ángulo, con el fin de obtener un muestreo angular completo de la córnea.

Con estas adquisiciones, se reconstruyen mapas espacio-temporales de propagación de ondas Lamb, a partir de los cuales se estiman los parámetros biomecánicos del tejido corneal.

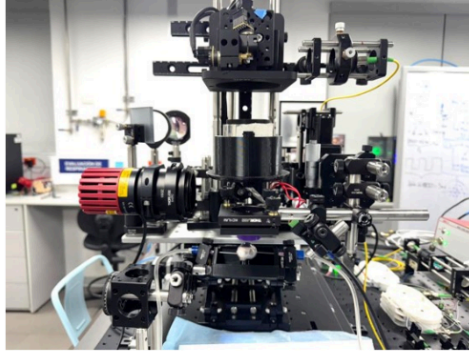


FIGURA 4.16 Arreglo del sistema OCE usado para las validaciones en córneas porcinas *ex vivo*. Se muestra la integración coaxial del módulo óptico (OCT) y el módulo acústico (ACUS), así como la conexión del sistema de control de presión intraocular (IOP) al globo ocular.

4.3.2. Preparación de las muestras *ex vivo*

Las muestras fueron globos oculares porcinos frescos (ojos completos) provenientes de un matadero local y procesados dentro de las primeras horas postmortem para preservar sus propiedades biomecánicas.

Cada globo ocular se limpió cuidadosamente de tejido conjuntivo, muscular y adiposo utilizando pinzas quirúrgicas y solución salina balanceada (BSS), evitando la deshidratación superficial que pudiera afectar la biomecánica.

Una vez listo el tejido, los ojos se montaron sobre un soporte con la córnea orientada hacia arriba. Este soporte mantiene estable el globo ocular y su geometría natural, garantizando un alineamiento adecuado con el haz óptico y la excitación acústica.

El soporte se conectó al sistema de control de IOP, compuesto por una jeringa (bomba) conectada a la cámara del ojo mediante una aguja y por otra aguja conectada a un sensor de presión. De esta manera, se controló la IOP entre 10 y 20 mmHg.

Durante todo el procedimiento, las muestras se mantuvieron hidratadas con BSS para conservar la integridad del tejido y su estabilidad biomecánica.

4.3.3. Medición experimental

Las mediciones en córneas porcinas *ex vivo* siguieron el mismo protocolo de adquisición OCE descrito previamente: M-B mode multimeridiano, con generación de ondas Lamb tipo A_0 . El objetivo fue evaluar la respuesta dinámica de las córneas *ex vivo* en función de diferentes frecuencias de excitación y presiones controladas de IOP.

Cada muestra fue excitada mecánicamente en el ápex corneal con el ACUS, mientras el OCT registró las señales. La frecuencia de muestreo del OCT fue de 200 kHz y, manteniendo los parámetros establecidos, cada adquisición tuvo una duración total de 4 s.

Las excitaciones del ACUS se realizaron en el rango de 2 a 5 kHz, generando ondas A_0 que se propagaron radialmente a lo largo de 8 meridianos. Las mediciones se

repetieron tres veces para cada nivel de IOP (10, 15 y 20 mmHg), controladas mediante el sistema descrito.

La adquisición se sincronizó con la excitación acústica a través del sistema NI-DAQ. Durante el experimento, se hidrató periódicamente la superficie corneal con BSS para preservar el tejido.

Este conjunto de mediciones permite reconstruir mapas espacio-tiempo de propagación de ondas Lamb. A partir de ellos, se estiman el espesor corneal, la velocidad de fase y el módulo de corte G , como se describe en la siguiente subsección.

4.3.4. Procesamiento y análisis de datos

Los datos adquiridos en córneas porcinas mediante OCE permiten realizar estimaciones cuantitativas del espesor, de la velocidad de propagación de las ondas Lamb y, a partir de ambos, del módulo de corte G mediante el modelo mRLFE. A partir de las señales de interferencia del OCT se reconstruyen las imágenes estructurales (figura 4.17), con las que se determina el espesor y la geometría corneal bajo cada condición de IOP. Los valores promedio de espesor fueron de aproximadamente $820 \pm 25 \mu\text{m}$, sin variaciones significativas dentro del rango de IOP, lo que confirma la estabilidad estructural durante la medición.

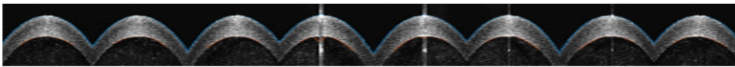


FIGURA 4.17 Imagen estructural OCT de la córnea porcina *ex vivo*, mostrando la curvatura corneal y los límites epitelial y endotelial.

Las señales de fase corregidas se organizaron en mapas espacio-tiempo $u(x, t)$ para cada meridiano, donde se visualiza la propagación de la onda Lamb A_0 en la superficie corneal (figura 4.18).

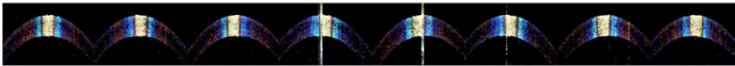


FIGURA 4.18 Mapas espacio-tiempo de propagación de ondas en córneas porcinas *ex vivo*. Se muestra la estimación de la velocidad de fase para ambos sentidos de propagación a una excitación de 3000 Hz.

Para cada mapa (x, t) se aplicó una FFT-2D para obtener el mapa de dispersión (figura 4.7), en el que se evidencia la componente fundamental A_0 y su dependencia con la frecuencia. Con los valores promedio de velocidad y espesor por meridiano se generaron diagramas polares (figuras 4.8 y 4.9) que muestran la simetría estructural y la simetría de propagación.

Los resultados promedio para los ocho meridianos se representaron en los diagramas polares de espesor corneal (figura 4.19) y velocidad de fase (figura 4.20). El espesor medio fue $885,91 \pm 20,37 \mu\text{m}$ y la velocidad de fase promedio $5,84 \pm 0,45 \text{ m/s}$, en concordancia con valores reportados para córneas porcinas *ex vivo*.

Para la estimación de rigidez, las curvas de dispersión experimentales se ajustaron al modelo mRLFE, considerando la córnea como una placa delgada.

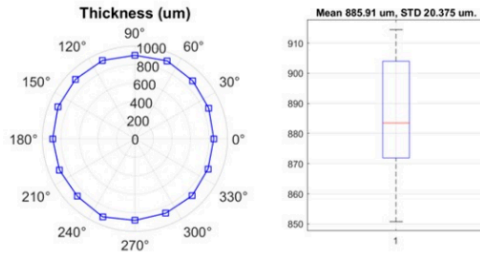


FIGURA 4.19 Distribución polar del espesor corneal medido en ocho meridianos. Se observa una geometría simétrica. Espesor medio: $885,91 \pm 20,37 \mu\text{m}$.

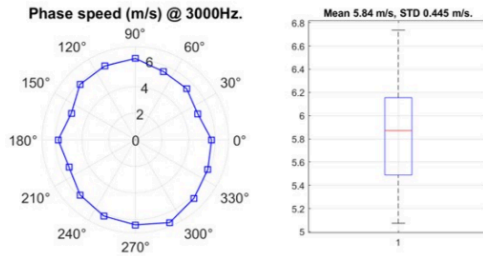


FIGURA 4.20 Distribución polar de la velocidad de fase a 3000 Hz. Velocidad de fase media: $5,84 \pm 0,45 \text{ m/s}$.

En suma, el procesamiento vincula la respuesta dinámica con los parámetros biomecánicos fundamentales del tejido corneal *ex vivo* y sienta la base para evaluar rigidez y el seguimiento de tratamientos a lo largo del tiempo.

4.3.5. Resultados

Los resultados obtenidos mostraron una relación directa entre la IOP y los parámetros biomecánicos. Las curvas de velocidad de fase, espesor y módulo de corte se calcularon para cuatro córneas representativas, antes y después del CXL, en el rango 2–5 kHz y a 10, 15 y 20 mmHg.

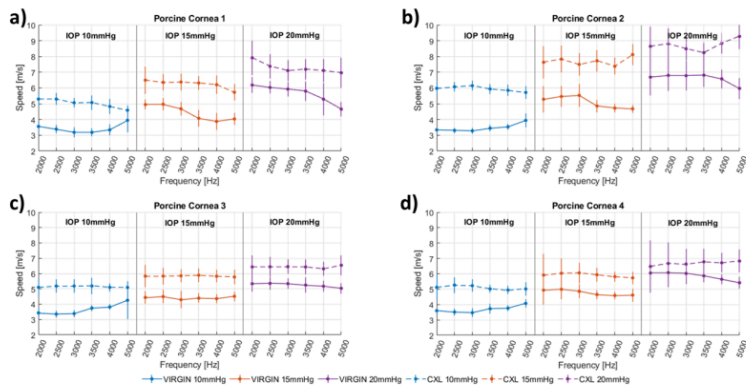


FIGURA 4.21 Velocidad de fase c_{ph} vs. frecuencia para cuatro córneas porcinas *ex vivo*, (a) Cornea 1, (b) Cornea 2, (c) Cornea 3 y (d) Cornea 4, antes del tratamiento (líneas continuas) y después del CXL (líneas punteadas). Cada columna corresponde a IOP = 10, 15 y 20 mmHg, respectivamente.

En la figura 4.21 se presentan las curvas de velocidad de fase (c_{ph}) en función de la frecuencia. En todas las muestras, 4.21(a), 4.21(b), 4.21(c) y 4.21(d), c_{ph} aumentó con la frecuencia, en coherencia con el modo A_0 de ondas Lamb. Tras el CXL, las curvas se desplazaron a valores mayores, indicando un incremento de rigidez (en tejidos más rígidos la velocidad de propagación aumenta).

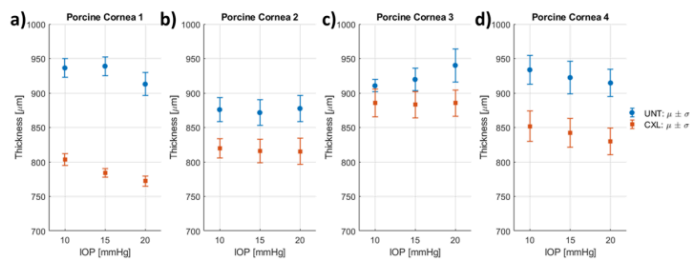


FIGURA 4.22 Comparación del espesor corneal promedio en cuatro córneas porcinas *ex vivo*, (a) Cornea 1, (b) Cornea 2, (c) Cornea 3 y (d) Cornea 4, antes y después del CXL, para IOP = 10, 15 y 20 mmHg.

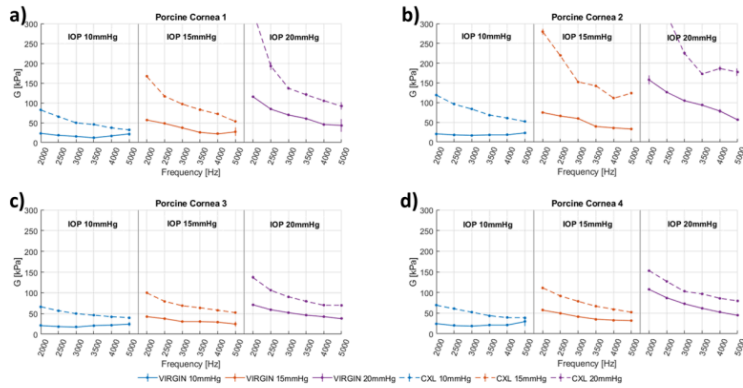


FIGURA 4.23 Módulo de corte G estimado con el modelo mRLFÉ para cuatro córneas porcinas *ex vivo*, (a) Cornea 1, (b) Cornea 2, (c) Cornea 3 y (d) Cornea 4, antes (líneas continuas) y después (líneas punteadas) del CXL. Cada columna corresponde a IOP = 10, 15 y 20 mmHg.

El espesor promedio en las corneas porcinas *ex vivo*, figura 4.22(a), figura 4.22(b), figura 4.22(c) y figura 4.22(d), disminuyó de forma moderada tras el CXL, posiblemente por el uso de riboflavina en base de dextrano. Los valores se mantuvieron dentro del rango esperado para córnea porcina *ex vivo*.

Usando el modelo mRLFÉ, se obtuvieron los valores de G , donde las cuatro córneas porcinas, figura 4.23(a), 4.23(b), 4.23(c) y 4.23(d), mostraron un comportamiento similar: G aumentó con la IOP y también tras el CXL. En condición virgen, G osciló entre 30 y 70 kPa; después del CXL alcanzó hasta ~ 150 kPa, según la presión aplicada. Estos resultados evidencian el endurecimiento del estroma por entrecruzamiento del colágeno. En conclusión, el sistema OCE distingue cambios biomecánicos en córneas porcinas *ex vivo*.

4.4. Discusión y conclusiones

Los resultados de este capítulo sobre la estimación del G en maniqués corneales y la validación en córneas porcinas *ex vivo* demuestran la capacidad del sistema OCE para poder caracterizar cuantitativamente los parámetros biomecánicos, incluida la rigidez, tanto en maniqués de silicona que simulan la córnea como en modelos animales de córneas porcinas *ex vivo*.

En los maniqués con forma corneal, la propagación de las ondas Lamb muestran velocidades de fase crecientes con la frecuencia y con la IOP aplicada. Las diferencias entre las tres diferentes durezas fabricadas se reflejaron claramente en los valores de G estimados con el modelo mRLFE, consistentes con los ensayos mecánicos de compresión realizados en el laboratorio, lo que valida el método para distinguir variaciones en materiales elásticos conocidos.

En las córneas porcinas *ex vivo*, las velocidades de fase se ubicaron entre 3 y 9 m/s (2–5 kHz) y aumentaron con la frecuencia y con la IOP (10–20 mmHg). Tras el CXL, las curvas de dispersión se desplazaron a mayores velocidades y G alcanzó valores de hasta ~150 kPa, mientras que el espesor disminuyó levemente. Estos hallazgos concuerdan con reportes experimentales del endurecimiento inducido por CXL y confirman la sensibilidad del sistema para detectar cambios biomecánicos.

El protocolo M-B mode multimeridiano sincronizó la excitación ACUS y la detección OCT, permitiendo mapas de velocidad y espesor en maniqués y en córneas porcinas *ex vivo*. Aunque el modelo mRLFE idealiza la córnea como placa delgada isotrópica, los resultados son consistentes con el protocolo experimental.

En conclusión, el sistema OCE construido permite mediciones no invasivas sensibles a fase y la estimación de la rigidez en muestras tisulares corneales, habilitando su uso para evaluación biomecánica y seguimiento de tratamientos.

Capítulo 5

Evaluación de Protocolos de Crosslinking Corneal

En este capítulo se aplicaron diversos protocolos de CXL, incluyendo el protocolo convencional de Dresden y versiones aceleradas que utilizan distintas potencias de luz UV. Antes, durante y después de cada tratamiento se obtuvo mapas biomecánicos mediante OCE, con el objetivo de evaluar los cambios en la elasticidad corneal inducidos por el CXL. Esta etapa permitió comparar experimentalmente los efectos tiempo dependientes de los diferentes protocolos y aportar información cuantitativa sobre su eficacia biomecánica.

Finalmente, se realizó el procesamiento completo de los datos experimentales y su análisis cuantitativo, generando mapas espaciales del módulo de corte, así como gráficos de velocidad y espesor corneal en función de la IOP y del tipo de tratamiento aplicado.

5.1. Introducción y motivación

El entrecruzamiento de las fibras del colágeno (CXL, *Corneal Cross-Linking*) se ha consolidado como el principal tratamiento clínico para detener la progresión del queratocono y otras ectasias corneales, al aumentar la rigidez biomecánica del estroma inducido por las gotas de riboflavina y luz ultravioleta. A pesar de su eficacia demostrada, existe aún la necesidad de cuantificar de manera objetiva los cambios biomecánicos generados por los diferentes protocolos clínicos acelerados, que buscan reducir el tiempo de exposición de irradiación UV-A manteniendo una eficacia equivalente al protocolo estándar de Dresden.

El uso del sistema OCE ofrece una herramienta no invasiva y altamente sensible para medir la rigidez corneal en función del tiempo, permitiendo monitorear la evolución del efecto de CXL a lo largo del tiempo durante el protocolo. Esta técnica supera las limitaciones de los métodos convencionales, como la topografía o la microscopía confocal, al proporcionar mediciones directas del módulo de corte y de la velocidad de propagación de ondas Lamb en el tejido corneal.

El presente capítulo muestra la evaluación comparativa de tres protocolos clínicos de CXL: (i) el protocolo estándar de Dresden (3 mW/cm², 30 min), (ii) un protocolo acelerado de 10 min (9 mW/cm²), y (iii) un protocolo altamente acelerado de 3 min (30 mW/cm²). Los tres protocolos se aplicaron en córneas porcinas *ex vivo* con gotas de riboflavina con dextrano, en condiciones de presión controlada a 15 mmHg.

El objetivo principal del experimento es cuantificar los cambios temporales en el módulo de corte G y la velocidad de fase c_p de las ondas Lamb generados por CXL, evaluando la relación entre fluencia de energía, tiempo de irradiación de luz UV-A y rigidez, G , obtenida.

De igual forma, se busca validar la capacidad del sistema OCE para detectar diferencias biomecánicas entre los diferentes protocolos, estableciendo una base cuantitativa para optimizar futuros tratamientos y estudiar la evolución del endurecimiento producido en la reticulación de las fibrillas de colágeno del estroma.

La presente evaluación permite vincular los parámetros ópticos del tratamiento con la respuesta mecánica real del tejido, haciendo del sistema de OCE una herramienta de diagnóstico funcional y de monitoreo postoperatorio del CXL corneal.

5.2. Propuesta experimental

5.2.1. Arreglo experimental

El sistema experimental desarrollado para la evaluación de protocolos de CXL se basa en el sistema OCE descrito previamente en la figura 3.7, al cual se integró un módulo con una lámpara (M365LP1-C4) de irradiación de luz UV-A (365 nm). Con lo cual se tiene el esquema completo, mostrado en la figura 5.1. Este arreglo permite realizar mediciones de los parámetros biomecánicos de la córnea antes, durante y después del tratamiento de CXL, manteniendo constante las distancias a la muestra, la presión intraocular (15 mmHg) y las condiciones ópticas de adquisición, irradiación UV y excitación del ACUS de forma ininterrumpida.

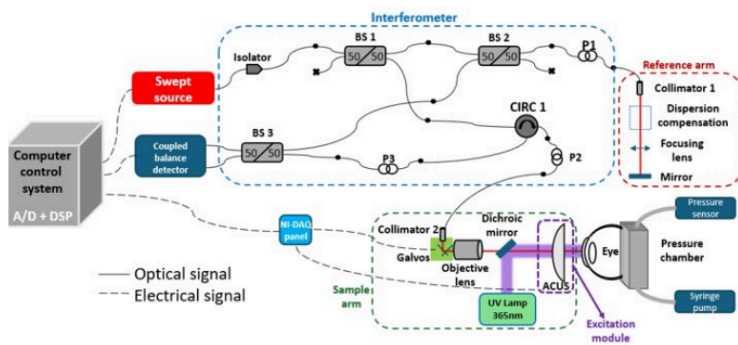


FIGURA 5.1 Esquema de la configuración experimental para la evaluación de protocolos de CXL corneal mediante OCE. Se muestra el camino óptico del sistema OCT y el camino óptico de la fuente UV que integra la fuente UV (365 nm) a través de un espejo dichroico.

El haz láser del sistema OCT (1300 nm) y la excitación UV-A se combinan coaxialmente mediante un espejo dichroico que permite el paso del haz infrarrojo y refleja la radiación ultravioleta hacia la córnea de modo que ambos haces se combinan coaxialmente sobre la misma región corneal (ver figura 5.2). De esta forma, la adquisición

óptica (OCT), excitación acústica y la irradiación UV se realizan sobre la misma región del tejido, garantizando las mediciones mecánicas a lo largo del tratamiento y detección tal como se observa en la figura 5.3.

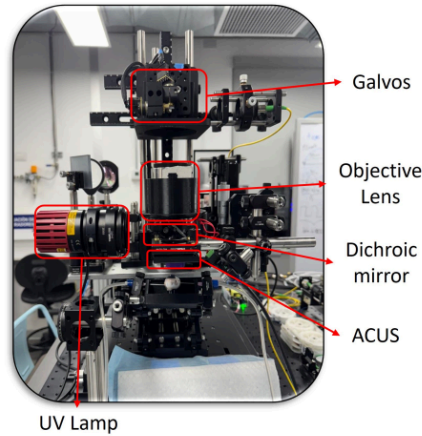


FIGURA 5.2 Vista detallada del módulo de integración del sistema OCE con el módulo de la luz UV-A, se tienen los componentes principales indicados con recuadro rojo: galvos para escaneo lateral, lente objetiva, espejo dichroico, transductor ultrasónico acoplado al aire (ACUS) y lámpara UV de 365 nm.

El sistema experimental incluye un módulo de control de presión que permite mantener una presión estable y controlada a 15 mmHg de la cornea porcina ex vivo durante toda la duración del protocolo de CXL, como se muestra en la figura 5.4.

Durante el procedimiento, la córnea se impregna con solución de riboflavina con dextrano (10%), en un área de aproximadamente 9 a 10 mm de la superficie corneal, por un tiempo de 30 minutos, como se muestra en la Figura 5.4. Seguidamente, se aplica la irradiación UV a través de una lámpara calibrada con un medidor de potencia (ACCUPRO Plus XP4000). El sistema OCE adquiere información estructural de la cornea y propagación de ondas Lamb según el protocolo MB mode. Utilizando el modelo mRLFE se calcula la rigidez corneal durante el tratamiento. Las adquisiciones de 4 segundos, como ya se había especificado anteriormente, lo que permite adquirir datos a lo largo de todo el protocolo de CXL.

De esta manera, el sistema OCE puede registrar en tiempo real las variaciones de los parámetros biomecánicos inducidos por las gotas de riboflavina y por la exposición a la luz UV en los distintos protocolos de CXL.

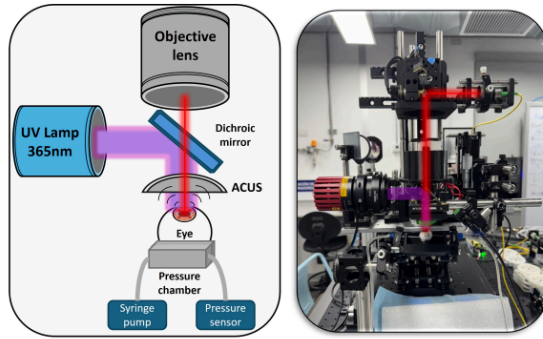


FIGURA 5.3 Diagrama del brazo de muestra del sistema OCE con el módulo de luz UV-A, mostrando como se acopla la trayectoria óptica del haz de escaneo con el haz UV-A, y en el mismo camino el ACUS, en línea roja se muestra el haz de escaneo (1300 nm), en violeta el haz UV-A (365nm).

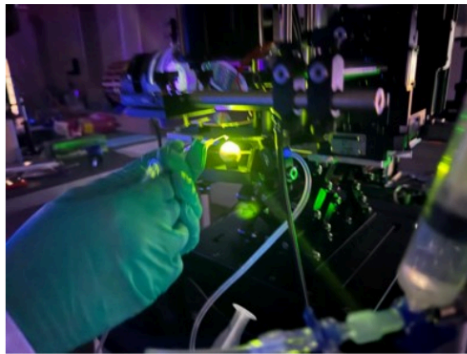


FIGURA 5.4 Arreglo experimental de CXL en córneas porcinas *ex vivo*. Se visualiza la aplicación de riboflavina bajo iluminación UV-A (365 nm) acoplado al sistema OCE que registra la respuesta a la excitación mecánica del ACUS en tiempo real.

5.2.2. Preparación de la muestra

Las muestras utilizadas son córneas porcinas *ex vivo*. Se tiene los globos oculares frescos adquiridos en un matadero local y se conservan a temperatura de aproximadamente 4°C hasta su uso. Antes de realizar las mediciones, los globos oculares fueron cuidadosamente limpiados del tejido conjuntivo, cuidando la integridad de la superficie corneal. Existen protocolos de CXL que requieren que se retire el tejido epitelial (*EPI OFF*), para lo cual se retiró dicho tejido con la ayuda de una espátula metálica evitando daño en el estroma corneal.

Para realizar las mediciones, los ojos de porcino se montaron en un soporte diseñado para fijar la posición del globo ocular y permitir el acoplamiento al sistema de

control de IOP, descrito ya anteriormente, con el cual se mantuvo controlada la presión a 15mmHg.

5.2.3. Medición experimental

El experimento consistió en la comparación del comportamiento biomecánico dependiente del tiempo en córneas porcinas *ex vivo*, empleando diferentes protocolos de *cross-linking* corneal (CXL) mediante elastografía óptica basada en ondas (*wave-based OCE*). El procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones controladas de presión intraocular (IOP) de 15 mmHg.

Se utilizó un protocolo *epithelium-off* (EPI-OFF), en el cual se retiró el epitelio de la superficie corneal antes de la instilación del fotosensibilizador (riboflavina). La solución de riboflavina empleada fue al 0.1% en base de dextrano al 10%, marca Ribocross TE, de la empresa IROMED GROUP (Roma, Italia).

En total, se emplearon 12 córneas porcinas distribuidas entre los tres protocolos de CXL propuestos, con $n = 4$ córneas por protocolo: Dresden (DRE), acelerado de 10 min (A10) y acelerado de 3 min (A03). La tabla 5.1 resume las características de cada protocolo en términos de irradiancia UV-A, fluencia total, tiempos de instilación e irradiación de luz UV-A, y duración total del experimento.

TABLA 5.1 Protocolos de *cross-linking* corneal (CXL) empleados en el estudio.

| Protocolos | DRE | A10 | A03 |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Irradiancia UV-A | 3 mW/cm ² | 9 mW/cm ² | 30 mW/cm ² |
| Energía total | 5,4 J/cm ² | 5,4 J/cm ² | 5,4 J/cm ² |
| Instilación | 30 min | 30 min | 30 min |
| Instilación + Irradiación UV-A | 30 min | 10 min | 3 min |
| Post-tratamiento | 30 min | 30 min | 30 min |
| Tiempo total | 90 min | 70 min | 63 min |

Durante la medición, las muestras se colocaron sobre un soporte que permitió fijarlas adecuadamente para realizar las adquisiciones con el sistema OCE. La lámpara UV-A y el haz del OCT se alinearon coaxialmente sobre el ápex corneal. El tiempo de adquisición del sistema OCE fue de aproximadamente 4 s, según los parámetros configurados, siendo este intervalo suficiente para registrar las mediciones durante la totalidad de cada protocolo.

El proceso experimental se dividió en tres etapas principales: (1) la etapa de instilación de gotas de riboflavina, (2) la etapa de instilación e irradiación con luz UV-A, y (3) la etapa de post-tratamiento. A lo largo de estas tres fases se realizaron las adquisiciones interferométricas correspondientes para el análisis biomecánico.

5.2.4. Procesamiento y análisis de los datos

El procesamiento de los datos OCE se realizó siguiendo la misma metodología descrita en la sección 4.3.4 para el análisis temporal de la rigidez corneal inducida por los diferentes protocolos de CXL. Se procesó los datos a partir de los mapas espacio tiempo generados para los ocho meridianos en la córnea, tal como se especifica para el protocolo de adquisición de multimeridianos.

Entonces, de los mapas espacio tiempo se estimaron las velocidades de fase de la propagación de ondas en el tejido corneal, corneas porcinas ex vivo, se aplica la transformada de Fourier (FT) bidimensional para estimar la velocidad de onda, esto se realiza para cada frecuencia de excitación, para cada muestra, repetición y protocolo.

Luego se estima el G empleando el modelo mRLFE, asumiendo que la córnea se asemeja a una placa delgada isotrópica y las condiciones de contorno aire tejido y humor acuoso (agua).

El espesor de la córnea porcina ex vivo se calculó a partir de las imágenes estructurales del OCT asociadas a cada medición, calculando el promedio sobre las posiciones axiales correspondientes al eje óptico. Los valores de velocidad de fase y espesor promedio se usaron para estimar el módulo G por frecuencia e IOP, generando así las curvas de dispersión que permitieron comparar los parámetros biomecánicos pre, durante y post tratamiento de CXL.

Se calcula entonces los promedios y desviaciones estándar de G y del espesor para las 12 córneas medidas (4 por protocolo). Los resultados se organizaron por tipo de protocolo (Dresden, A10, A03), lo que permitió estimar el efecto temporal del tratamiento de CXL en la rigidez y grosor corneal.

5.3. Resultados

5.3.1. Cambios temporales del espesor corneal

La figura 5.8 muestra la evolución temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$, donde $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal obtenidas a lo largo del tiempo a partir de las imágenes estructurales de OCT, y Th_0 representa el espesor inicial ($t = 0$). Se presentan los resultados para los tres protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). En los tres casos se observa una disminución progresiva del espesor corneal a lo largo del tratamiento, asociada posiblemente a la deshidratación del tejido durante las etapas de instilación e irradiación UV-A, así como al uso de la riboflavina con base de dextrano, que tiende a reducir el grosor corneal por su efecto osmótico.

En el protocolo Dresden (figura 5.5), la disminución del espesor corneal fue más gradual, con una variación aproximada del 15% al final del tratamiento (90 min). La pendiente media durante la fase de irradiación UV fue $m_{Th} = -1,06 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, reflejando una pérdida de espesor moderada debido a la baja irradiancia (3 mW/cm^2) y el tiempo de exposición prolongado (30 min). Durante la etapa de instilación, el ritmo de cambio fue $m_{Th} = -1,92 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, mientras que en la fase de postratamiento se redujo a $m_{Th} = -4,98 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$, evidenciando una tendencia hacia la estabilización del espesor.

Para el protocolo Acelerado de 10 min (figura 5.6), el ritmo de reducción fue mayor ($m_{Th} = -2,67 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), reflejando el efecto de una irradiancia tres veces superior (9 mW/cm^2) aplicada durante un tiempo más corto (10 min). El espesor promedio al final del tratamiento se redujo aproximadamente un 20% respecto al valor inicial. Durante la etapa de instilación se observó un ritmo de cambio de $m_{Th} = -2,79 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, y en la fase de postratamiento se mantuvo una disminución más leve ($m_{Th} = -1,10 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), indicando que el efecto de reducción continúa antes de estabilizarse.

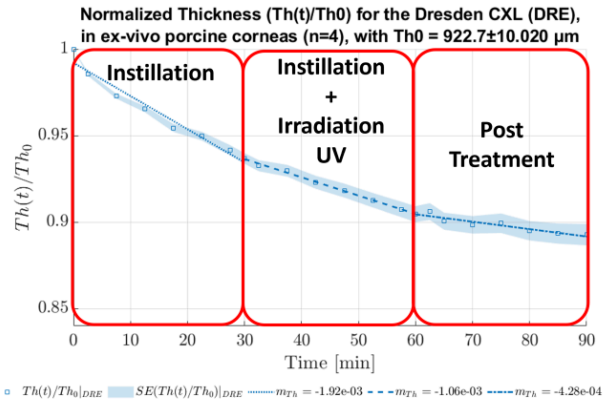


FIGURA 5.5 Cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ durante el tratamiento de CXL Dresden (DRE). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es la medida del espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}).

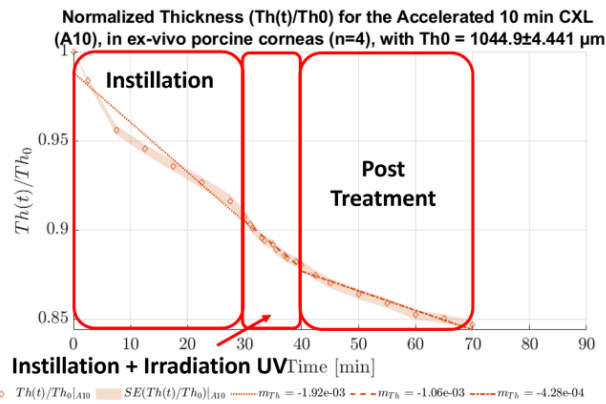


FIGURA 5.6 Cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 10 minutos (A10). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es la medida del espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}).

El protocolo Acelerado de 3 min (figura 5.7) mostró la pérdida más rápida de espesor corneal ($m_{Th} = -3,54 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), con una reducción aproximada del 25 % al

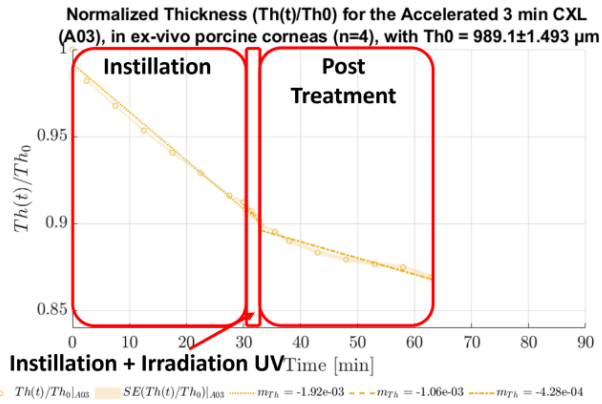


FIGURA 5.7 Cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 3 minutos (A03). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es la medida del espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}).

final del tratamiento. La combinación de una irradiancia UV-A más alta (30 mW/cm^2) y un tiempo de exposición muy corto (3 min) provocó una disminución más pronunciada del espesor en las córneas porcinas *ex vivo*. Durante la etapa de instilación, la pendiente observada fue $m_{Th} = -2,78 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, y en la fase de postratamiento fue $m_{Th} = -9,39 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$, lo que sugiere que el efecto osmótico de la riboflavina con dextrano continúa activo tras la irradiación antes de que el espesor se estabilice.

La comparación general del cambio de espesor entre los tres protocolos (figura 5.8) muestra que todas las curvas presentan una tendencia decreciente con tres etapas bien definidas: (1) la etapa de instilación de riboflavina con dextrano, caracterizada por una reducción inicial suave asociada al efecto osmótico del dextrano; (2) la etapa de instilación e irradiación UV-A, donde la activación del fotosensibilizador produce una pérdida de espesor más pronunciada, dependiente de la potencia de irradiancia; y (3) la etapa de postratamiento, donde el espesor comienza a estabilizarse en los tres protocolos.

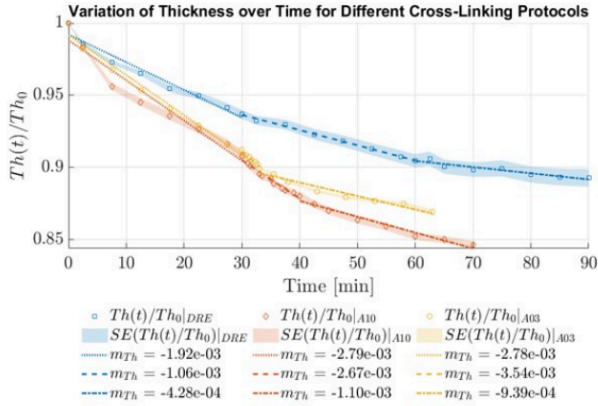


FIGURA 5.8 Comparación del cambio temporal del espesor corneal normalizado $\frac{Th(t)}{Th_0}$ para los protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). $Th(t)$ corresponde a las mediciones de espesor corneal a lo largo del tiempo obtenidas de las imágenes estructurales de OCT. Th_0 es el espesor inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{Th} : pendiente (min^{-1}).

5.3.2. Cambios de la velocidad de propagación de onda

La figura 5.12 muestra el cambio temporal de la velocidad de propagación de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ para los tres protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). En todos los casos se observa un aumento progresivo de la velocidad a medida que avanza el tiempo de tratamiento, lo que refleja un incremento en la rigidez corneal asociado a la formación de enlaces covalentes entre las fibrillas de colágeno del estroma corneal.

En el protocolo Dresden (figura 5.9), la velocidad aumentó desde $\frac{c_L}{c_{L,0}} \approx 1,0$ hasta aproximadamente 1.25 al final del tratamiento (90 min). Este cambio corresponde a una respuesta biomecánica estable, con una pendiente durante la etapa de irradiación UV-A de $m_{c_L} = 7,24 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, atribuida a la irradiancia de 3 mW/cm^2 aplicada durante 30 min. Durante la etapa de instilación, la pendiente fue $m_{c_L} = 1,59 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, mientras que en la fase de postratamiento el incremento de la velocidad comenzó a estabilizarse con $m_{c_L} = 1,87 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$.

En el protocolo Acelerado de 10 min (figura 5.10), el incremento de la velocidad normalizada $\frac{c_L}{c_{L,0}}$ fue más pronunciado durante la fase de irradiación, con una pendiente de $m_{c_L} = 1,11 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$. Esto refleja una respuesta mecánica más rápida debido a la irradiancia tres veces superior (9 mW/cm^2) aplicada durante un tiempo de exposición menor (10 min), manteniendo la misma fluencia total de energía (5.4 J/cm^2) que el protocolo Dresden. En la etapa de instilación de riboflavina, la pendiente fue $m_{c_L} = 2,74 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, y en la fase de postratamiento el aumento de velocidad co-

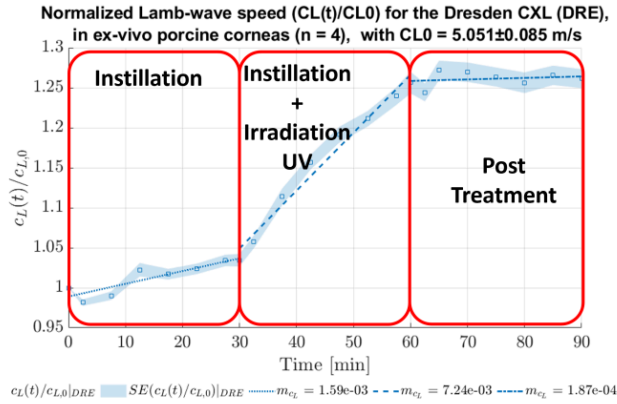


FIGURA 5.9 Cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ durante el tratamiento de CXL Dresden (DRE). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ representa la velocidad de propagación inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}).

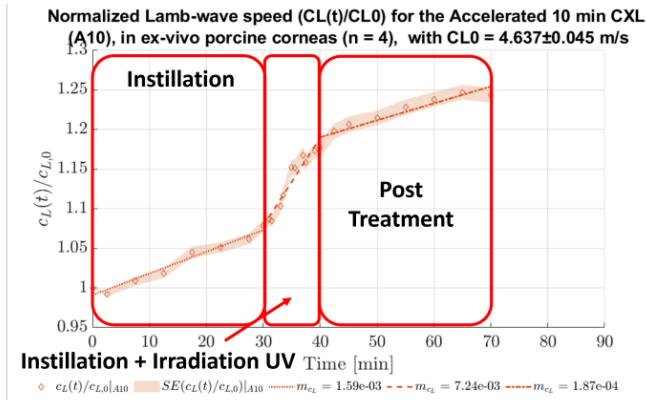


FIGURA 5.10 Cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 10 minutos (A10). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ representa la velocidad inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}).

menzó a estabilizarse con $m_{c_L} = 2,14 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$.

El protocolo Acelerado de 3 min (figura 5.11) mostró un incremento más rápido

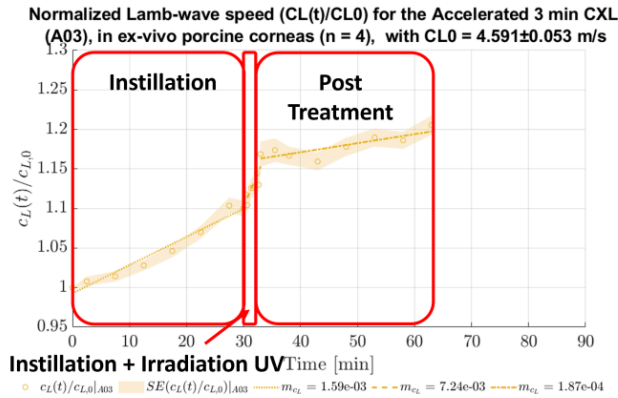


FIGURA 5.11 Cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ durante el tratamiento de CXL acelerado de 3 minutos (A03). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ representa la velocidad inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}).

en la velocidad normalizada $\frac{c_L}{c_{L,0}}$ durante los primeros 40 min, seguido de una etapa de estabilización. Durante la etapa combinada de instilación e irradiación UV-A, la pendiente fue $m_{c_L} = 1,73 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, indicando un cambio más abrupto de velocidad asociado a la alta irradiancia (30 mW/cm^2) y corto tiempo de exposición (3 min). En la etapa de instilación, la pendiente fue $m_{c_L} = 3,57 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, y en la fase de postratamiento se observó una tendencia de estabilización con $m_{c_L} = 1,14 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$.

La comparación entre los tres protocolos (figura 5.12) confirma que todos muestran un incremento progresivo de la velocidad de propagación de onda, lo cual indica un aumento en la rigidez del tejido corneal. El protocolo Dresden presenta una evolución más sostenida y gradual durante el tratamiento y el postratamiento, mientras que los protocolos acelerados (A10 y A03) evidencian respuestas más rápidas, con pendientes mayores durante las etapas de instilación e irradiación, directamente relacionadas con la mayor potencia de irradiancia UV-A aplicada.

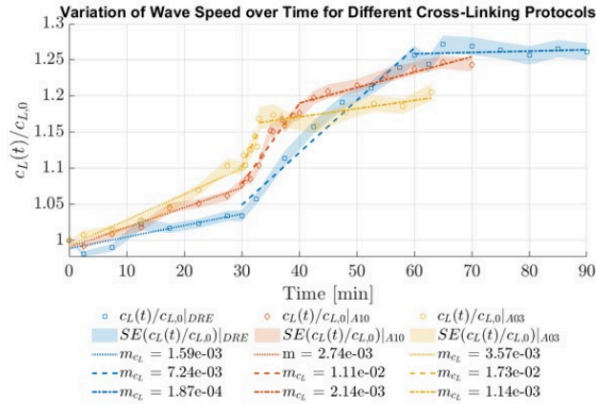


FIGURA 5.12 Comparación del cambio temporal de la velocidad de onda normalizada $\frac{c_L(t)}{c_{L,0}}$ para los tres protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). $c_L(t)$ corresponde a las mediciones de velocidad de propagación de la onda Lamb a lo largo del tiempo. $c_{L,0}$ es la velocidad inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_{c_L} : pendiente (min^{-1}).

5.3.3. Cambios temporales en la rigidez corneal

La figura 5.16 muestra la evolución temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante los tratamientos de CXL en córneas porcinas *ex vivo* para los tres protocolos evaluados: Dresden (DRE), Acelerado de 10 min (A10) y Acelerado de 3 min (A03). En todos los casos se observa un aumento progresivo de G a medida que transcurre el tiempo, lo que evidencia un incremento de la rigidez del tejido corneal asociado a la formación de enlaces covalentes entre las fibrillas de colágeno durante la etapa de irradiación UV-A.

En el protocolo Dresden (figura 5.13), G aumenta desde $\frac{G}{G_0} \approx 1,0$ hasta valores cercanos a 2.4 al finalizar el experimento (90 min). Este incremento refleja un endurecimiento progresivo asociado a la irradiación de 3 mW/cm² aplicada durante 30 min, lo que favorece una absorción más profunda de la riboflavina en el estroma. La pendiente durante la instilación de riboflavina fue $m_G = 7,19 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ (30 min). En la etapa de instilación + irradiación UV-A se observó un cambio mayor ($m_G = 3,66 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$). En el postratamiento (30 min), sin gotas ni UV-A, la variación tendió a estabilizarse ($m_G = 2,65 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$).

En el protocolo Acelerado de 10 min (figura 5.14), el incremento de $\frac{G}{G_0}$ fue más rápido durante la irradiación, con $m_G = 5,05 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, alcanzando en el total del experimento valores cercanos a 2.0. Este comportamiento se atribuye a la mayor irradiación (9 mW/cm²) aplicada en menor tiempo (10 min), manteniendo la misma fluencia total (5.4 J/cm²) que DRE. Durante la instilación la pendiente fue $m_G = 1,10 \times$

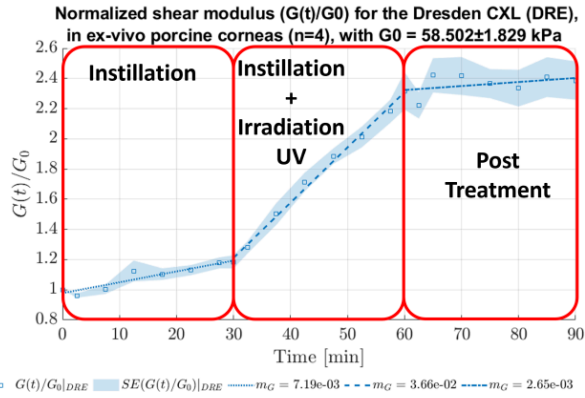


FIGURA 5.13 Cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante el protocolo de CXL Dresden (DRE). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}).

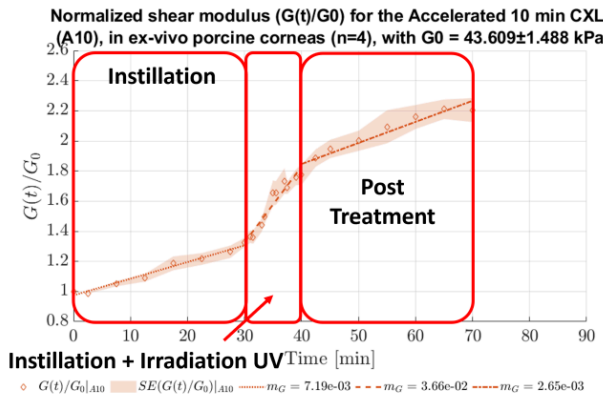


FIGURA 5.14 Cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante el protocolo de CXL acelerado de 10 minutos (A10). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}).

10^{-2} min^{-1} y, en el postratamiento, $m_G = 1,40 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, indicando que el efecto de la reticulación persiste antes de estabilizarse.

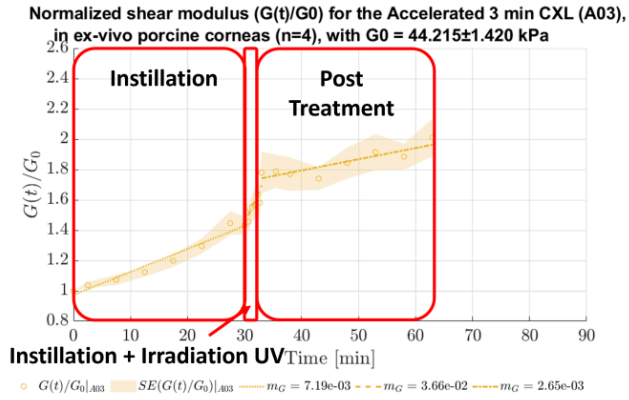


FIGURA 5.15 Cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ durante el protocolo de CXL acelerado de 3 minutos (A03). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}).

En el protocolo Acelerado de 3 min (figura 5.15), la variación de $\frac{G}{G_0}$ mostró la respuesta más rápida durante la etapa de instilación + irradiación UV-A, con la pendiente más alta entre los protocolos: $m_G = 8,63 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$. Esto sugiere un incremento inicial más abrupto, probablemente concentrado en capas más superficiales del estroma debido a la alta irradiancia (30 mW/cm^2) y el corto tiempo de exposición (3 min). En instilación se observó $m_G = 1,51 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ y en postratamiento $m_G = 7,38 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, consistente con una tendencia a la estabilización.

En conjunto (figura 5.16), los tres protocolos incrementan la rigidez corneal, con diferencias en la cinética del cambio: DRE presenta el mayor aumento acumulado de G y una evolución sostenida; A10 y A03 exhiben pendientes más altas durante la irradiación (respuesta más rápida), pero con efectos posiblemente más superficiales que limitan la variación global respecto a DRE.

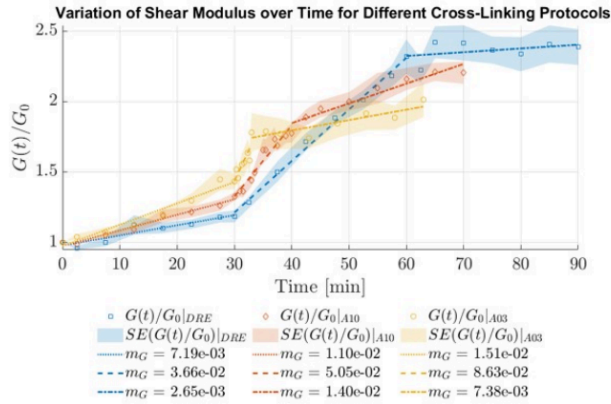


FIGURA 5.16 Comparación del cambio temporal del módulo de corte normalizado $\frac{G(t)}{G_0}$ para los protocolos de CXL evaluados: Dresden (DRE), Acelerado 10 min (A10) y Acelerado 3 min (A03). $G(t)$ corresponde a las mediciones del módulo de corte a lo largo del tiempo. G_0 es el módulo de corte inicial ($t = 0$). SE : error estándar. m_G : pendiente (min^{-1}).

5.4. Discusión y conclusiones

El análisis de la variación temporal del $G(t)$ permite evidenciar los cambios biomecánicos generados por los tres protocolos de CXL evaluados en córneas porcinas *ex vivo* (tabla 5.2). Durante la etapa de instilación más irradiación, el protocolo Dresden produjo el mayor incremento del módulo de corte con $\Delta G_{UV} = 95,64 \pm 11,02\%$ ($p < 0,001$), seguido de los protocolos acelerados A10 con $33,93 \pm 5,47\%$ y A03 con $24,30 \pm 7,02\%$. Estos resultados confirman que el tiempo de exposición a la luz UV-A es un factor crítico para la eficacia del entrecruzamiento del colágeno en el estroma corneal. Una mayor irradiancia no necesariamente se traduce en un aumento proporcional de la rigidez, lo que indica que el proceso fotodinámico subyacente al CXL no es lineal con la dosis de energía aplicada [46-48].

La pendiente temporal del módulo de corte (m_G) durante la irradiación muestra un comportamiento inverso ($p < 0,05$), siendo significativamente mayor en el protocolo A03 ($86,35 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$), seguida por A10 ($50,50 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) y DRE ($36,61 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$). Esto indica que, aunque los protocolos acelerados inducen un aumento más rápido de rigidez, su duración limitada de irradiación impide alcanzar el mismo nivel total de entrecruzamiento que el protocolo estándar, en concordancia con lo reportado en estudios *ex vivo* y clínicos previos [49-52].

De acuerdo con lo reportado por Seiler et al. [47] y Raiskup et al. [46], la pérdida de eficacia en los protocolos acelerados se explica por limitaciones fisicoquímicas en el proceso de CXL. La ley de reciprocidad de Bunsen-Roscoe, que asume que la dosis total de energía determina el efecto fotodinámico, no se cumple linealmente en la córnea. A irradiancias altas, el consumo de oxígeno en el estroma excede su tasa de difusión, reduciendo la concentración disponible y afectando la generación de especies reactivas

15
TABLA 5.2 Comparación de los resultados de los protocolos de CXL, mostrando sus respectivas características: irradiancia UV-A, energía total, módulo de corte inicial G_0 , incremento de G durante la irradiación UV, pendiente m_G durante la irradiación, y espesor corneal promedio Th_0 .

| Característica | DRE | A10 | A03 |
|--|----------------|---------------|----------------|
| Irradiancia (mW/cm ²) | 3 | 9 | 30 |
| Duración UV (min) | 30 | 10 | 3 |
| Energía total (J/cm ²) | 5.4 | 5.4 | 5.4 |
| G_0 (kPa) | 58.50 ± 1.83 | 43.61 ± 1.49 | 44.22 ± 1.42 |
| ΔG durante UV (%) | 95.64 ± 11.02 | 33.93 ± 5.47 | 24.30 ± 7.02 |
| m_G en UV ($\times 10^{-3}$ min ⁻¹) | 36.61 | 50.50 | 86.35 |
| ΔG total (%) | 138.61 ± 12.67 | 120.49 ± 7.93 | 101.30 ± 12.33 |
| Th_0 (μ m) | 922.7 ± 10.02 | 1044.9 ± 4.44 | 989.1 ± 1.49 |
| ΔTh total (%) | -10,73 ± 0,61 | -15,34 ± 0,25 | -13,09 ± 0,15 |

necesarias para la formación de enlaces covalentes entre las fibrillas de colágeno. Como resultado, los protocolos acelerados producen una reticulación menos profunda y menos eficiente, a pesar de mantener la misma fluencia total (5,4 J/cm²).

Además, el menor tiempo de irradiación limita la difusión efectiva de riboflavina hacia capas más profundas del estroma, concentrando la rigidez en la zona anterior. Este comportamiento también ha sido observado mediante elastografía óptica y microscopía Brillouin [22, 23, 27, 48], confirmando que los protocolos acelerados logran incrementos rápidos pero de menor uniformidad y profundidad biomecánica.

Asimismo, se observaron diferencias significativas en m_G entre las etapas experimentales ($p < 0,01$). Los protocolos acelerados (A10 y A03) mostraron respuestas más abruptas y superficiales entre la etapa de irradiación y la de estabilización, mientras que el protocolo Dresden evidenció una respuesta sostenida y homogénea, reflejando un entrecruzamiento más profundo y estable del estroma.

El análisis global muestra que el incremento total del módulo de corte fue mayor en DRE ($\Delta G_{\text{total}} = 138,61 \pm 12,67\%$), seguido por A10 ($120,49 \pm 7,93\%$) y A03 ($101,30 \pm 12,33\%$). Aunque todos los protocolos aplicaron la misma fluencia total de energía (5,4 J/cm²), estos resultados reafirman que la eficacia biomecánica depende no sólo de la energía total, sino también de la cinética de los procesos fotoquímicos y de la disponibilidad de oxígeno durante la irradiación [23, 46, 48].

Paralelamente, se observó una reducción del espesor corneal durante los tratamientos, atribuida a la deshidratación inducida por la solución de riboflavina con dextrano. Las reducciones fueron más notorias en los protocolos acelerados: A10 ($-15,34 \pm 0,25\%$) y A03 ($-13,09 \pm 0,15\%$), frente a DRE ($-10,73 \pm 0,61\%$), concordante con observaciones de estudios previos sobre el efecto osmótico del dextrano [53, 54].

En conclusión, todos los protocolos de CXL produjeron un aumento significativo de la rigidez corneal, pero los tratamientos acelerados no alcanzan la eficacia biomecánica del protocolo Dresden. Este fenómeno se debe principalmente a la limitación cinética del consumo de oxígeno y a la menor profundidad de absorción de riboflavina bajo alta irradiancia y corto tiempo. Para lograr resultados equivalentes, los protocolos acelerados requerirían una dosis de energía superior a 5,4 J/cm² o estrategias de irradiación optimizadas, como la modulación temporal o espacial del haz UV-A, que

mejoren la difusión y oxigenación del tejido corneal [23, 46, 47].

Capítulo 6

Conclusiones y Recomendaciones

6.1. Conclusiones generales

El presente trabajo de tesis describe la implementación de un sistema de OCE para el estudio de la biomecánica de los tejidos en condiciones fisiológicas similares a las de una córnea humana real. Los resultados obtenidos en los diferentes experimentos muestran que el sistema OCE, basado en el método de ondas guiadas de Lamb generadas mediante un módulo de excitación mecánica (ACUS), permite realizar mediciones de forma no invasiva y sin contacto. Este método facilita el registro de las propiedades biomecánicas y ofrece una alta velocidad de adquisición, lo que permite monitorear los cambios biomecánicos inducidos por tratamientos clínicos como el CXL.

El modelo mRLFE aplicado al análisis biomecánico permite estimar el módulo de corte G a partir de los datos de dispersión de las ondas de Lamb, el espesor corneal y la frecuencia de excitación aplicada con el ACUS. De esta manera, es posible realizar una evaluación detallada de la biomecánica del tejido. El sistema OCE permite obtener los parámetros biomecánicos de la córnea asumiendo que ésta se comporta como una placa delgada, isotrópica y homogénea, con aire en su superficie superior y fluido en la inferior, como se muestra en las figuras 4.10 y ??.

Los diferentes protocolos de tratamiento CXL, mostrados en la tabla 5.2, evidencian que estos pueden generar un incremento en la rigidez corneal (G). Los protocolos acelerados A10 y A03 presentan mayores tasas de reacción, con valores de $86,35 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ para A03, $50,50 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ para A10 y $36,61 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ para el protocolo Dresden (DRE). Sin embargo, los resultados muestran que el protocolo DRE generó la mayor variación en la rigidez corneal ($95,64 \pm 11,02 \%$), seguido por A10 ($33,93 \pm 5,47 \%$) y A03 ($24,30 \pm 7,02 \%$) durante la etapa de irradiación con luz UV.

Estos resultados indican que la relación entre la potencia de irradiancia y el tiempo de exposición en el tratamiento no es lineal. Por tanto, los protocolos acelerados podrían requerir una dosis total de energía UV superior a $5,4 \text{ J/cm}^2$ para alcanzar una efectividad comparable con la del protocolo estándar de Dresden.

De esta forma, los objetivos planteados en el trabajo de investigación se cumplieron en su totalidad, se implementó un sistema de tomografía de coherencia óptica con elastografía (OCE) de fuente de barrido de 1300 nm de longitud de onda y frecuencia de muestreo de 200 kHz, con un transductor de ultrasonido acoplado al aire (ACUS) que permite generar ondas de excitación mecánica al tejido, de forma no invasiva y sin contacto, el sistema OCE es capaz de detectar y adquirir la información de la señal de interferencia y poder medir los parámetros biomecánicos de la muestra.

Se logro realizar la traslación clínica, realizando la traslación del sistema OCE de un formato experimental a un formato clínico, esto se realizo mediante la integración de una plataforma motorizada que permite el movimiento del sistema en XYZ (rango de recorrido de 100 mm por eje) en los rangos ideales para poder trasladarse y centrarse correctamente en la muestra, por ejemplo trasladarse del ojo derecho de una persona al ojo izquierdo sin necesidad que la persona se vuelva a posicionar en el sistema, se agrego tambien una mentonera y soporte frontal para estabilizar la cabeza de la persona, asi tambien se agrego un modulo para la fijación de la vista del paciente, sistema de Badal, compensando el estímulo de la vista según el error refractivo de la persona. Entonces, esta configuración de la traslación clínica asegura poder realizar mediciones repetibles, de forma comoda y segura para el paciente.

Se valido la capacidad del sistema OCE para estimar el G en diferentes condiciones controladas, mediante los experimentos con los maniquis de silicona en forma de cornea y con los modelos animales de córneas porcinas ex vivo, mostrando con los resultados que los parametros medidos como espesor, velocidad de propagación de onda Lamb y los valores estimados de G con el modelo mRLFSE son coherentes con las mediciones de los ensayos mecanicos y con los valores de la literatura.

Se demostró que el sistema OCE implementado permite medir y detectar los cambios biomecanicos inducidos por los diferentes tratamientos clinicos de los protocolos de CXL, comparando la variación durante el tratamiento de los parametros de espesor, velocidad y G , esto se realizo comparando los protocolos de CXL Dresden, Acelerado de 10 minutos y Acelerado de 3 minutos.

En conclusion, los resultados permiten mostrar que todos los objetivos propuestos en el trabajo de investigación se cumplen.

6.2. Recomendaciones de mejora

El sistema OCE implementado en este trabajo de tesis demostró una gran capacidad para realizar adquisiciones biomecánicas de manera eficiente y reproducible. Sin embargo, existen diversas áreas de posible mejora.

Una de ellas es la integración de modelos anisotrópicos y viscoelásticos en los estudios futuros, lo que permitiría un acercamiento más realista al comportamiento biomecánico de la córnea humana. En comparación con el modelo mRLFSE, que asume un comportamiento isotrópico del tejido, estos modelos avanzados podrían proporcionar estimaciones más precisas del módulo de corte G , considerando que la córnea presenta anisotropía en su estructura fibrosa.

Otra línea de mejora es el desarrollo de una interfaz gráfica para la configuración de los parámetros de adquisición en un formato clínico. Esto facilitaría una interacción más intuitiva y práctica para los usuarios en entornos médicos, permitiendo que profesionales de la salud, como oftalmólogos o técnicos, puedan configurar y operar el sistema OCE de manera rápida, segura y eficiente.

6.3. Trabajos futuros

Los trabajos futuros propuestos incluyen el estudio del comportamiento biomecánico de córneas humanas *in vivo*, con el objetivo de realizar la detección temprana de enfermedades como el queratocono. Con el sistema OCE propuesto es posible estudiar

parámetros biomecánicos como la velocidad de propagación de onda, el espesor corneal y la rigidez, a frecuencias más específicas. Por ejemplo, para estudios en córneas humanas se propone una frecuencia de excitación de 3500 Hz.

Teniendo en cuenta los parámetros de adquisición —A-lines, B-frames, No.Sync y Clusters (número de meridianos)— mostrados en la figura 3.14, el sistema se configuró de la siguiente forma:

$$A\text{-lines} = 250 \rightarrow T_M = (250)(5 \mu s) = 1,25 \text{ ms}$$

$$N_o \text{ Sync} = 50$$

$$B\text{-frames} = 100$$

$$\text{Clusters (\# meridianos)} = 8$$

Entonces, el tiempo total de adquisición se obtiene como:

$$Time_{Tot} = [(A\text{-lines} + N_o \text{ Sync}) 5 \mu s] \cdot B\text{-frames} \cdot \# \text{ meridianos}$$

$$Time_{Tot} = 1,2 \text{ s}$$

De esta manera, el tiempo de adquisición es de 1,2 segundos, lo cual mejora la precisión en las mediciones y permite evaluar el comportamiento biomecánico en menor tiempo. Esto haría el procedimiento más confortable para el paciente y reduciría artefactos que afectan las adquisiciones, como el parpadeo o las vibraciones causadas por la respiración.

A modo de ejemplo, se presentan dos adquisiciones realizadas en córneas humanas *in vivo*, mostradas en las figuras 6.1 y 6.2. La figura 6.1 corresponde a un ojo sano, mientras que la figura 6.2 muestra un ojo afectado por queratocono.

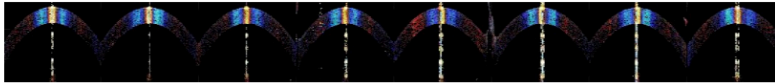


FIGURA 6.1 Propagación de la velocidad de fase en una córnea humana *in vivo* sin queratocono, excitada con el ACUS a 3500 Hz. El promedio de velocidad es de 11.39 m/s con una desviación estándar de 0.443 m/s.

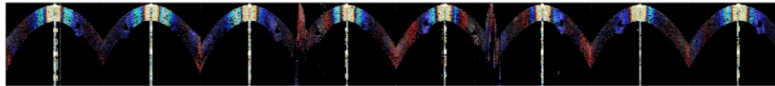


FIGURA 6.2 Propagación de la velocidad de fase en una córnea humana *in vivo* con queratocono, excitada con el ACUS a 3500 Hz. El promedio de velocidad es de 9.27 m/s con una desviación estándar de 1.245 m/s.

La comparación entre córneas sanas y aquellas afectadas por queratocono se presenta en la figura 6.3. En la figura 6.3(a) se muestra el mapa polar de la velocidad

61
por meridianos de un ojo sano, mientras que en la figura 6.3(b) se observa el mapa polar correspondiente a un ojo con queratocono. En esta última se aprecia una disminución de la velocidad de las ondas Lamb, lo cual refleja la pérdida de rigidez del tejido corneal.

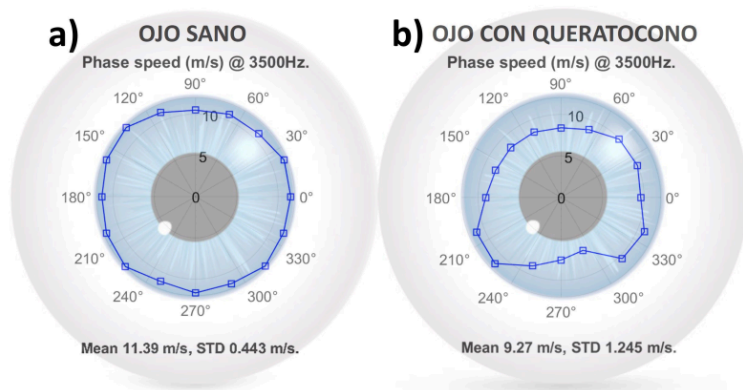


FIGURA 6.3 Velocidad de fase en córneas humanas *in vivo*. Las imágenes muestran el comportamiento de la velocidad por meridianos, evidenciando la diferencia de propagación en (a) ojo sano y (b) ojo con queratocono.

Este estudio preliminar en córneas humanas *in vivo* demuestra que el sistema OCE puede distinguir variaciones en la propagación de onda asociadas a cambios en la rigidez del tejido. Estos resultados son relevantes para el diagnóstico temprano del queratocono y podrían contribuir al desarrollo de tratamientos que permitan intervenir antes de que la enfermedad alcance estadios avanzados.

Referencias

1. Ruberti, J. W., Roy, A. S. y Roberts, C. J. Corneal biomechanics and biomaterials. *Annual Review of Biomedical Engineering* **13**, 269-295. ISSN: 15239829. [10.1146/annurev-bioeng-070909-105243](https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-070909-105243) (ago. de 2011).
2. Chong, J. y Dupps, W. J. Corneal biomechanics: Measurement and structural correlations. *Experimental Eye Research* **205**. ISSN: 10960007. [10.1016/j.exer.2021.108508](https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108508) (abr. de 2021).
3. Almirón, R., Antonio, V. y Cirujano, M. *Prevalencia y factores asociados al queratocono en pacientes atendidos en el hospital regional Honorio Delgado, Arequipa, 2014 - 2017*. inf. téc. (Universidad Católica de Santa María Facultad de Medicina Humana, 2018).
4. Belin, M. W., Meyer, J. J., Duncan, J. K., Gelman, R. y Borgstrom, M. Assessing Progression of Keratoconus and Cross-linking Efficacy: The Belin ABCD Progression Display. *International Journal of Keratoconus and Ectatic Corneal Diseases* **6**, 1-10. ISSN: 2277-3800. [10.5005/jp-journals-10025-1135](https://doi.org/10.5005/jp-journals-10025-1135) (1 jun. de 2017).
5. Randleman, J. B., Khandelwal, S. S. y Hafezi, F. *Corneal cross-linking* 2015. [10.1016/j.survophthal.2015.04.002](https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2015.04.002).
6. Hayes, S., Morgan, S. R. y Meek, K. M. *Keratoconus: cross-linking the window of the eye* ene. de 2021. [10.1177/26330040211003573](https://doi.org/10.1177/26330040211003573).
7. Vinciguerra, R. *et al.* Detection of keratoconus with a new biomechanical index. *Journal of Refractive Surgery* **32**, 803-810. ISSN: 19382391. [10.3928/1081597X-20160629-01](https://doi.org/10.3928/1081597X-20160629-01) (12 dic. de 2016).
8. Freitas, G. D. O. *et al.* Astigmatic Vector Analysis of Posterior Corneal Surface: A Comparison among Healthy, Forme Fruste, and Overt Keratoconic Corneas. *American Journal of Ophthalmology* **167**, 65-71. ISSN: 18791891. [10.1016/j.ajo.2016.04.008](https://doi.org/10.1016/j.ajo.2016.04.008) (jul. de 2016).
9. Wu, D. *et al.* *Corneal Cross-Linking: The Evolution of Treatment for Corneal Diseases* jul. de 2021. [10.3389/fphar.2021.686630](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.686630).
10. Santhiago, M. R. *Corneal crosslinking: The standard protocol* 2017. [10.5935/0034-7280.20170010](https://doi.org/10.5935/0034-7280.20170010).
11. Mazzotta, C. *et al.* *In Vivo Confocal Microscopy after Corneal Collagen Crosslinking* inf. téc. (2015). www.theocularsurface.com.
12. Dervenis, N. *et al.* Accelerated, Pulsed Collagen Cross-Linking versus the Dresden Protocol in Keratoconus: A Case Series. *Medical Principles and Practice* **29**, 332-337. ISSN: 14230151. [10.1159/000505598](https://doi.org/10.1159/000505598) (4 jul. de 2020).

-
13. Zvietcovich, F. y Larin, K. V. *Wave-based optical coherence elastography: The 10-year perspective* ene. de 2022. [10.1088/2516-1091/ac4512](https://doi.org/10.1088/2516-1091/ac4512).
 14. Parker, K. J., Doyley, M. M. y Rubens, D. J. *Imaging the elastic properties of tissue: The 20 year perspective* ene. de 2011. [10.1088/0031-9155/56/2/513](https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/2/513).
 15. Schmitt, J. M. *OCT elastography: imaging microscopic deformation and strain of tissue* inf. téc. (1998). [10.1364/OA_License_v1#V0R](https://doi.org/10.1364/OA_License_v1#V0R).
 16. Wang, S. y Larin, K. V. *Optical coherence elastography for tissue characterization: A review* abr. de 2015. [10.1002/jbio.201400108](https://doi.org/10.1002/jbio.201400108).
 17. Larin, K. V. y Sampson, D. D. Optical coherence elastography – OCT at work in tissue biomechanics [Invited]. *Biomedical Optics Express* **8**, 1172. ISSN: 2156-7085. [10.1364/boe.8.001172](https://doi.org/10.1364/boe.8.001172) (2 feb. de 2017).
 18. Kennedy, B. F., Kennedy, K. M. y Sampson, D. D. *A review of optical coherence elastography: Fundamentals, techniques and prospects* mar. de 2014. [10.1109/JSTQE.2013.2291445](https://doi.org/10.1109/JSTQE.2013.2291445).
 19. Kennedy, B. F. *et al.* Optical coherence micro-elastography: mechanical-contrast imaging of tissue microstructure. *Biomedical Optics Express* **5**, 2113. ISSN: 2156-7085. [10.1364/boe.5.002113](https://doi.org/10.1364/boe.5.002113) (7 jul. de 2014).
 20. Twa, M. D. *et al.* Spatial characterization of corneal biomechanical properties with optical coherence elastography after UV cross-linking. *Biomedical Optics Express* **5**, 1419. ISSN: 2156-7085. [10.1364/boe.5.001419](https://doi.org/10.1364/boe.5.001419) (5 mayo de 2014).
 21. Singh, M. *et al.* Evaluating the effects of riboflavin/UV-a and rose-bengal/green light cross-linking of the rabbit cornea by noncontact optical coherence elastography. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **57**, OCT112-OCT120. ISSN: 15525783. [10.1167/iovs.15-18888](https://doi.org/10.1167/iovs.15-18888) (9 jul. de 2016).
 22. Kirby, M. A. *et al.* Acoustic Micro-Tapping Optical Coherence Elastography to Quantify Corneal Collagen Cross-Linking: An Ex Vivo Human Study. *Ophthalmology Science* **3**. ISSN: 26669145. [10.1016/j.xops.2022.100257](https://doi.org/10.1016/j.xops.2022.100257) (2 jun. de 2023).
 23. Zvietcovich, F. *et al.* In vivo assessment of corneal biomechanics under a localized cross-linking treatment using confocal air-coupled optical coherence elastography. *Biomedical Optics Express* **13**, 2644. ISSN: 2156-7085. [10.1364/BOE.456186](https://doi.org/10.1364/BOE.456186). <https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=boe-13-5-2644> (5 mayo de 2022).
 24. Frigelli, M., Büchler, P. y Kling, S. Dynamic evaluation of corneal cross-linking and osmotic diffusion effects using optical coherence elastography. *Scientific Reports* **14**. ISSN: 20452322. [10.1038/s41598-024-67278-1](https://doi.org/10.1038/s41598-024-67278-1) (1 dic. de 2024).
 25. Hashemi, H. *et al.* Two-year changes in corneal stiffness parameters after accelerated corneal cross-linking. *Journal of Biomechanics* **93**, 209-212. ISSN: 18732380. [10.1016/j.jbiomech.2019.06.011](https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2019.06.011) (ago. de 2019).
 26. Pitre, J. J. *et al.* Nearly-incompressible transverse isotropy (NITI) of cornea elasticity: model and experiments with acoustic micro-tapping OCE. *Scientific Reports* **10**. ISSN: 20452322. [10.1038/s41598-020-69909-9](https://doi.org/10.1038/s41598-020-69909-9) (1 dic. de 2020).

-
27. Han, Z. *et al.* Optical coherence elastography assessment of corneal viscoelasticity with a modified Rayleigh-Lamb wave model. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **66**, 87-94. ISSN: 18780180. [10.1016/j.jmbbm.2016.11.004](https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.11.004) (feb. de 2017).
 28. Zvietcovich, F., Rolland, J. P., Yao, J., Meemon, P. y Parker, K. J. Comparative study of shear wave-based elastography techniques in optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics* **22**, 035010. ISSN: 1083-3668. [10.1117/1.jbo.22.3.035010](https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.3.035010) (3 mar. de 2017).
 29. Zvietcovich, F. *et al.* Longitudinal shear waves for elastic characterization of tissues in optical coherence elastography. *Biomedical Optics Express* **10**, 3699. ISSN: 2156-7085. [10.1364/boe.10.003699](https://doi.org/10.1364/boe.10.003699) (7 jul. de 2019).
 30. Kirby, M. A. *et al.* Spatial resolution in dynamic optical coherence elastography. *Journal of Biomedical Optics* **24**, 1. ISSN: 15602281. [10.1117/1.jbo.24.9.096006](https://doi.org/10.1117/1.jbo.24.9.096006) (09 sep. de 2019).
 31. Singh, M., Zvietcovich, F. y Larin, K. V. Introduction to optical coherence elastography: tutorial. *Journal of the Optical Society of America A* **39**, 418. ISSN: 1084-7529. [10.1364/josaa.444808](https://doi.org/10.1364/josaa.444808) (3 mar. de 2022).
 32. Kirby, M. A. *et al.* Delineating Corneal Elastic Anisotropy in a Porcine Model Using Noncontact OCT Elastography and Ex Vivo Mechanical Tests. *Ophthalmology Science* **1**. ISSN: 26669145. [10.1016/j.xops.2021.100058](https://doi.org/10.1016/j.xops.2021.100058) (4 dic. de 2021).
 33. Sun, M. G. *et al.* Optical coherence elastography for assessing the influence of intraocular pressure on elastic wave dispersion in the cornea. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **128**. ISSN: 18780180. [10.1016/j.jmbbm.2022.105100](https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2022.105100) (abr. de 2022).
 34. Ramier, A. *et al.* In vivo measurement of shear modulus of the human cornea using optical coherence elastography. *Scientific Reports* **10**. ISSN: 20452322. [10.1038/s41598-020-74383-4](https://doi.org/10.1038/s41598-020-74383-4) (1 dic. de 2020).
 35. Lan, G., Gu, B., Larin, K. V. y Twa, M. D. Clinical corneal optical coherence elastography measurement precision: Effect of heartbeat and respiration. *Translational Vision Science and Technology* **9**. ISSN: 21642591. [10.1167/tvst.9.5.3](https://doi.org/10.1167/tvst.9.5.3) (5 abr. de 2020).
 36. Zvietcovich, F. *et al.* Confocal air-coupled ultrasonic optical coherence elastography probe for quantitative biomechanics. *Optics Letters* **45**, 6567. ISSN: 0146-9592. [10.1364/ol.410593](https://doi.org/10.1364/ol.410593) (23 dic. de 2020).
 37. Karnowski, K., Alonso-Caneiro, D., Kaluzny, B., Kowalczyk, A. y Wojtkowski, M. *Swept source OCT with air puff chamber for corneal dynamics measurements en Ophthalmic Technologies XXII* **8209** (SPIE, mar. de 2012), 82090R. ISBN: 9780819488527. [10.1117/12.908848](https://doi.org/10.1117/12.908848).
 38. Curatolo, A. *et al.* Multi-meridian corneal imaging of air-puff induced deformation for improved detection of biomechanical abnormalities. *Biomedical Optics Express* **11**, 6337. ISSN: 2156-7085. [10.1364/boe.402402](https://doi.org/10.1364/boe.402402) (11 nov. de 2020).

-
39. Food, Administration, D., for Devices, C. y Health, R. *Marketing Clearance of Diagnostic Ultrasound Systems and Transducers Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff This document supersedes Information for Manufacturers Seeking Marketing Clearance of Diagnostic Ultrasound Systems and Transducers* dated Preface Public Comment inf. téc. (U.S. Department of Health y Human Services, 2008). <https://www.regulations.gov..>
 40. Nair, A. *et al.* Optical coherence elastography measures the biomechanical properties of the ex vivo porcine cornea after LASIK. *Journal of Biomedical Optics* **29**. ISSN: 15602281. [10.1117/1.jbo.29.1.016002](https://doi.org/10.1117/1.jbo.29.1.016002) (01 ene. de 2024).
 41. Drexler, W. y Fujimoto, J. G. *Optical Coherence Tomography* inf. téc. (2015).
 42. Gohari. Focusing of ultrasound beams (1997).
 43. Saavedra, A. C. *et al.* Viscoelastic Characterization of in vivo Human Dermis Using High-Frequency Ultrasonic Crawling Wave Elastography. *IEEE Access* **10**, 40571-40578. ISSN: 21693536. [10.1109/ACCESS.2022.3166514](https://doi.org/10.1109/ACCESS.2022.3166514) (2022).
 44. Catheline, S. y Bencech, N. Longitudinal shear wave and transverse dilatational wave in solids. *The Journal of the Acoustical Society of America* **137**, EL200-EL205. ISSN: 0001-4966. [10.1121/1.4907742](https://doi.org/10.1121/1.4907742) (2 feb. de 2015).
 45. Rivera, R. A. V. *Design, implementation and characterization of an Optical Coherent Tomography system based on a swept infrared laser source for the structural and biomechanical measurement of ocular and skin tissues.* inf. téc. (Pontificia Universidad Católica del Perú, 2025).
 46. Raiskup, F., Herber, R., Lenk, J., Pillunat, L. E. y Spoerl, E. Crosslinking with UV-A and riboflavin in progressive keratoconus: From laboratory to clinical practice – Developments over 25 years. *Progress in Retinal and Eye Research* **102**, 101276. [10.1016/j.preteyeres.2024.101276](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2024.101276) (2024).
 47. Seiler, T. G. *et al.* Oxygen kinetics during corneal cross-linking with and without supplementary oxygen. *American Journal of Ophthalmology* **223**, 368-376. [10.1016/j.ajo.2020.10.012](https://doi.org/10.1016/j.ajo.2020.10.012) (2021).
 48. Blackburn, B. J., Rollins, A. M. y Dupps, W. J. Biomechanics of ophthalmic cross-linking. *Translational Vision Science and Technology* **10**, 8. [10.1167/tvst.10.2.8](https://doi.org/10.1167/tvst.10.2.8) (2021).
 49. Webb, J. N., Su, J. P. y Scarcelli, G. Mechanical outcome of accelerated corneal crosslinking evaluated by Brillouin microscopy. *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **43**, 1458-1463. [10.1016/j.jcrs.2017.08.008](https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2017.08.008) (2017).
 50. Bao, F. *et al.* Changes in corneal biomechanical properties with different corneal cross-linking irradiances. *Journal of Refractive Surgery* **34**, 51-58. [10.3928/1081597X-20171024-01](https://doi.org/10.3928/1081597X-20171024-01) (2018).
 51. Sherif, A. M. Accelerated versus conventional corneal collagen cross-linking in the treatment of mild keratoconus: a comparative study. *Clinical Ophthalmology* **8**, 1435-1440. [10.2147/OPHTH.S61805](https://doi.org/10.2147/OPHTH.S61805) (2014).
 52. Sadoughi, M. M. *et al.* Accelerated versus conventional corneal collagen cross-linking in patients with keratoconus: an inpatient comparative study. *International Ophthalmology* **38**, 67-74. [10.1007/s10792-016-0438-0](https://doi.org/10.1007/s10792-016-0438-0) (2018).

-
53. Singh, M. *et al.* Quantifying the effects of hydration on corneal stiffness with non-contact optical coherence elastography. *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **44**, 1023-1031. [10.1016/j.jcrs.2018.04.044](https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2018.04.044) (2018).
 54. Vantipalli, S. *et al.* Effects of thickness on corneal biomechanical properties using optical coherence elastography. *Optometry and Vision Science* **95**, 299-308. [10.1097/OPX.0000000000001205](https://doi.org/10.1097/OPX.0000000000001205) (2018).

Turnitin Cristian Bocanegra

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|----|--|------|
| 1 | hdl.handle.net Fuente de Internet | <1 % |
| 2 | www.coursehero.com Fuente de Internet | <1 % |
| 3 | dokumen.pub Fuente de Internet | <1 % |
| 4 | www.spiedigitallibrary.org Fuente de Internet | <1 % |
| 5 | documentop.com Fuente de Internet | <1 % |
| 6 | es.slideshare.net Fuente de Internet | <1 % |
| 7 | idus.us.es Fuente de Internet | <1 % |
| 8 | teses.usp.br Fuente de Internet | <1 % |
| 9 | conferencia.pucp.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 10 | qdoc.tips Fuente de Internet | <1 % |
| 11 | Submitted to Pontificia Universidad Catolica del Peru Trabajo del estudiante | <1 % |
| 12 | sedici.unlp.edu.ar Fuente de Internet | <1 % |

| | | |
|----|--|------|
| 13 | repositorio.uam.es Fuente de Internet | <1 % |
| 14 | www.slideshare.net Fuente de Internet | <1 % |
| 15 | dspace.umh.es Fuente de Internet | <1 % |
| 16 | somib.org.mx Fuente de Internet | <1 % |
| 17 | tesis.pucp.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 18 | desastres.cies.edu.ni Fuente de Internet | <1 % |
| 19 | riuma.uma.es Fuente de Internet | <1 % |
| 20 | uvadoc.uva.es Fuente de Internet | <1 % |
| 21 | docplayer.es Fuente de Internet | <1 % |
| 22 | patents.google.com Fuente de Internet | <1 % |
| 23 | www.biathlon-antholz.it Fuente de Internet | <1 % |
| 24 | www.ptolomeo.unam.mx:8080 Fuente de Internet | <1 % |
| 25 | repositorio.sociales.uba.ar Fuente de Internet | <1 % |
| 26 | vdocuments.com.br Fuente de Internet | <1 % |
| 27 | Torres, Ana Dacil Nolasco. "Emisiones e inmisiones de compuestos organicos volatiles" | <1 % |

(COVs) en Tenerife, Islas Canarias",
Universidad de La Laguna (Canary Islands,
Spain), 2022

Publicación

28 digibuo.uniovi.es <1 %
Fuente de Internet

29 Montoya Janampa, Alejandro Manuel.
"Aplicación de la Proyección de luz
Estructurada en la Reconstrucción
Tridimensional a Color de Objetos
Arqueológicos.", Pontificia Universidad
Catolica del Peru (Peru) <1 %
Publicación

30 docplayer.com.br <1 %
Fuente de Internet

31 repositorio.uap.edu.pe <1 %
Fuente de Internet

32 www.buenastareas.com <1 %
Fuente de Internet

33 Submitted to Universidad Catolica De Cuenca <1 %
Trabajo del estudiante

34 www.bdigital.unal.edu.co <1 %
Fuente de Internet

35 www.salud.com.mx <1 %
Fuente de Internet

36 Submitted to Escuela Politecnica Nacional <1 %
Trabajo del estudiante

37 Traub D'Amico, Fernando Jose Antonio. "Una
Metodologia Robusta Para Planificar Redes
De Transmision Electrica Bajo
Incertidumbre.", Pontificia Universidad
Catolica de Chile (Chile), 2021 <1 %
Publicación

| | | |
|----|--|------|
| 38 | research.chalmers.se Fuente de Internet | <1 % |
| 39 | Submitted to usach Trabajo del estudiante | <1 % |
| 40 | www.reactivos.com Fuente de Internet | <1 % |
| 41 | Bellido Flores, Ximena. "Las Nociones de Agencia, Bienestar y Libertad Desde la Propuesta de Amartya Sen.", Pontificia Universidad Catolica del Peru (Peru) Publicación | <1 % |
| 42 | Patricia Batista Grau. "Desarrollo de nanoestructuras de ZnO mediante anodizado electroquímico en diferentes condiciones para su aplicación en el área energética", Universitat Politecnica de Valencia, 2021 Publicación | <1 % |
| 43 | alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 44 | d.documentop.com Fuente de Internet | <1 % |
| 45 | filemon.mecanica.upm.es Fuente de Internet | <1 % |
| 46 | www.imt.mx Fuente de Internet | <1 % |
| 47 | Garcia, Tobias Felipe. "Ondas MHD en la Fotosfera y Cronmosfera de Manchas Solares", Universidad de La Laguna (Canary Islands, Spain), 2022 Publicación | <1 % |
| 48 | Julia Prinz, David Kuerten, Hannah Schellhase, Antonis Koutsonas, Yassin Djalali-Talab, Peter | <1 % |

Walter, Matthias Fuest. "Clinical, Anatomical, and Densitometric Changes following Dresden vs. Accelerated Corneal Cross-Linking in Progressive Keratoconus", *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 2024

Publicación

49 Pino Mendoza, Mario Ivan. "Factibilidad tecnica y economica de utilizar aislamiento sismico en hospitales peruanos existentes.", Pontificia Universidad Catolica del Peru - CENTRUM Catolica (Peru), 2020

Publicación

50 Saínchez-Sobrado, Olalla. "Optical Absorption and Emission of Nanomaterials Integrated in One Dimensional Photonic Crystals.", Universidade NOVA de Lisboa (Portugal), 2019

Publicación

51 Submitted to Universidad de Valladolid

Trabajo del estudiante

52 avefenixspain.blogspot.com

Fuente de Internet

53 digibug.ugr.es

Fuente de Internet

54 repository.unimilitar.edu.co

Fuente de Internet

55 webidu.idu.gov.co

Fuente de Internet

56 www.middleby.com

Fuente de Internet

57 www.neoness.fr

Fuente de Internet

58 www.science.gov

Fuente de Internet

59 Esteban Maestre, Ma Dolores. "Influence of heat treatment and natural antimicrobials in the viability of different microorganisms.", Proquest, 2014.

Publicación

<1 %

60 Gonzalez Hodar, Jaime. "Gestion De Flujo De Pacientes Criticos Mediante Una Politica Proactiva De Traslados", Pontificia Universidad Catolica de Chile (Chile), 2021

Publicación

<1 %

61 Gonzalez del Castillo, Beatriz. "Complejos De Rutenio Solubles En Agua Con Metil Adamantano Fosfina: Estudio De Sus Propiedades cataliticas", Universidad de La Laguna (Canary Islands, Spain), 2021

Publicación

<1 %

62 M.A. Hasnat, M.R. Karim, M. Machida. "Electrocatalytic ammonia synthesis: Role of cathode materials and reactor configuration", Catalysis Communications, 2009

Publicación

<1 %

63 Theo G. Seiler, Maria A. Komninou, Malavika H. Nambiar, Kaspar Schuerch, Beatrice E. Frueh, Philippe Büchler. "Oxygen Kinetics During Corneal Cross-linking With and Without Supplementary Oxygen", American Journal of Ophthalmology, 2021

Publicación

<1 %

64 acin.org
Fuente de Internet

<1 %

65 agris.fao.org
Fuente de Internet

<1 %

66 de.slideshare.net
Fuente de Internet

<1 %

| | | |
|----|---|------|
| 67 | docshare.tips Fuente de Internet | <1 % |
| 68 | doku.pub Fuente de Internet | <1 % |
| 69 | e-archivo.uc3m.es Fuente de Internet | <1 % |
| 70 | eprints.ucm.es Fuente de Internet | <1 % |
| 71 | fr.scribd.com Fuente de Internet | <1 % |
| 72 | repositorio.uta.edu.ec Fuente de Internet | <1 % |
| 73 | termitid3.rssing.com Fuente de Internet | <1 % |
| 74 | us.arva-equipment.com Fuente de Internet | <1 % |
| 75 | view.genial.ly Fuente de Internet | <1 % |
| 76 | www.cnea.gob.ar Fuente de Internet | <1 % |
| 77 | www.indalia.es Fuente de Internet | <1 % |
| 78 | www.labc.usb.ve Fuente de Internet | <1 % |
| 79 | www.polodelconocimiento.com Fuente de Internet | <1 % |
| 80 | CARLOS FRANCISCO GONZÁLEZ GUIASOLA. "Modelización del electrolito, monocelda y stack en pilas de combustible poliméricas", Universitat Politecnica de Valencia, 2018 Publicación | <1 % |

81 Durán-Acevedo Cristhian Manuel, Gualdron-Guerrero Oscar Eduardo, Hernández-Ordoñez Mariela. "Nariz electrónica para determinar el índice de madurez del tomate de árbol (Cyphomandra Betacea Sendt)", Ingeniería, Investigación y Tecnología, 2014
Publicación

<1 %

82 Francisco Peinado López-Cepero. "Sistemas de revalorización de poliolefinas procedentes de residuos sólidos urbanos", Universitat Politecnica de Valencia, 2023
Publicación

<1 %

83 Jaime Octavio Guerra Pulido. "Estudio de un microacelerómetro realimentado con actuación electrostática y transducción saw", Universidad Nacional Autonoma de Mexico, 2014
Publicación

<1 %

84 Molina Castro, Juan David. "Mecanismos para la inversion y remuneracion de la transmision de energia electrica", Pontificia Universidad Catolica de Chile (Chile), 2021
Publicación

<1 %

85 acikbilim.yok.gov.tr
Fuente de Internet

<1 %

86 addi.ehu.es
Fuente de Internet

<1 %

87 biblus.us.es
Fuente de Internet

<1 %

88 core.ac.uk
Fuente de Internet

<1 %

89 doaj.org
Fuente de Internet

<1 %

| | | |
|-----|--|------|
| 90 | educalingo.com Fuente de Internet | <1 % |
| 91 | futur.upc.edu Fuente de Internet | <1 % |
| 92 | helvia.uco.es Fuente de Internet | <1 % |
| 93 | idoc.pub Fuente de Internet | <1 % |
| 94 | indico.cern.ch Fuente de Internet | <1 % |
| 95 | pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet | <1 % |
| 96 | pmc.ncbi.nlm.nih.gov Fuente de Internet | <1 % |
| 97 | pt.scribd.com Fuente de Internet | <1 % |
| 98 | repositorio.pucp.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 99 | vdocuments.pub Fuente de Internet | <1 % |
| 100 | www.fundaciongarciasineriz.es Fuente de Internet | <1 % |
| 101 | www.grafiati.com Fuente de Internet | <1 % |
| 102 | www.jove.com Fuente de Internet | <1 % |
| 103 | www.scielo.org.mx Fuente de Internet | <1 % |
| 104 | www.tdx.cat Fuente de Internet | <1 % |

105 Hasan, Fatmah. "Simulation of Low-Frequency Waves Propagating along Water Service Pipelines", Drexel University, 2023 $<1\%$
Publicación

106 K. Balparda, M.J. Maldonado. "Entrecruzamiento del colágeno corneal. Revisión de sus aplicaciones clínicas", Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología, 2017 $<1\%$
Publicación

107 zagan.unizar.es $<1\%$
Fuente de Internet

108 Diana Cecilia Yacchirema Vargas. "Arquitectura de Interoperabilidad de dispositivos físicos para el Internet de las Cosas (IoT)", Universitat Politecnica de Valencia, 2019 $<1\%$
Publicación

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Activo