



Universidad
Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Biotecnología

Caracterización del flujo en un modelo de vaso
sanguíneo mediante holografía digital de baja
coherencia

Realizado por

Cristina Errea Latorre

Tutorizado por

Julia Lobera Salazar

Francisco José Torcal Milla

Realizado en el

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Programa de Becas y Ayudas del Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A) en la convocatoria 23/24.

Difusión de resultados

Algunos de los resultados de este trabajo han sido aceptados para su difusión en formato póster en la XIV Reunión Española de Óptica, que se celebrará del 3 al 5 de julio de 2024 en Murcia. El trabajo se titula: "Exploring the fluid dynamics of a carotid bifurcation model with low-coherence digital in-line sideband holography", Cristina Errea, Julia Lobera y Francisco José Torcal-Milla.

Contenido

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Holografía digital.....	3
1. Registro de un holograma.....	4
2. Holografía digital en línea con apertura rectangular desplazada.....	4
Coherencia.....	6
1. Coherencia temporal.....	6
2. Coherencia espacial.....	7
Materiales y métodos.....	8
Elaboración del montaje.....	8
1. Sistema óptico del montaje.....	8
2. Sistema circulatorio del montaje.....	9
3. Modelo de bifurcación carotídea.....	10
4. Modelo de aneurisma sacular.....	11
Registro de hologramas.....	11
1. Toma de aumentos.....	11
2. Ajuste de la apertura rectangular.....	12
3. Enfoque del modelo de vaso sanguíneo.....	12
4. Ajuste de la fuente de luz.....	12
5. Ajuste del líquido de índice.....	12
6. Ajuste del tiempo de exposición y el intervalo entre exposiciones.....	13
7. Captura de los hologramas.....	14
Análisis numérico de los hologramas.....	14
Resultados y discusión.....	16
Modelo de bifurcación carotídea.....	16
1. Validación de la técnica.....	16
2. Análisis del flujo.....	18
Modelo de aneurisma sacular.....	19
1. Primer caso: bomba a 10 V.....	21
2. Segundo caso: bomba a 20 V.....	22
3. Tercer caso: bomba a 40 V.....	23
Conclusiones.....	24
Bibliografía.....	25

Resumen

El objetivo principal de este trabajo es determinar la viabilidad de la técnica de Holografía Digital en Línea con apertura desplazada e iluminación de baja coherencia para la caracterización del flujo en modelos de vasos sanguíneos. Además, se ilustrarán las diferencias en la determinación y caracterización del flujo en varios modelos de vaso sanguíneo usando holografía de alta y baja coherencia. Para ello, se ha llevado a cabo la obtención y análisis de hologramas de varios flujos de partículas en modelos de silicona de distintas localizaciones y patologías del sistema circulatorio humano con un láser como fuente de luz coherente y un diodo LED como fuente de baja coherencia. Ambos modelos bajo estudio presentan propiedades y atributos diferentes, permitiendo la caracterización de ambas técnicas con distintos rangos de datos y pudiendo ser utilizadas cada una de ellas de manera preferente en función de los requerimientos del estudio.

En términos generales, la luz coherente permite la visualización de un volumen más extenso del objeto (modelo de vaso sanguíneo en nuestro caso) de manera simultánea, lo cual posibilita a su vez una visualización global del movimiento del fluido y del comportamiento del modelo. Por otro lado, la luz de baja coherencia permite reducir el volumen capturado del objeto, resultando más útil si se desea estudiar el perfil de velocidades en el interior de un vaso sanguíneo, minimizando la interferencia de información no deseada procedente de las paredes del vaso en las imágenes y obteniendo hologramas mucho más limpios.

En resumen, utilizando luz de baja coherencia, se ha logrado discernir los patrones de flujo tridimensional de un fluido, similar a la sangre, en modelos de bifurcación carotídea y aneurisma sacular lateral sometidos a múltiples condiciones de velocidad del flujo con éxito, poniendo a la luz algunas ventajas en comparación con el uso de fuentes de alta coherencia.

Abstract

The primary objective of this work is to determine the feasibility of using Digital Inline Holography with shifted aperture and low-coherence illumination for characterizing flow in blood vessel models. Additionally, this study aims to illustrate the differences in flow determination and characterization in various blood vessel models using both high- and low-coherence holography. To achieve this, holograms of different particle flows in silicone models of various locations and pathologies of the human circulatory system were obtained and analyzed, with a laser as the coherent light source and an LED as the low-coherence light source. The models under study exhibit different properties and attributes, allowing for the characterization of both techniques with different data ranges, and enabling each technique to be preferentially used based on the study's requirements. In general terms, coherent light allows for the simultaneous visualization of a larger volume of the object (in our case, the blood vessel model), which in turn facilitates a global visualization of the fluid movement and the model's behavior. Conversely, low-coherence light reduces the captured volume of the object, making it more useful for studying the velocity profile inside a blood vessel by minimizing the interference of unwanted information from the vessel walls in the images and obtaining much cleaner holograms. In summary, using low-coherence light, it has been possible to discern the three-dimensional flow patterns of a fluid similar to blood in carotid bifurcation and lateral saccular aneurysm models under various flow velocity conditions, successfully highlighting some advantages compared to the use of high-coherence sources.

Introducción

El conocimiento preciso de las características del flujo en vasos sanguíneos es de vital importancia a la hora de aplicar tratamientos personalizados. La impresión 3D, entre otras técnicas, ha facilitado la réplica de vasos y conductos biológicos, de forma que puedan ser fabricados y analizados previamente sin afectar al paciente. Para estudiar la influencia de la geometría del vaso en las características del flujo es necesario utilizar técnicas de medida no intrusivas, y que además permitan obtener la información de la velocidad del fluido en cada punto, es decir, el campo de velocidades tridimensional. En general, las técnicas ópticas de medida que no perturban el flujo, requieren del sembrado del flujo con partículas trazadoras y que el modelo de vaso sanguíneo sea transparente a la longitud de onda utilizada. De entre las técnicas ópticas para la medida de velocidades, la más extendida es la Velocimetría de Imágenes de Partículas (PIV), que se ha utilizado con éxito en la caracterización del flujo en modelos de aneurismas (Palero et al, 2010). Sin embargo, su extensión a medidas tridimensionales como el PIV tomográfico (Scarano, 2012) o PIV estereoscópico (Prasad, 2000) no es posible debido a la complejidad de la forma del vaso. La anemometría láser Doppler tampoco es adecuada para el estudio de flujos pulsados, que en ocasiones pueden ser turbulentos, además de que también se vería afectada por la forma del vaso. Por ese motivo, en este trabajo se va a estudiar el uso de Holografía Digital en Línea (DIH) (Schnars y Jüptner, 2015). La principal ventaja de la DIH es la simplicidad del montaje de registro y reconstrucción. Su principal inconveniente es el solapamiento de dos imágenes del objeto simétricas respecto del plano del sensor (imágenes gemelas). Para eliminar esta duplicidad en la reconstrucción se puede utilizar un filtro pasa banda, que permite discriminar estas imágenes en el espacio de frecuencias (Palero et al, 2014). Supone una ligera modificación en el montaje de registro, que ha demostrado ser útil para caracterizar el campo de velocidades en modelos de vasos de geometrías simplificadas, como en un modelo de capilar de sección cuadrada (Climente et al, 2019) y en modelos no flexibles (Lobera et al, 2017).

La holografía es una técnica óptica en la que se registra la interferencia de dos haces, el haz de referencia y el haz objeto, de modo que queda registrada la posición de los puntos difusores y/o superficies difusoras que conforman el objeto. Los modelos realizados con impresión 3D presentan una gran cantidad de pequeñas imperfecciones que introducen mucho ruido en el holograma en forma de moteado. Incluso los modelos excavados en planchas de silicona, que deberían ser más homogéneos, presentan pequeñas rugosidades, lo que afecta de manera negativa a la extracción de información del objeto a partir del holograma.

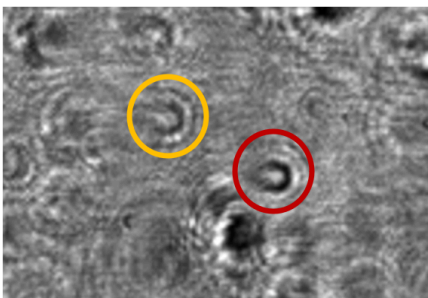


Figura 1: Ampliación de un holograma: a la derecha un punto del modelo rodeado en rojo y a la izquierda una partícula móvil rodeada en amarillo.

Como consecuencia, en nuestros hologramas tenemos dos tipos diferentes de puntos difusores. Por un lado, las partículas sembradas en el flujo, que serían las que nos permiten estudiar el movimiento del fluido, y por otro las imperfecciones del propio modelo, paredes interiores y exteriores. Estos últimos, son indistinguibles en el holograma de las partículas trazadoras. En la Fig. 1 se muestra un detalle de un holograma. En rojo se destaca un punto difusor que no se desplaza entre hologramas registrados en diferentes instantes de tiempo, por lo que se deduce que es un defecto de la pared. En amarillo se destaca una partícula trazadora que se

desplaza a lo largo del tiempo, siguiendo el movimiento del flujo. Tal y como se puede apreciar, la morfología de la imagen de la partícula y del defecto son prácticamente idénticas.

Como ya hemos adelantado, los puntos difusores situados en las paredes del modelo son el origen del ruido que dificulta la medida del campo de velocidades con DIH usando fuentes láser. Para tratar de minimizar el ruido, en este trabajo se propone el uso de fuentes parcialmente coherentes, aprovechando el acotamiento que proporcionan en el volumen del objeto registrado en el holograma. Se estudiará cómo, ajustando la coherencia espacial de la fuente de luz mediante un iris, se puede limitar el volumen del objeto registrado en el holograma únicamente al interior del vaso.

En este trabajo, se medirá el campo de velocidades tridimensional del flujo en varios modelos de vasos sanguíneos: un modelo de bifurcación carotídea tallado en una plancha de silicona y un modelo de aneurisma sacular de silicona flexible, Fig. 2.

Para ello se utilizarán fuentes de luz tanto de alta (láser) como de baja (diodo LED) coherencia. El registro de hologramas con una fuente láser de estado sólido, permitirá comparar y validar los resultados obtenidos con DIH y fuente LED. Cabe destacar que, además de minimizar el ruido introducido por los defectos de las paredes de los vasos, el uso de una fuente de baja coherencia, simplifica y abarata significativamente el montaje experimental, redundando en una técnica más accesible y permitiendo la generalización del uso de la misma a laboratorios con bajo presupuesto.

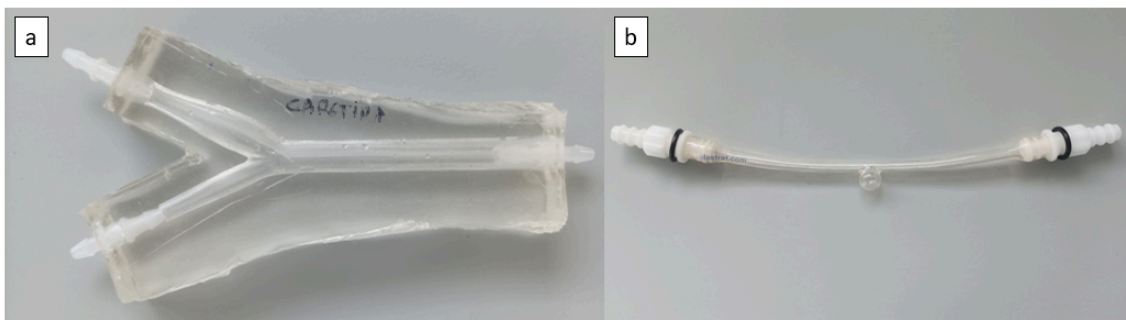


Figura 2: Modelos utilizados para el estudio. a) Bifurcación carotídea. b) Aneurisma sacular.

El conocimiento del patrón tridimensional del flujo interno de vasos sanguíneos puede ser de gran ayuda de cara a lograr una mayor comprensión del desarrollo de patologías cardiovasculares asociadas a la integridad vascular del sistema circulatorio y a mejorar su pronóstico. Para ello, las condiciones de estudio tienen que simular de forma adecuada las condiciones reales, tanto las fuerzas mecánicas ejercidas por el vaso como las características del fluido utilizado. En cuanto a la elasticidad arterial conferida por la musculatura lisa de la túnica media, se ve mejor replicada en el modelo flexible de silicona (aneurisma sacular), ya que este permite la deformación ante la presión del flujo pero sin dejar de presentar resistencia.

En las siguientes secciones, se expondrá una explicación teórica de los fundamentos de la técnica, se presentará el montaje utilizado para el trabajo, al que sucederá el proceso de experimentación, la discusión de los resultados y las conclusiones obtenidas.

Holografía digital

La holografía engloba a un conjunto de técnicas que permiten registrar y reconstruir la fase y la amplitud de un frente de ondas. Un holograma es el registro de la interferencia de la luz difundida

por un objeto, llamada onda objeto, y otra onda que incide directamente sobre el medio de registro, que se denomina onda de referencia. En holografía digital, el medio de registro es un sensor CCD o CMOS.

1. Registro de un holograma

Las ondas que forman el holograma, la onda objeto $o(x, y)$ y la onda de referencia $r(x, y)$, se pueden expresar en función de su amplitud, A , y su fase, ϕ , como:

$$o(x, y) = A_o(x, y) \exp[j\phi_o(x, y)] \quad ; \quad r(x, y) = A_r(x, y) \exp[j\phi_r(x, y)], \quad (1)$$

Por otra parte, la distribución de intensidad en el sensor viene dada por:

$$\begin{aligned} I(x, y) &= |r(x, y) + o(x, y)|^2 \\ &= |r(x, y)|^2 + |o(x, y)|^2 + r(x, y)^* o(x, y) + r(x, y) o(x, y)^* \end{aligned} \quad (2)$$

donde * significa complejo conjugado. De forma que el holograma puede expresarse como:

$$I(x, y) = A_o^2 + A_r^2 + 2A_r A_o \cos(\phi_o - \phi_r), \quad (3)$$

donde $A_o = |o(x, y)|$ y $A_r = |r(x, y)|$. En consecuencia, un holograma almacena la información tanto de la amplitud, A_o , como de la fase, ϕ_o , de la onda objeto. En general, se elige una onda de referencia cuya amplitud y fase varíen de manera continua y suave sobre el sensor.

En la Fig. 3 se muestra un esquema de un montaje típico de holografía digital en línea como el utilizado en este trabajo. En el esquema se aprecia que el registro del haz de referencia y del haz objeto son simultáneos. El haz objeto es el haz que difracta el objeto, que debe ser transparente a la longitud de onda utilizada, y el haz de referencia es la porción del haz de iluminación, que no ha sido difractada y se propaga sin modificarse hacia el sensor.

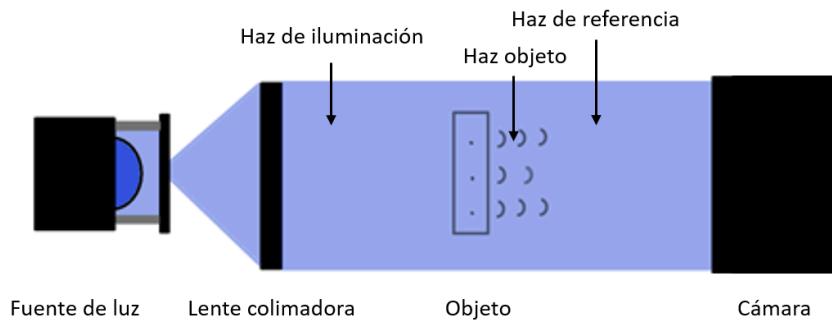


Figura 3. Esquema del montaje para el registro de un holograma digital en línea con LED como fuente de luz.

2. Holografía digital en línea con apertura rectangular desplazada

Para este trabajo, se ha utilizado la técnica de holografía digital en línea, modificada con una lente que forma imagen del objeto cerca del sensor. En la Fig. 4 se muestra un esquema del montaje utilizado en el que se detallan los diferentes componentes. El haz de iluminación, o haz de referencia, se destaca en verde y el haz difractado por las partículas (haz objeto) en azul.

Este tipo de holograma puede ser interpretado como un holograma de Fourier sin lentes de la apertura. En los hologramas de Fourier sin lentes (Schnars y Jüptner, 2015), el haz de referencia es un

haz divergente que parte desde la misma distancia del plano del holograma que el objeto. En nuestro caso, en el plano focal de la lente, el haz de iluminación focaliza en un punto, y, al colocar la apertura rectangular en ese plano, ésta actúa como objeto.

La simetría del espectro en frecuencias de una función real, como la intensidad del holograma (Ec. 2), hace que la información esté duplicada y permite bloquear la mitad de las frecuencias en el plano focal de la lente sin perder información. Para ello se utiliza una apertura rectangular desplazada, que hace de filtro pasa banda. La ventaja de utilizar este filtro pasa banda es que, al hacer la transformada de Fourier del holograma, las imágenes real y virtual de la apertura aparecen separadas (Fig. 5), permitiendo así eliminar el ruido ocasionado por la imagen gemela, un problema inherente a la holografía digital en línea convencional.

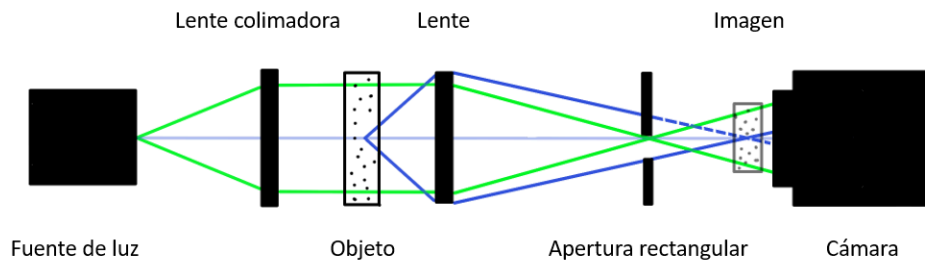


Figura 4: Esquema del montaje para el registro de un holograma digital en línea con apertura rectangular desplazada. Haz de referencia en verde y haz objeto en azul

En la transformada de Fourier del holograma se pueden distinguir en realidad cuatro términos (Ec. 4).

$$F\{I(x, y)\} = A_r^2 \delta(0, 0) + F\{|o|^2\} + F\{r^* o\} + F\{r o^*\} \quad (4)$$

El primer término es la transformada de Fourier del haz de referencia, que al ser una función aproximadamente constante, se asimila a una delta de Dirac, y aparece como un pico central muy brillante. El segundo término es el espectro del objeto que también aparece en torno a las frecuencias centrales. Los dos últimos términos corresponden a las imágenes real y virtual de la apertura, respectivamente. Al ser un término conjugado del otro, aparecen de forma antisimétrica.

En la Fig. 5 aparecen estos cuatro términos tras haber colocado la apertura rectangular desplazada en el plano focal de la lente, entre la lente y la cámara. Se puede apreciar la separación de la imagen real y virtual con una pequeña banda vertical donde se solapan.

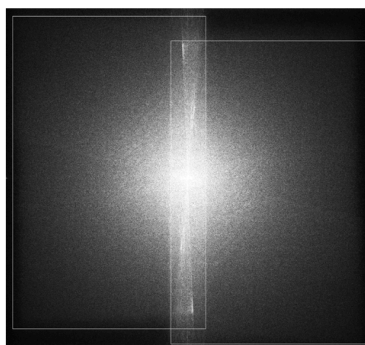


Figura 5. Intensidad de la transformada de Fourier con la apertura rectangular desplazada delimitada en blanco.

En cuanto a las dimensiones de la apertura, debe ser el doble de alta que de ancha, ya que sólo debe limitar el espectro en la dirección horizontal (o vertical). Para obtener el tamaño adecuado, hay que tener en cuenta que, en los sensores digitales, el mínimo periodo que se puede registrar es el doble del tamaño del píxel d_p . En consecuencia, la frecuencia máxima que puede registrar el sensor es $f_{m\acute{a}x} = 1/(2d_p)$. La distancia entre el plano focal de la lente

formadora de la imagen (en nuestro caso un objetivo fotográfico) y el sensor, viene dada por $d = f'M$, donde f' es la focal de la lente formadora de la imagen y M son los aumentos ópticos del sistema. De todo ello se deduce que la anchura máxima de la apertura debe ser:

$$\Delta x = \frac{\lambda f' M}{2d_p} \quad (5)$$

donde λ es la longitud de onda de la fuente de luz.

La zona central de la transformada de Fourier (el área solapada en la Fig. 5) corresponde a la zona por donde pasa el haz de referencia. La apertura debe estar centrada en uno de los ejes (en nuestro caso en el eje vertical) y desplazada en el otro eje del plano perpendicular al eje óptico (en nuestro caso, el horizontal). Este desplazamiento debe ser el máximo posible sin bloquear el haz de referencia de modo que en el plano de frecuencias quede como la Fig. 6. De esta forma se obtiene una transformada de Fourier del holograma como la de la Fig. 5.

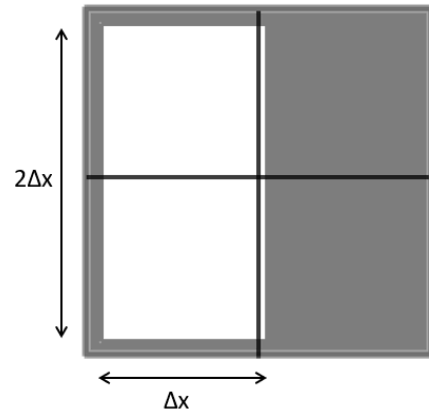


Figura 6. Esquema de la colocación y el tamaño de la apertura rectangular

Coherencia

Tal y como se ha mencionado, en este trabajo se han usado dos tipos de fuentes de luz, una de alta coherencia (láser) y otra de baja coherencia (LED). Se dice que dos ondas son coherentes cuando la relación entre sus fases es constante (Schnars y Jüptner, 2015). Para que esta relación de fases sea constante durante un cierto intervalo de tiempo finito, es necesario que ambas ondas provengan de la misma fuente. Por este motivo, en holografía, se divide el haz inicial o haz de iluminación en dos, formando el haz de referencia y el haz objeto. Para poder registrar su interferencia en un sensor, ambos haces deben seguir siendo coherentes en el momento de interferir sobre el sensor, a pesar de recorrer caminos distintos y provenir quizás de distintos puntos del haz inicial.

En un registro holográfico general, la amplitud de los términos de interferencia aparece modulada por el grado de coherencia, γ , de forma que la intensidad del holograma se ve modificada de la forma:

$$I(x, y) = |r(x, y)|^2 + |o(x, y)|^2 + \gamma(x, y)(r(x, y)^* o(x, y) + r(x, y)o(x, y)^*) \quad (6)$$

Este grado de coherencia toma valores entre 0 y 1, que corresponden a los casos extremos en los que ambas ondas son completamente incoherentes y completamente coherentes respectivamente. Cuando se usa una fuente láser, este grado de coherencia es cercano a la unidad, pero si se usan fuentes LED no lo será. El grado de coherencia depende a su vez de dos parámetros: la coherencia temporal y la coherencia espacial.

1. Coherencia temporal

Se considera que dos frentes de onda mantienen son coherentes temporalmente si la relación entre sus fases permanece constante durante un cierto intervalo Δt_c , denominado tiempo de coherencia.

Seguirán manteniendo un grado de coherencia elevado aunque recorran diferente camino, mientras no superen una distancia $L_c = c\Delta t_c$, donde c es la velocidad de la luz, y L_c se denomina longitud de

coherencia. Se suele considerar coherentes, cuando $\gamma > 1/e$, aunque, siendo estrictos, habría que hablar de ondas parcialmente coherentes casi en cualquier situación. El tiempo de coherencia se puede expresar como el inverso de la anchura espectral de la fuente $\Delta t_c \approx \frac{1}{\Delta \nu}$, con lo que para fuentes cuasi-monocromáticas, como son los láseres, el tiempo de coherencia suele ser muy largo y, por ese motivo, son las más extendidas en holografía. Sin embargo, cabe destacar que, en holografía en línea, la diferencia de camino recorrido entre el haz objeto y el haz de referencia es muy pequeña, menor que la longitud de coherencia del LED, lo que facilita el uso de este tipo de fuentes.

2. Coherencia espacial

Se considera que dos frentes de onda son coherentes espacialmente si la relación entre sus fases permanece constante a pesar de provenir de dos puntos distintos de la onda inicial. Se suele hablar de radio de coherencia ρ_c , como el radio que tiene el área transversal de la onda inicial, dentro de la cual pueden estar esos dos puntos emisores y mantener un grado de coherencia $\gamma > 1/e$.

Es habitual que las fuentes láser presenten también elevada coherencia espacial, ya que se suele buscar que el área emisora sea lo más pequeña posible (cuasi-puntual), de forma que emitan un haz gaussiano. Esta condición es, sin embargo, muy exigente para los LED, ya que son fuentes extensas. Sin embargo, se puede mejorar introduciendo una pequeña apertura, o iris, que reduzca el área que realmente se utiliza de la fuente LED, a costa de perder intensidad en el haz. En la práctica, la fuente de luz que aparece en la Fig. 4 está realmente formada por un esquema como el de la Fig. 7. Consiste en un emisor LED, con una lente esférica, que reduce la divergencia del haz, y una apertura o iris que hace de filtro espacial y al reducir su diámetro (o aumentar su distancia al diodo) aumenta la coherencia espacial.

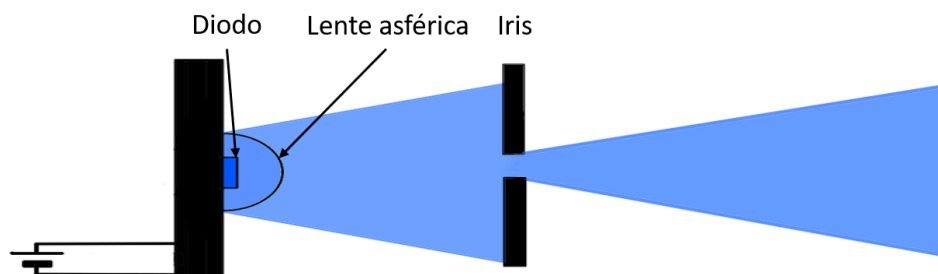


Figura 7: Esquema de la fuente de luz LED y cómo el iris regulable reduce la en ángulo de divergencia de la luz.

La falta de coherencia espacial de la fuente de luz en DIH resulta problemática ya que implica, entre otras cosas, el aumento de la profundidad de enfoque, es decir, la pérdida de precisión en la localización de las partículas en la dirección de propagación de la luz. Como consecuencia, se limita el volumen del objeto que se puede registrar en el holograma de forma efectiva (Lim et al, 2022). Sin embargo, este hecho puede ser utilizado positivamente, ya que focalizando el sistema en el centro del objeto, la información de las paredes (ruido) no se traslada al holograma, facilitando el análisis posterior del flujo. En la Ec. 6, este efecto se traduce en que $\gamma(x, y)$ tomará valores distintos, en función de la distancia de desenfoque del punto difusor que se quiere registrar, disminuyendo conforme el desenfoque aumenta.

Materiales y métodos

Elaboración del montaje

El montaje empleado para la realización de este trabajo tiene dos sistemas claramente diferenciados. Por un lado tenemos el montaje óptico, que consiste en la fuente de luz, las lentes, la cámara y los elementos necesarios para la formación de la imagen del objeto y el registro del holograma. Por el otro tenemos el montaje de circulación, que contiene el fluido utilizado, las partículas trazadoras, la bomba que lo impulsa y el sistema de tubos que conecta con nuestros modelos de vasos sanguíneos. Se han estudiado dos modelos de distinto tipo, un modelo de bifurcación carotídea y otro de aneurisma sacular. Estos modelos de vasos sanguíneos, forman parte tanto del sistema de circulación, como del sistema óptico, y condicionan las características de ambos sistemas, por lo que se describirán en un capítulo aparte.

1. Sistema óptico del montaje

En este sistema se incluye la fuente de luz, una lente colimadora, una lente convergente u objetivo fotográfico, la apertura rectangular y la cámara.

Se han utilizado dos tipos diferentes de fuente de luz: un láser Cobolt Twist con 50 mW de potencia y longitud de onda de 457 nm (fuente completamente coherente) y un diodo LED THEM-CLC Flux LED con un pico de longitud de onda situado entre los 460 y los 470 nm y un voltaje de alimentación de 3,4 V (fuente parcialmente coherente). El LED cuenta con una lente diseñada ad-hoc para reducir la divergencia del haz a 15°. Además, para controlar la coherencia espacial, se añadió un iris de diámetro regulable. La estructura necesaria para sujetar el iris fue impresa en 3D (Fig. 8). Se mantiene el diodo y el iris a una distancia fija de 6 cm.

El iris cuenta con una gradación que utilizaremos para ajustar la coherencia y la intensidad del haz durante el registro de hologramas. Se midió el diámetro del iris para las marcas de 0 a 5, correspondiendo a diámetros de la apertura de 0,81 mm, 2,24 mm, 3,27 mm, 4,10 mm, 5,23 mm, y 6,18 mm respectivamente.

Procede mencionar que, para validar los resultados obtenidos con el diodo LED, se registraron hologramas sustituyéndolo por la fuente por el láser, cuya salida está guiada mediante una fibra óptica monomodo. El extremo de la fibra se situó en la posición del iris, lo que permite compartir el resto del montaje de la Fig. 4: el objetivo, la apertura rectangular, la cámara, etc. Al mantener los

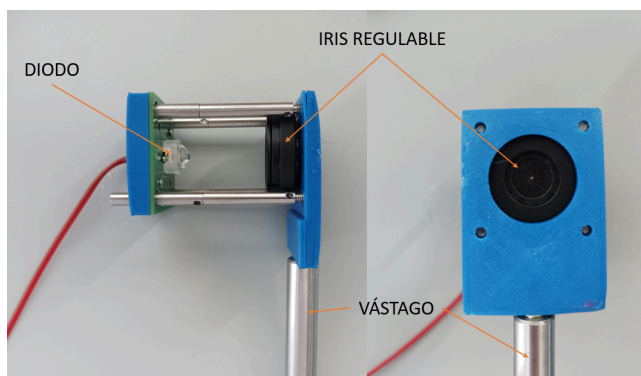


Figura 8: Estructura utilizada para la sujeción y ajuste del LED y el iris regulable en el montaje.

mismos aumentos y el campo de visión, se simplifica enormemente la comparación de resultados entre ambas técnicas.

Como lente colimadora utilizamos un doblete acromático de 100 mm de focal y 50 mm de diámetro. Al situar esta lente a 100 mm de la fuente de luz, se modifica el haz y aparece colimado y uniforme sobre el objeto. Por otro lado, la lente convergente que se utiliza para formar la imagen del objeto en la proximidad del sensor, es un objetivo fotográfico Nikon con $f' = 50$ mm.

Para la toma de imágenes se utilizó una cámara Emergent HB-12000-SB con sensor Sony Pregius S IMX535, una velocidad de captura máxima de 192 fps y un tamaño de píxel de $2,74 \times 2,74 \mu\text{m}^2$. En cuanto al software utilizado para el registro de imágenes, utilizamos tanto eCapture como eCapture Pro, ambos desarrollados por el fabricante de la cámara.

Tal y como hemos mencionado, la apertura rectangular sirve para bloquear el paso de la mitad del espectro de frecuencias del objeto, eliminando así el problema de la imagen gemela. Al ser el tamaño de la apertura dependiente de los aumentos con los que estemos trabajando (ver Ec. 5), para cada uno de los modelos estudiados fabricamos una apertura distinta. La fabricación de la apertura consiste esencialmente en recortar en una cartulina negra (opaca y no reflectante), un orificio rectangular de las dimensiones calculadas para cada caso. Esta apertura es luego colocada a la distancia focal del objetivo fotográfico, entre este mismo y la cámara (Fig. 4). En la práctica, resulta imprescindible comprobar que la apertura rectangular está en la posición correcta y tiene el tamaño correcto, observando la transformada de Fourier de los hologramas. Este paso forma parte de las comprobaciones necesarias antes de la toma de series de hologramas.

2. Sistema circulatorio del montaje

En este sistema se incluyen las partículas sembradas, el líquido en el que están inmersas, los tubos por donde circula, la bomba que lo impulsa y los modelos de vasos, de los que hablaremos más adelante..

Las partículas utilizadas en este trabajo son partículas de polímeros de poliamida de 10 y 20 μm de diámetro medio. Deben ser fácilmente detectables para los aumentos del sistema óptico que nos permiten tener una visión global del modelo de vaso. Por ello, en el caso del modelo de bifurcación carotídea, en el que se necesita un menor campo de visión, se utilizan partículas de 10 μm ; mientras que en el caso del modelo de aneurisma sacular, se utilizan partículas de 20 μm .

Por otro lado, las principales características que debe cumplir el líquido utilizado en el flujo son tres. En primer lugar, debe ser transparente a la longitud de onda utilizada. En segundo lugar, el índice de refracción debe ser lo más similar posible al del material con el que están hechos los modelos. Se dice entonces que es un líquido de índice y se consigue evitar fenómenos de reflexión entre el líquido y las paredes del modelo, que podrían interferir en el registro de la luz difractada por las partículas.

Para fabricar el líquido de índice se utiliza una mezcla de glicerina y agua, con una proporción aproximada de 60/40 en volumen. La proporción exacta debe ajustarse experimentalmente para cada modelo, y comprobar periódicamente su comportamiento, ya que puede variar la concentración notablemente con el tiempo, especialmente cuando hay cambios en la humedad ambiental.

En tercer lugar, el líquido debe imitar la viscosidad y la densidad de la sangre, $\eta = 3,5 \times 10^{-3} \text{Pa} \cdot \text{s}$, y $\rho = 1,05 \times 10^3 \text{kg/m}^3$, respectivamente. Con una mezcla de glicerina y agua se puede ajustar o bien la densidad, o la viscosidad o el índice de refracción, pero no los tres parámetros simultáneamente. Para acercarnos a la viscosidad de la sangre deberíamos bajar la proporción de glicerina en agua a un 20/80. Sin embargo, la mezcla resultante no permitiría estudiar el flujo en el interior del modelo debido a la diferencias en el índice de refracción con el vaso. Por ese motivo se ha descartado utilizar esas proporciones y se ha mantenido la que permite asegurar el buen comportamiento del líquido de índice. Para la temperatura típica de trabajo, en torno a 20°C , la mezcla utilizada tenía aproximadamente $\eta = 10,5 \times 10^{-3} \text{Pa} \cdot \text{s}$ y $\rho = 1,15 \times 10^3 \text{kg/m}^3$.

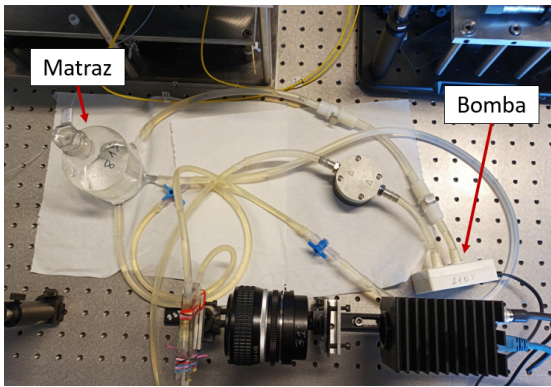


Figura 9: Vista cenital del montaje de tuberías y recipiente.

La infraestructura del montaje de fluido está formada esencialmente por tuberías, un matraz, la bomba y el modelo. El primer modelo con el que trabajamos corresponde a una bifurcación carotídea, de manera que tenemos una vía aferente y dos vías eferentes. Los tres tubos necesarios para el montaje parten desde un mismo matraz, un recipiente de vidrio que cuenta con tres apéndices de entrada y salida para acoplar tubos, además de una apertura superior, que cuenta también con un tapón de vidrio (ver Fig. 9). La vía aferente se extiende desde el matraz al modelo de bifurcación atravesando la bomba. Las vías eferentes van desde los dos orificios de salida del modelo hasta el matraz, y cuenta cada una de ellas con una llave de paso, que permite interrumpir el flujo a voluntad de manera tanto mono como bilateral. Todas las tuberías utilizadas son de silicona transparente, por lo que son vasos flexibles y se puede observar el flujo en su interior en todo momento. El modelo de aneurisma sólo cuenta con una tubería aferente y otra eferente.

Idealmente se debería imponer un flujo pulsado que simulara el ejercido tanto por el corazón como por la resistencia del propio vaso sobre el fluido. Sin embargo, en el momento de la realización de los ensayos experimentales no se disponía de una bomba de flujo pulsado funcional, por lo que, los resultados habrá que interpretarlos con cierta cautela, ya que existen limitaciones significativas en la imitación de las condiciones *in vivo*, que quedan para trabajo futuro. En lugar de una bomba pulsada, utilizamos una bomba de membrana acoplada a un amortiguador, que genera un caudal constante. El caudal se controla mediante el voltaje de alimentación de la bomba.

3. Modelo de bifurcación carotídea

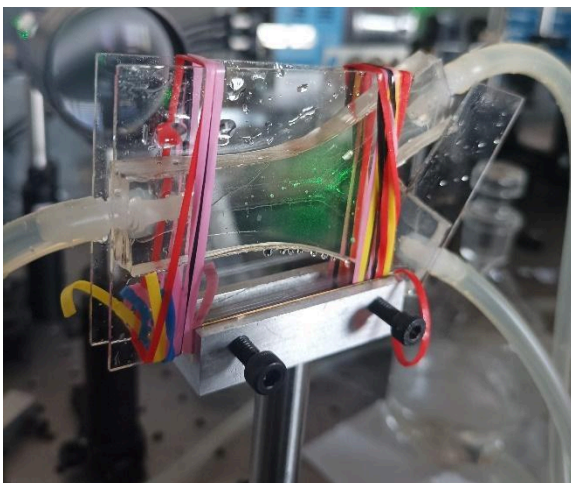


Figura 10. Modelo de bifurcación carotídea colocado en el montaje utilizando una pinza de aluminio y gomas elásticas.

El modelo de bifurcación carotídea es una estructura tallada en un bloque de silicona y rematada con acoples en cada uno de los orificios. Éste se sitúa entre dos portaobjetos, sujetos con gomas elásticas, y todo ello sujeto mediante una pinza de aluminio en U. La cara de entrada y de salida del objeto son superficies planas con calidad óptica, y se elimina parcialmente el ruido que introducen las paredes exteriores de la plancha de silicona. Entre la plancha de silicona y cada uno de los portaobjetos se colocan unas gotas de líquido de índice. De este modo se evita que haya un cambio brusco de índice de refracción en una superficie curva o rugosa, lo que haría que el haz de iluminación se reflejara y refractara, dificultando la correcta iluminación del interior del vaso. Esta solución lleva consigo algunos problemas, ya que los propios portaobjetos van cortando las gomas que los sujetan. Esto ocasiona que el líquido gotee fuera del montaje (ver Fig. 10) y que aparezcan burbujas de aire dentro del

campo de visión. En la Fig. 11a se presenta un holograma de la bifurcación, en el que se destaca con flechas rojas el límite de la burbuja de aire que se queda en la parte superior. Se puede apreciar también la diferencia de ruido entre la parte superior (con aire) y la parte inferior (con líquido de índice). En la imagen se muestra un campo de visión de $8,36 \times 11,46 \text{ mm}^2$, lo que permite estudiar el flujo en torno a la unión de las tres vías.

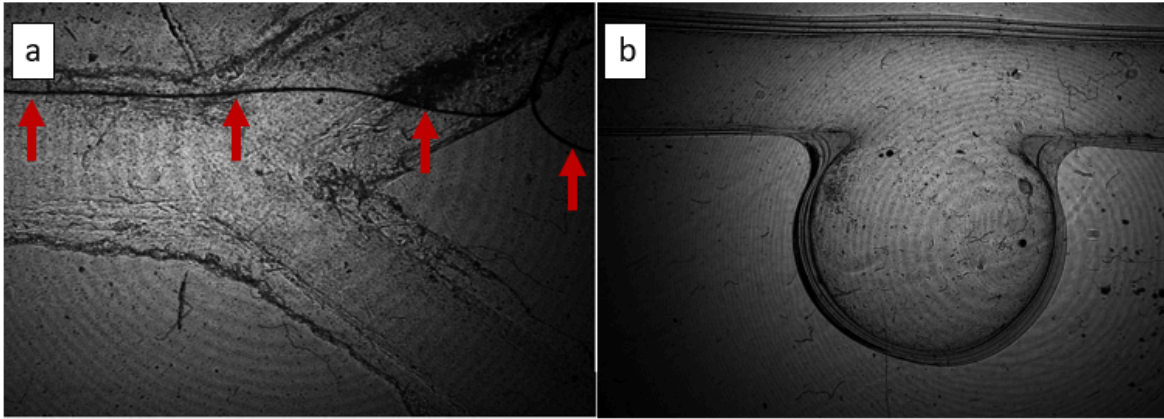


Figura 11: a) Límite entre el líquido de índice y el frente de aire entre el modelo de bifurcación carotídea y los portaobjeto que la sujetan. b) Holograma del modelo de aneurisma sacular.

4. Modelo de aneurisma sacular

El modelo de aneurisma sacular lateral está hecho de silicona flexible, lo que posibilita estudiar la interacción entre la geometría del vaso y del flujo. Como el modelo tiene las paredes curvas, es necesario introducirlo en una cubeta sumergido en líquido de índice. De esta forma se consigue que la superficie de separación entre el aire y el objeto sea plana, y el haz colimado atraviese el modelo sin modificarse apreciablemente.

Para el montaje del modelo de aneurisma sacular utilizamos una cubeta de vidrio transparente de dimensiones $200 \times 50 \times 50 \text{ mm}^3$ en la que introducimos el modelo de silicona. Para mantener el modelo en una posición adecuada y poder conectarlo al montaje circulatorio, la cubeta cuenta con dos orificios situados en la zona central de las paredes laterales que permiten su unión con el sistema circulatorio y quedan fuera del campo de visión. En este caso, dado que el diámetro del vaso es de aproximadamente $3,93 \text{ mm}$, se registra un campo de visión de $17,30 \times 23,74 \text{ mm}^2$ (Fig. 11b).

Registro de hologramas

El proceso de toma de hologramas consta de varios pasos previos a la propia captura de imágenes. En esta sección se detallan dichos pasos y, en concreto, la toma de aumentos, el ajuste de la apertura rectangular, el enfoque del modelo de vaso sanguíneo, el ajuste de la fuente de luz, el ajuste del líquido de refracción y la determinación del tiempo de exposición y el intervalo entre exposiciones más adecuado.

1. Toma de aumentos

Para la toma de aumentos utilizamos una placa de calibrado USAF, que consiste en una placa de vidrio con cuadrículas de diferentes espaciados conocidos (Fig. 12a). Este vidrio se coloca en el plano objeto y se toma una imagen de la cuadrícula correspondiente a $500 \mu\text{m}$ por división (Fig. 12b). Conocido el número de píxeles que ocupan un cierto número de cuadrículas y el tamaño del píxel del sensor, se puede determinar los aumentos de la imagen:

$$M = \frac{y'}{y} = \frac{\text{número de píxeles} \times d_p}{\text{número de cuadrículas} \times 500 \mu\text{m}} \quad (7)$$

Para el modelo de bifurcación resulta $M=1$ y para el modelo del aneurisma $M=0,48$. Con esta información, podemos conocer el tamaño real del objeto en todo momento.



Figura 12: (a) Escala utilizada para la toma de aumentos y (b) ejemplo de imagen tomada en el montaje.

2. Ajuste de la apertura rectangular

La correcta colocación de la apertura rectangular requiere dos ajustes consecutivos. En primera instancia, se debe colocar en el plano focal del objetivo fotográfico, desplazando la apertura a lo largo del eje óptico o dirección de propagación de la luz. A continuación, se mueve transversalmente dentro del plano focal para que quede centrada en vertical y desplazada en horizontal, de acuerdo con la Fig. 6. Aunque se puede situar la apertura observando la posición donde focaliza el haz de referencia, es necesario realizar posteriormente un ajuste preciso comprobando la imagen de la apertura en la transformada de Fourier de los hologramas (Fig. 5).

3. Enfoque del modelo de vaso sanguíneo

Para enfocar el modelo, hay que desplazarlo en la dirección del eje óptico (Z en nuestro sistema de coordenadas) hasta que podamos ver las partículas en el interior enfocadas. Gracias al efecto de la apertura rectangular que ya hemos colocado, aquellas partículas que no se encuentren en el plano de enfoque aparecerán con halos incompletos en forma de lunas crecientes y menguantes, de modo que debemos buscar que las partículas que se mueven con mayor velocidad y correspondan, por tanto, al centro del vaso, sean las que aparecen completas y casi puntuales.

4. Ajuste de la fuente de luz

En el caso de la fuente láser, el extremo de la fibra monomodo y la posición de la lente colimadora se ajustan de forma que se obtiene un haz colimado, razonablemente uniforme, horizontal y centrado en la posición del objeto. Al usar el mismo montaje con la fuente LED, es necesario ajustar la posición del diodo y del iris de forma que se obtenga un haz similar, sin desplazar la lente colimadora.

Inicialmente se coloca el diodo LED de forma que se optimice la iluminación del objeto dentro del campo de visión. El ajuste más preciso de la posición transversal y a lo largo del eje óptico, se realiza con un procedimiento similar al del ajuste de la apertura rectangular: se registran hologramas y se estudia su transformada de Fourier, hasta que la posición relativa de la de las imágenes de la apertura coincide aproximadamente con la que se obtenía con los hologramas registrados con la fuente láser.

5. Ajuste del líquido de índice

La proporción de glicerina en agua debe ajustarse para obtener un líquido cuyo índice de refracción coincida con el del modelo con un error relativo de 0,05%. Conforme pasa el tiempo, el agua de las

mezclas tiende a evaporarse, especialmente en recipientes abiertos como es el caso de la cubeta del modelo de aneurisma, por lo que hay que revisar que la proporción de glicerina sigue siendo adecuada con cierta frecuencia. Para ello, se toma una gota del líquido y se mide su índice utilizando un refractómetro Abbe. Una vez conocido el índice de refracción de partida, añadimos agua o glicerina dependiendo de la desviación que tenga con respecto al índice deseado. En ocasiones, el índice de refracción teórico y empírico del modelo no coinciden, teniendo en estos casos que ajustar el líquido de índice *in situ* observando las variaciones en la imagen hasta dar con el valor óptimo. Para visualizar la importancia de este proceso, se muestra en la Fig. 13a, la convergencia en el interior del modelo de aneurisma de dos líquidos con diferente índice de refracción: el líquido con excesiva proporción de glicerina en la parte inferior y el líquido con el índice ajustado en la parte superior. La diferente densidad favorece también la estratificación del líquido de índice, especialmente en el exterior del aneurisma.

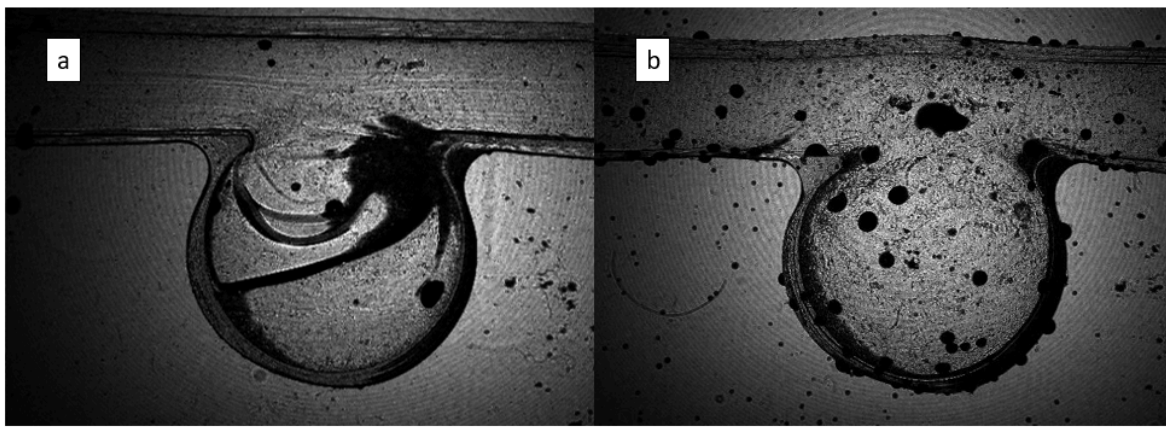


Figura 13: a) Frente entre líquidos con diferente índice de refracción y b) modelo con burbujas adheridas a las paredes interiores y exteriores

Para que el modelo pueda estudiarse sin dificultad es necesario eliminar las burbujas que se depositan tanto en el interior como en el exterior del vaso (ver Fig. 13b). En el caso de las burbujas atrapadas en el interior del circuito, se eliminan modificando el caudal de manera intermitente con ayuda de la bomba. En ocasiones es necesario comprimir el modelo de aneurisma, o usar una jeringuilla para extraer el aire en el caso de la bifurcación. Por otro lado, si las burbujas se encuentran en el líquido exterior, se retiran utilizando bastoncillos de plástico.

6. Ajuste del tiempo de exposición y el intervalo entre exposiciones.

Antes de registrar una serie de hologramas, hay que asegurarse de que el desplazamiento de las partículas es adecuado para el análisis posterior y la determinación del campo de velocidades. Según nuestros estudios previos, las partículas deben desplazarse entre 10 y 20 píxeles entre hologramas consecutivos. Estos valores, junto con la velocidad del flujo en las regiones más rápidas, determinan el tiempo entre exposiciones adecuado.

Por otra parte, aunque la frecuencia de captura nominal de la cámara es de 192 fps, en la práctica únicamente admite 120 fps cuando se registra la imagen completa a resolución completa (12 bits). Por ello, el intervalo entre exposición mínimo que permite la cámara es de $\Delta t_{\min} = 1/120 \text{ fps} = 8,3 \text{ ms}$, lo que limita indirectamente la velocidad máxima del flujo que se puede estudiar con esta cámara. Para comprobar que la frecuencia de captura y la velocidad del flujo son adecuadas se registran series de unas pocas imágenes. Se restan dos imágenes consecutivas y se comprueba el desplazamiento de las partículas manualmente.

El tiempo de exposición debe cumplir dos condiciones. Por un lado debe ser suficientemente corto, como para que la partícula no se desplace notablemente durante ese tiempo. En consecuencia debe ser menor que la décima (o la veinteava) parte que el intervalo entre exposiciones. Por otro lado, debe permitir aprovechar el rango dinámico de niveles de gris que permite la cámara, sin saturar la imagen. En nuestro caso, el LED proporciona suficiente intensidad de luz, incluso con el iris con el diámetro más pequeño, como para que la condición más limitante sea que no se sature la imagen.

7. Captura de los hologramas

Una vez ajustados estos parámetros, se procede a la captura de los hologramas. Se utilizó el software de captura eCapture Pro, que permite la toma de ráfagas de imágenes. Se registran series de 100 imágenes a la máxima frecuencia de captura que permite la cámara, manteniendo la máxima resolución de las imágenes, 120 fps. El intervalo temporal que abarca cada serie de imágenes es de 0.825 s.

Análisis numérico de los hologramas

Para extraer la información del flujo almacenada en las series de hologramas es necesario analizarlos numéricamente, lo que supone un esfuerzo computacional muy elevado. Se necesitan programas que permitan realizar la reconstrucción numérica de los hologramas, la propagación numérica de la onda objeto, la localización de las partículas en el volumen y su seguimiento en los hologramas subsiguientes. El grupo de investigación (TOL-i3A) en el que se desarrolló el trabajo tiene una amplia trayectoria en holografía digital y dispone, en consecuencia, de software propio que permite realizar dichos pasos (Lopez et al, 2024), el cual se ha adaptado parcialmente a los parámetros relativos a los experimentos. A continuación se explican los procedimientos llevados a cabo para el análisis de los hologramas.

En primer lugar, hay que eliminar la intensidad de fondo del holograma. Esta intensidad se debe a los dos primeros términos de la Ec. 6: las intensidades del haz de referencia y del haz objeto. Al eliminarla, quedarán únicamente los términos de interferencia, donde aparecerán destacadas las imágenes de los puntos difusores. En este trabajo se consideran varios métodos para calcular la intensidad media local, que se resta posteriormente a cada holograma:

1. El resultado de la convolución con una función gaussiana con una desviación estándar $\sigma = 16 \text{ pixeles}$. Este valor de σ es suficientemente grande para que el resultado no contenga los semi-anillos típicos de las imágenes de los puntos difusores, y sólo aparezca la intensidad media local.
2. El resultado del promedio de varios hologramas. Este método permite eliminar no solo la intensidad de fondo, sino todos los puntos difusores debidos al modelo, siempre que el modelo no se mueve durante el intervalo temporal de la serie. Esta condición no se cumple en los modelos de vasos flexibles.
3. Un holograma desplazado temporalmente en la serie un cierto intervalo. Es necesario que la forma del vaso sea idéntica en el holograma inicial y el desplazado, y que la separación temporal sea suficiente para garantizar que las partículas trazadoras se han movido y han desaparecido del campo de visión. El inconveniente de usar un holograma desplazado, es que se introducen las imágenes de las partículas trazadoras en este segundo holograma. Por este motivo, para obtener medidas del campo de velocidad válidas es necesario que el estado del flujo sea equivalente en el holograma inicial y el desplazado.

Tras este primer paso, el resultado será una matriz del tamaño del holograma inicial con una amplitud de la forma:

$$A(x, y) \simeq \gamma(x, y)[r(x, y)^* o(x, y) + r(x, y)o(x, y)^*] \quad (8)$$

Posteriormente se elimina una de las dos imágenes gemelas, o, lo que es lo mismo, uno de los dos términos de interferencia. Para ello se realiza la Transformada de Fourier de la amplitud resultante del paso anterior y se hace cero la mitad del espectro (Palero et al, 2014). La transformada de Fourier inversa devolverá una matriz con valores complejos que esencialmente es la onda objeto. Asumiendo que el haz de referencia es aproximadamente uniforme, queda:

$$B(x, y) \simeq \gamma(x, y)o(x, y) \quad (9)$$

Estos pasos se realizan para cada holograma de la serie. Una vez que sólo queda el haz objeto con la información de la posición de los trazadores, hay que localizarlos en un primer holograma y seguirlos posteriormente a lo largo de toda la serie de registros.

La localización de las partículas se hace en dos pasos: primero se calcula el valor de la onda objeto en todo el volumen del vaso, propagando numéricamente a los diferentes planos, separados una distancia dz a lo largo del eje óptico, cuyo valor adecuado depende del experimento. Después se divide el volumen completo en pequeños volúmenes de interrogación que comprenden 32×32 píxeles y toda la anchura del vaso, y se obtiene el máximo absoluto de intensidad. A continuación, se reconstruye con un mejor muestreo la onda objeto en torno a los máximos obtenidos y se obtiene la posición de la partícula mediante un ajuste de la intensidad a una función cuadrática. Si la posición final se aleja de la posición de los máximos iniciales, se considera que es una falsa partícula y se descarta. De esta forma se suelen obtener entre 1500 y 5000 partículas válidas en todo el volumen analizado, en función del experimento.

Una vez que las partículas se han localizado, se obtiene el desplazamiento entre dos hologramas con un algoritmo basado en la correlación cruzada. Para cada partícula, se reconstruye nuevamente la onda objeto a su alrededor, dentro de un pequeño volumen de interrogación, tanto para el holograma inicial, como para el holograma siguiente. La correlación cruzada de ambas matrices 3D resulta en una matriz 3D con un pico cuya posición es proporcional al desplazamiento de la partícula. Este proceso se repite con los siguientes hologramas, de forma que se obtiene el desplazamiento entre las imágenes de la partícula en hologramas consecutivos.

El tamaño del volumen de interrogación en este paso, determina el desplazamiento máximo que se puede medir, en especial en las dos componentes del plano XY: si la sección transversal es $i_w = 40 \times 40$ píxeles, el desplazamiento tiene que ser menor que 20 píxeles o la partícula desplazada no aparecerá dentro del volumen que se está reconstruyendo. Sin embargo, si se aumenta demasiado i_w , aumenta también la probabilidad de que otra partícula aparezca dentro del volumen de interrogación, dando lugar a picos espúreos en la correlación y dificultando las medidas. En nuestro caso, debido a la concentración de partículas con la que trabajamos, la sección transversal debe estar entre 40×40 píxeles y 100×100 píxeles. En la siguiente sección, se presentan las medidas obtenidas para el valor de i_w que mejor resultado proporciona para cada experimento.

Por otra parte, cuando las partículas tienen una velocidad elevada desaparecen del campo de visión al cabo de unos pocos hologramas y no se pueden seguir a lo largo de los 100 registros de cada serie. Por ese motivo se elige localizar partículas y seguirlas en las diferentes subseries de 10 hologramas que podemos conformar con cada serie completa.

Una vez conocido el desplazamiento entre hologramas, basta corregir con el tiempo entre exposiciones (o multiplicar por la frecuencia de captura) para obtener la velocidad de cada partícula en cada instante.

Resultados y discusión

Modelo de bifurcación carotídea

De entre los dos modelos utilizados, el de bifurcación carotídea es, por sus características de rigidez, volumen y simplicidad del flujo, el más adecuado para la validación de la técnica de holografía digital de baja coherencia como técnica de velocimetría.

1. Validación de la técnica

Del modelo de bifurcación carotídea tomamos un total de seis series de 100 hologramas. Se registraron hologramas con la fuente láser y con la fuente LED, modificando la posición del iris desde 0 hasta 5. Para comprobar que se pueden localizar las partículas y obtener mapas de velocidades 3D, se analizaron la serie con la fuente láser y la serie con el LED en posición 0 del iris.

En ambos casos, para eliminar los puntos difusores correspondientes a las paredes del modelo se ha calculado y sustraído el promedio de todos los hologramas de cada serie. De este modo, los puntos difusores que no se desplazan porque pertenecen a las paredes deberían desaparecer. Aún así, se localizan alrededor de 5000 puntos difusores. En las imágenes de la Fig. 14 (1.a y 2.a) se presenta la velocidad de estas partículas. Ambos mapas de velocidades son muy similares, lo que corrobora la viabilidad del uso de fuentes LED en velocimetría. Esta visualización, aunque contenga toda la información de la velocidad de cada partícula en cada punto del volumen, no permite interpretar completamente los resultados. Entre otros aspectos, las partículas más cercanas a las paredes, y más lentas, ocultan parcialmente las del interior del vaso. Por este motivo, se presenta también el perfil de velocidades en la vía aferente, seleccionando las partículas comprendidas entre $z=-0,25$ mm y $z=+0,25$ mm, medidas desde el plano enfocado, Fig. 14 (1.b y 2.b). Se aprecia así mejor que se trata de un flujo laminar, con un perfil de velocidades parabólico, tal y como era de esperar. Se puede despreciar el movimiento radial de las partículas, cuya componente es nula o bien queda por debajo de la resolución de la técnica.

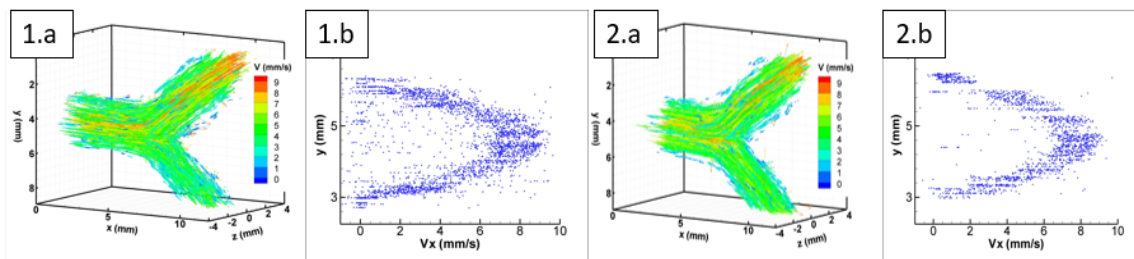


Figura 14: a) Representación tridimensional del mapa de velocidades del modelo de bifurcación carotídea. b) Representación del perfil de velocidades en la vía aferente del modelo de bifurcación carotídea para $x < 4,0$ mm entre $z = -0,25$ mm y $z = 0,25$ mm. 1) Con fuente de luz láser. 2) Con fuente de luz LED con el iris a apertura 0 (la mínima posible)

Hay que destacar que la holografía con luz de baja coherencia permite resultados más limpios (Fig. 14.2.b). El motivo se debe a que se registra menor cantidad de información no deseada de las paredes. Cuando usamos la fuente láser, a pesar de restar el holograma promedio, siguen quedando puntos difusores que dificultan la medida de la posición y de la velocidad de las partículas lo que se refleja en la presencia de un número significativo de valores atípicos en la Fig. 14.2.b.

La calidad de los mapas de velocidades radica tanto en el número de medidas erróneas como en la correcta localización de las partículas. En la Fig. 15 se presenta la posición de las partículas dentro del modelo de bifurcación carotídea conforme se modifica la coherencia temporal de la fuente de luz: para la fuente láser en la Fig 15a y para la fuente LED con el iris en posición 0, 3 y 5, en las Fig. 15b,

15c y 15d, respectivamente. Se presenta la sección YZ, vista desde la vía aferente. Al comparar las Fig. 15.1a y 15.1b, vuelve a quedar patente, la disminución de medidas erróneas o valores atípicos.

Por otro lado, al aumentar el diámetro del iris y disminuir la coherencia espacial del haz, la profundidad de enfoque de las partículas aumenta, y empeora su localización (Fig. 15c y 15d). Este error en la posición en la dirección del eje óptico (eje Z), se aprecia especialmente al reducir el número de partículas y limitarnos a la zona del vaso aferente, entre $z = 0$ mm y $z = 4$ mm (Fig 15.2). La forma de la sección del vaso se desdibuja según vamos disminuyendo la coherencia espacial, siendo los hologramas con el láser los que permiten localizar mejor las partículas.

Se concluye, en consecuencia, que es necesario llegar a un compromiso y ajustar convenientemente la coherencia espacial de la fuente.

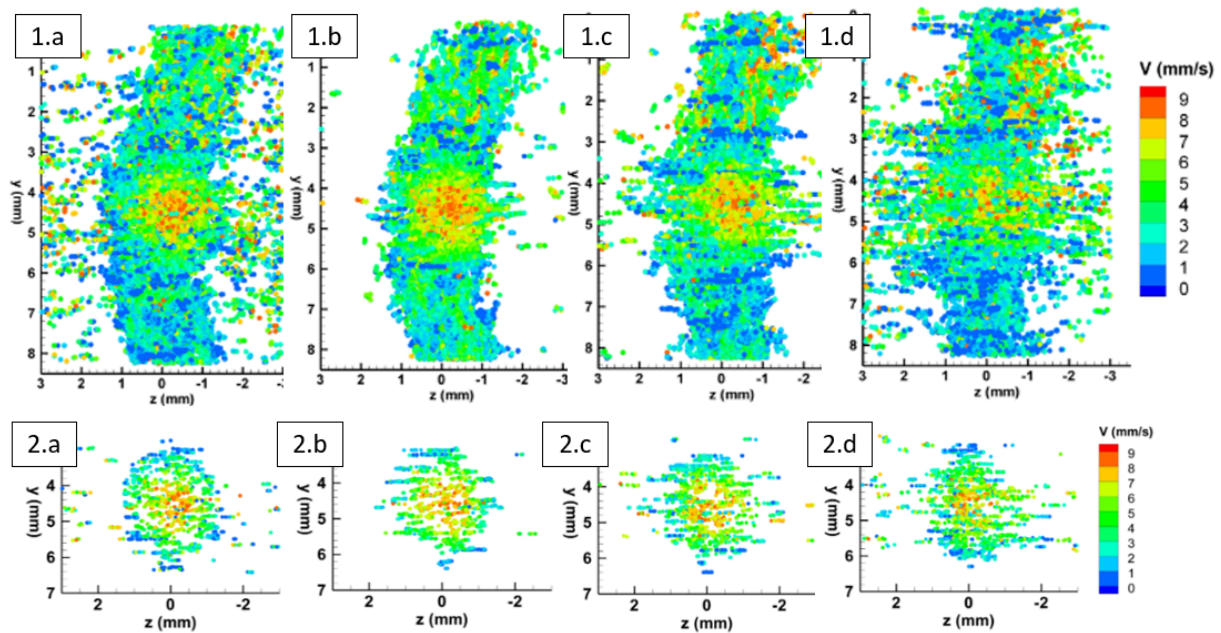


Figura 15: Reconstrucción de los puntos difusores de luz, coloreados según su velocidad en xy, 1) vistos desde el eje perpendicular al eje óptico y 2) sección de la vía aferente del modelo de bifurcación carotídea entre $x=1,0$ mm y $x=2,0$ mm del modelo de bifurcación a partir de hologramas registrados con diferentes fuentes de luz y el mismo caudal. a) Iluminación con luz láser. Iluminación con luz LED con el iris b) en posición 0, c) en posición 3 y d) en posición 5.

Por otra parte, en las Fig 15.1a-d, el modelo de bifurcación parece tener cierta curvatura. Se debe a la deformación de la imagen por el objetivo fotográfico. Se ha comprobado posteriormente que estaba trabajando con distancias alejadas de los valores para los que se encuentra corregido, y presentaba cierta aberración esférica. Se considera que este indeseado efecto se eliminaría con el uso de objetivos corregidos para aperturas numéricas mayores, como un objetivo de microscopio 10x.

Es importante mencionar que todo el análisis ha sido realizado utilizando softwares diseñados para el análisis de hologramas registrados con luz láser. No se descarta que un análisis específico, que tenga en cuenta la falta de coherencia espacial de los registros con diodos LED, permita mejorar la localización de las partículas. A pesar de estas limitaciones, se ha conseguido medir el campo de velocidades 3D para cada una de las series registradas, como se muestra en la Fig. 16.

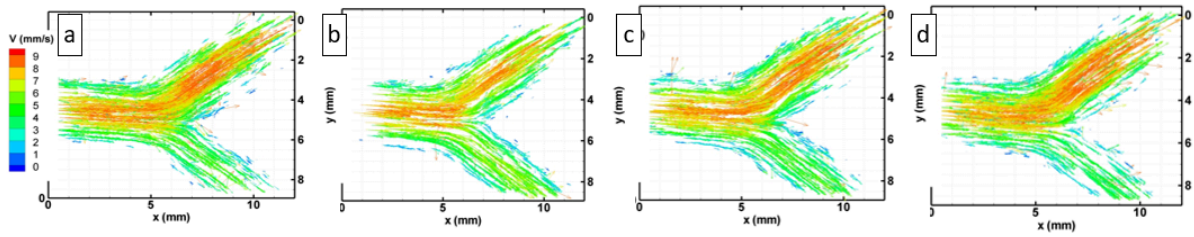


Figura 16: Mapa de velocidades en el plano central de la bifurcación carotídea reconstruido a partir de hologramas registrados con diferentes fuentes de luz para el mismo caudal de flujo. a) Iluminación con luz láser. Iluminación con luz LED con el iris b) en posición 0, c) en posición 3 y d) en posición 5.

2. Análisis del flujo

Una vez analizados los hologramas y obtenido el campo de velocidades en el modelo, podemos comenzar a estudiar el flujo. A primera vista, en el modelo de bifurcación carotídea se aprecia un flujo laminar con un perfil de velocidades parabólico (Fig. 14) y con una clara preferencia de flujo por uno de los vasos eferentes, Fig. 16.

En lo que respecta al flujo preferente por una de las vías eferentes, podemos relacionarlo con la diferencia de diámetro entre ambas vías. Este modelo simula una geometría realista de una bifurcación carotídea, por lo que la vía correspondiente a la carótida interna es mayor que la correspondiente a la carótida externa. En la Fig. 17 podemos ver el modelo de bifurcación utilizado con las medidas de los diámetros de cada una de las vías junto a una ecografía de una bifurcación carotídea real.

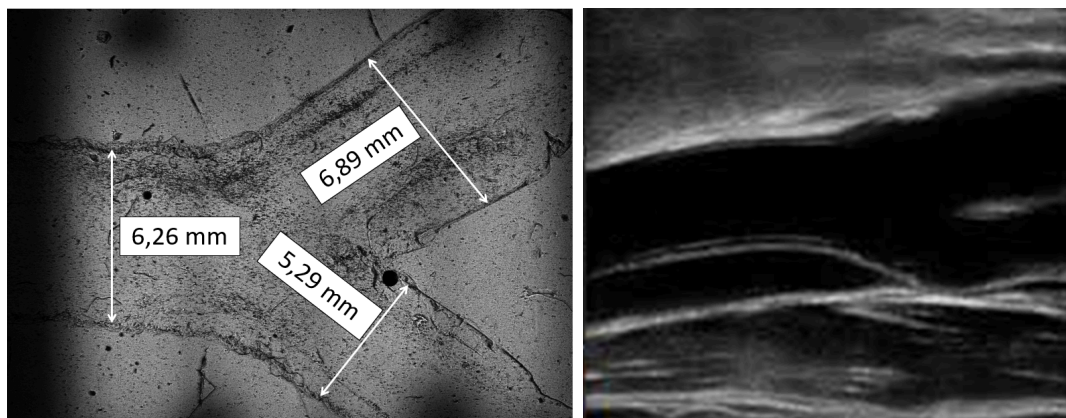


Figura 17: Modelo de bifurcación carotídea con medidas de los diámetros de las vías eferentes (izquierda) y ecografía de una bifurcación carotídea real (derecha). La vía superior es la carótida interna y la inferior la carótida externa.

Centrándonos en el perfil de velocidades presentado en la Fig. 14, observamos un perfil parabólico con una cierta anchura o imprecisión en el valor de la velocidad. Este rango de velocidades no se debe a la imprecisión de la técnica, sino a la propia irregularidad del flujo y el comportamiento de la bomba. La velocidad sufre ligeras variaciones observables a lo largo de la serie de hologramas, como se aprecia en el perfil obtenido entre dos hologramas distintos de una misma serie (Fig. 18).

La velocidad media del flujo en la entrada de una bifurcación carotídea en condiciones fisiológicas es de en torno a 85 mm/s (Vilalta et al, 2008). En nuestro caso, la mayor velocidad que alcanzamos es de alrededor de 9,5 mm/s. La limitación que tenemos en este caso es la capacidad de realizar el seguimiento de las partículas.

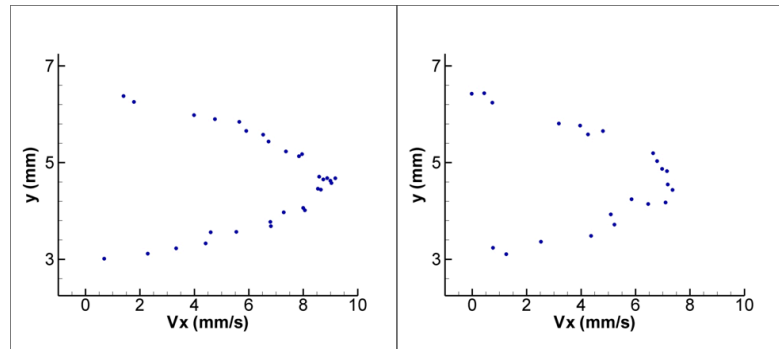


Figura 18: Comparación de los perfiles de velocidad calculados entre dos parejas de hologramas consecutivos diferentes.

Para estudiar el flujo en unas condiciones que simulen a las condiciones *in vivo* se necesitaría una cámara con una frecuencia de captura diez veces superior a los 120 fps que empleamos en este estudio y, probablemente, utilizar una fuente de luz de mayor potencia.

A partir del perfil de velocidades obtenido, podemos estimar el caudal de flujo a la entrada de la bifurcación tratando el campo de velocidades como un cuerpo de revolución. Ajustando los puntos del perfil de velocidades a una función parabólica, estimamos que el caudal es de en torno a 79 mm³/s, o, lo que es lo mismo, 79 μl/s.

Podemos apreciar también cómo la incidencia sobre el ápex de la bifurcación causa que las partículas reduzcan su velocidad (Fig. 16). Este estrés sobre la pared vascular puede llevar al desarrollo de patologías relacionadas con la integridad del vaso, como pueden ser aneurismas (Gallego et al, 2005).

Modelo de aneurisma sacular

Una vez comprobada la viabilidad de la técnica para la caracterización del flujo en el modelo semi-rígido de bifurcación carotídea, se comprueba su desempeño en un modelo flexible. En particular, se pretende estudiar el flujo en un modelo de aneurisma sacular y su interacción con la forma del vaso. Para ello, se registraron diferentes series de hologramas con la fuente láser y con la fuente LED para cada una de las aperturas del iris. Se realizaron tres experimentos incrementando el caudal, mediante el voltaje de alimentación de la bomba.

En este modelo el flujo es claramente tridimensional por lo que para interpretar correctamente el flujo nos ayudaremos de diferentes representaciones. Una de las visualizaciones que facilitan la comprensión del flujo es la representación de las trazas o trayectorias de las partículas. Para obtener estas figuras, en vez de analizar los hologramas como en la sección anterior, se ha calculado la diferencia entre dos hologramas en los cuales el vaso tiene la misma geometría. De esta forma, se obtiene una figura en la que únicamente se aprecian las partículas. Si sumamos todas las figuras que se pueden calcular de esta forma a partir de una serie de hologramas, se obtiene una figura donde aparecen superpuestas las imágenes de cada partícula a lo largo de los 0,825 s que dura la serie, o lo que es lo mismo, su traza.

En la Fig. 19 se muestran las figuras con las trazas obtenidas para los tres caudales empleados, con el iris en posición 5. La gran profundidad de enfoque que esto proporciona causa que todas las partículas aparezcan enfocadas.

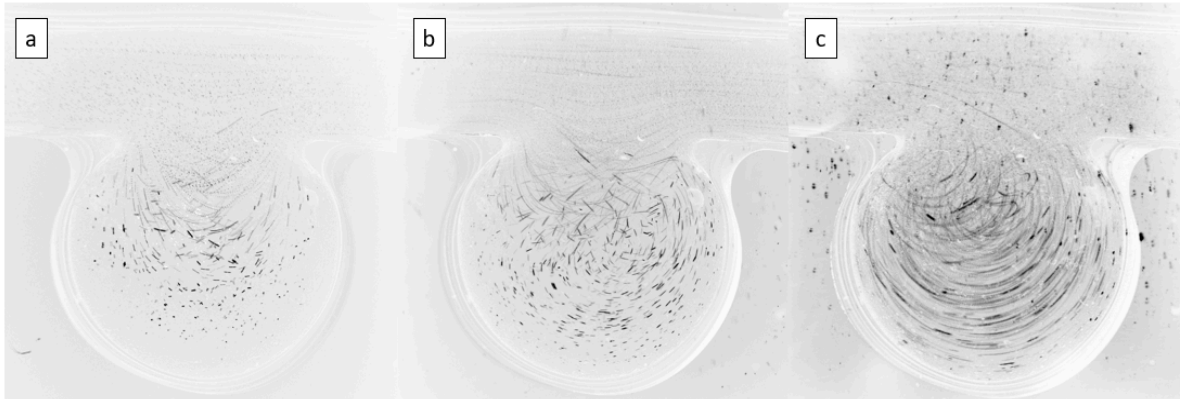


Figura 19: Comparación de las trazas de las partículas a lo largo de una serie de 0,825 s en el interior del modelo de aneurisma sacular a voltajes de bomba a) 10 V, b) 20 V y c) 40 V. El aumento del voltaje resulta en mayor caudal.

Se puede intuir el movimiento global del fluido y la diferencia de velocidades entre el vaso superior y el aneurisma. Sin embargo, al tener superpuestas trazas de partículas que están en distintos planos, el resultado es confuso y es necesario obtener el campo de velocidades tridimensional.

Una de las principales dificultades que hemos encontrado es que, al aumentar el caudal, las paredes del modelo se deforman. Si se utiliza el holograma tras un filtrado gaussiano para eliminar la intensidad de fondo, se mantienen todos los puntos difusores y por lo tanto los que pertenecen a la pared ocultarán las partículas que están en el interior. Sin embargo, este análisis nos permite comprobar cómo se deforma el vaso.

Tampoco se puede usar el promedio de hologramas para eliminar la información de las paredes y estudiar el flujo en el interior del modelo. Por este motivo se utiliza un holograma desplazado, al igual que se ha hecho con las trazas. Se comprobó que con un holograma capturado 48 exposiciones más tarde, la geometría del vaso es similar y se eliminan los puntos difusores que introducen las paredes. Esta separación temporal es adecuada para los tres experimentos y permite maximizar el número de hologramas de cada serie utilizados en los mapas de vectores.

La diferencia de velocidad, obliga a elegir entre seguir correctamente el flujo en el vaso superior o en el aneurisma, ya que requieren tiempo entre exposiciones y volúmenes de interrogación distintos. Se optó por priorizar la caracterización del flujo en el saco aneurismático.

Otra de las dificultades en la presentación de los resultados, es que el volumen de interés comprende un rango en el eje Z (eje óptico) de cerca de 10 mm. En consecuencia, para que las partículas más próximas a la cámara no eclipsen el resto, se debe utilizar una representación fasciculada, permitiendo una mejor comprensión del recorrido que realiza el fluido en el interior del aneurisma. En la Fig. 20 se muestra el campo de velocidades obtenido con las series registradas con la fuente LED y el iris en la posición 0. Se ha dividido en tres secciones de 2 mm de profundidad: justo delante, en torno al plano central y justo detrás.

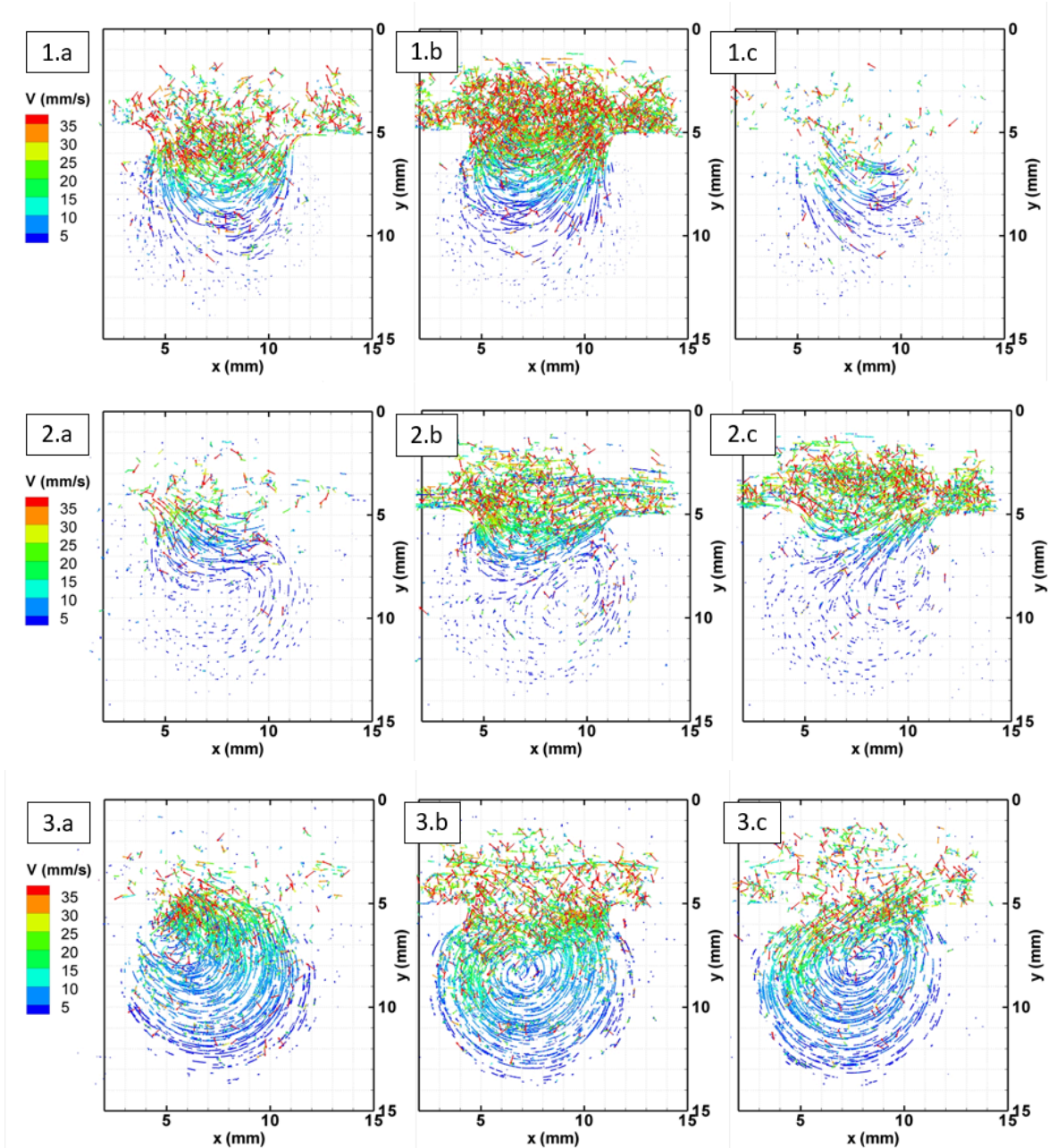


Figura 20: Mapas de velocidades del modelo de aneurisma sacular cuando la bomba tiene una alimentación de 1) 10 V, 2) 20 V y 3) 40 V para a) $-3\text{ mm} < z < -1\text{ mm}$, b) $-1\text{ mm} < z < 1\text{ mm}$ y c) $1\text{ mm} < z < 3\text{ mm}$.

1. Primer caso: bomba a 10 V

Para el caudal más bajo, cuando la bomba tiene un voltaje de 10 V, el flujo es tan calmado que no se mide deformación de las paredes en el vaso. A partir de las imágenes de las trazas (Fig. 19a) se puede concluir que el fluido que llega desde la izquierda se introduce levemente en el aneurisma sin llegar a dar lugar a un flujo turbulento y las zonas más alejadas del vaso permanecen inmóviles.

En el mapa de velocidades (Fig. 20.1), se puede apreciar con más detalle que en el plano central, en el que se encuentra la entrada del aneurisma, el flujo entra casi vertical hacia abajo. No es así en la parte delantera y posterior, donde la trayectoria tiene menor inclinación. Estas diferencias hacen suponer que conforme entra el flujo, se abre también en la dirección Z, aunque no podamos medir con suficiente precisión esta componente de la velocidad para observar este efecto. A la izquierda del

saco las trayectorias son también distintas en las tres secciones, ya que deben converger hacia el plano central donde se juntarán en el vaso.

Las velocidades en el vaso superior superan los 35 mm/s y no se pueden medir correctamente con la frecuencia de captura de la cámara, por lo que aparecen como vectores en direcciones casi aleatorias. No se puede extraer una medida cuantitativa del caudal.

2. Segundo caso: bomba a 20 V

Al aumentar el voltaje de alimentación de la bomba se aumenta el caudal. La principal dificultad asociada a este caso es que las paredes del modelo se deforman. El vaso superior permanece estable y el aneurisma oscila apreciablemente.

Se pueden observar los cambios producidos por esta oscilación de una toma a la siguiente, analizando los hologramas sin quitar la información de las paredes, con la posición 0 del iris. Para ello se resta la intensidad de fondo calculada mediante filtrado gaussiano. Las componentes de la velocidad V_x y V_y en mm/s para dos hologramas consecutivos se presentan en la Fig. 21. Destaca la densidad de puntos difusores seguidos correctamente lo que permite mapear completamente la deformación de la pared delantera del vaso. La deformación de la pared trasera queda oculta, al igual que la velocidad de las partículas trazadoras.

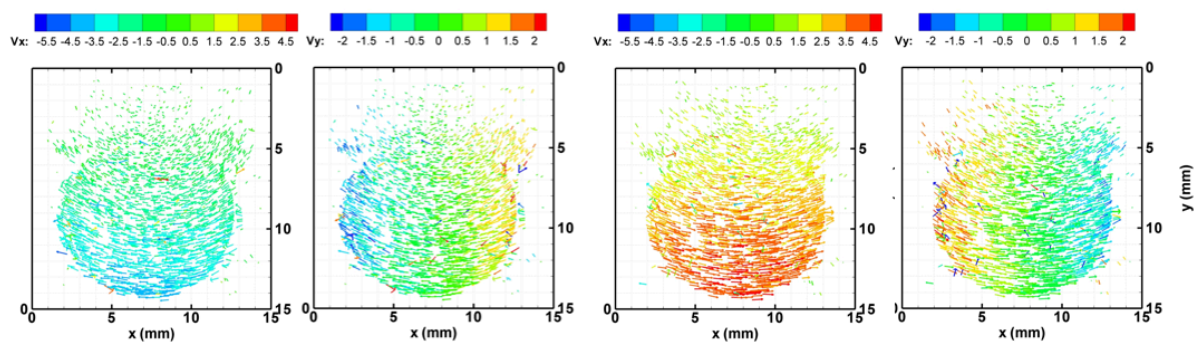


Figura 21: Mapa de velocidades en x e y de las partículas en el interior del aneurisma en dos fotografías consecutivas.

Para poder conocer el motivo de esta oscilación, es conveniente conocer el patrón de flujo en el interior del modelo. Nuevamente, nos valemos de la representación de las trazas utilizando la serie de hologramas registrados con la posición 5 del iris (Fig. 19b).

Esta representación permite distinguir dos patrones de flujo superpuestos. En la zona superior del modelo, vemos cómo el flujo del vaso se introduce en el aneurisma. Sin embargo, a diferencia del caso anterior, la velocidad del flujo no le permite reincorporarse al vaso con la misma facilidad, incidiendo éste sobre la pared izquierda del modelo, lo que probablemente contribuya a la deformación del saco aneurismático.

La otra parte de las partículas que entran en el saco se desvían hacia abajo, volviendo hacia la porción inferior derecha del aneurisma, y provocando un gran movimiento circular. Estas partículas siguen el recorrido de las paredes en sentido antihorario hasta completar la vuelta y reincorporarse al flujo del vaso, formando una especie de lazo. En el centro de este bucle se genera un remolino ligeramente desplazado hacia la derecha.

Cuando nos centramos en el remolino, algunos de los patrones de flujo pierden su forma y el resultado es confuso. Esto se debe a que algunas partículas se mueven también en la dirección del eje óptico, y dejamos de visualizarlas.

También se aprecian trazas que no parecen corresponder a ninguno de estos dos patrones. Lo más probable es que se trate de partículas pertenecientes a otros planos.

Utilizando el campo de velocidades de esta misma serie (Fig. 20.2), observamos algo parecido en el vaso superior: la velocidad en el vaso y la concentración de partículas son demasiado altas para dar medidas correctas de velocidad. Nos centramos por tanto en el flujo del interior del aneurisma.

En cuanto a las trayectorias, apreciamos patrones similares a la Fig. 19b, pero somos capaces de discriminar entre las partículas que entran al saco por la zona más próxima a la cámara (Fig. 20.2.a) y salen por la más distal (Fig. 20.2.c). Las velocidades de las partículas que forman el lazo tienen velocidades considerablemente inferiores a las que se encuentran en la entrada del aneurisma.

Cuando nos topamos con este tipo de aneurisma *in vivo*, lo que se observa es un cambio en la composición de la pared vascular en la que hay un engrosamiento de la túnica íntima con un recubrimiento de tejido hialino fibroso, la desaparición de la membrana elástica interna y de la capa muscular y una túnica adventicia de grosor variable. La región del fundus se compone básicamente de tejido hialino fibroso, con apenas elastina para mantener su flexibilidad (Gallego et al, 2005). Esta pérdida de elasticidad lleva a que la constante incisión del flujo sobre una región concreta del fundus lleve tanto al crecimiento del aneurisma como a su consiguiente ruptura, cosa que en nuestro modelo no es posible debido a la flexibilidad del material.

Es por esta incidencia de flujo que, por lo general, el desarrollo de estas patologías se da o bien en la zona del ápex de las bifurcaciones en arterias mayores o en el nacimiento de vasos menores en que se genera una estructura similar. El ápex debería ser el punto más reforzado a nivel de pared vascular, pero a menudo se encuentra debilitado. El choque con la propia pared genera turbulencias que ocasionan la vibración del vaso, lo que causa un daño estructural. Este fenómeno no sólo es relevante en el caso de las bifurcaciones, sino que se ve acentuado en los casos en que existen defectos en la elastina, como es el de los aneurismas (sean o no laterales), por lo que la propia vibración ocasionada por el flujo lleva a la debilitación y ruptura del saco aneurismático (Gallego et al, 2005).

3. Tercer caso: bomba a 40 V

En el tercer experimento se duplica el voltaje de alimentación de la bomba, y dado que se trabaja dentro del rango de comportamiento lineal, resulta razonable considerar que el caudal también se ha duplicado. No es posible comprobarlo cuantitativamente, como en los casos anteriores. Para este caudal, el modelo también se deforma, oscilando de forma similar al experimento con 20V.

Cuando observamos la trayectoria de las partículas por su trazado (Fig. 19c), lo primero que se aprecia es que la longitud de las trazas es mayor, lo que indica que las velocidades son mayores, incluso dentro del saco. Se observa un movimiento circular centrado en el aneurisma. Podemos suponer que, aunque no se visualice, necesariamente hay una componente de la velocidad en la dirección axial no despreciable. Ya que de lo contrario no sería posible el cumplimiento de la ecuación de continuidad. Además hay otras trayectorias circulares abiertas en la parte superior izquierda que resultan confusas en esta visualización, y que se aclaran con las medidas del campo de velocidades.

En el plano central del campo de velocidades se aprecia únicamente un gran remolino que ocupa todo el saco aneurismático (Fig. 20.3). Al observar lo que ocurre en el plano delantero y trasero se observa una asimetría en el eje Z: las partículas que entran por la derecha lo hacen por el plano central y la parte de atrás (Fig 20.3c), mientras que salen por el plano central y la parte de delante (Fig 20.3.a). Esto explica las trayectorias de la Fig. 19c y coincide con la interpretación anterior de que hay una componente V_z no despreciable. El mapa de velocidades permite aclarar que el flujo en el interior del saco, forma un remolino que lo recorre en sentido antihorario y se reincorpora al vaso

desde la parte de la derecha. Observando de nuevo la figura 19c, se observa la traza de una partícula que se incorpora al vaso superior desde la esquina de la derecha en una trayectoria prácticamente a 45° hasta que toma la línea central del vaso.

Conclusiones

A lo largo de este trabajo se ha demostrado que la holografía digital en línea con luz de baja coherencia y apertura lateral puede ser utilizada para la visualización de flujos tridimensionales. La aplicación de esta técnica permite reducir el ruido introducido por las paredes de los modelos de vasos. Por otra parte, también se ha comprobado que la baja coherencia espacial compromete la precisión en la localización de las partículas, por lo que hay que llegar a un valor compromiso. El uso de un iris de diámetro regulable a la salida del LED permite ajustar la coherencia espacial más adecuada a cada caso.

Se ha obtenido el mapa de velocidades 3D en un modelo de bifurcación carotídea semi-rígido, observándose un flujo laminar y obteniéndose el perfil de velocidades en la vía aferente para diferentes instantes de tiempo.

Se ha estudiado además el flujo de un modelo de aneurisma sacular flexible con distintos caudales. Eligiendo la posición del iris y el análisis más adecuado, se ha medido la deformación del saco aneurismático, el campo de velocidades tridimensional y se ha obtenido la imagen de las trazas dentro del modelo. Se han observado distintos patrones de flujo dependiendo de la potencia ejercida por la bomba. Dichos patrones son coherentes con los procesos de desarrollo de patologías asociadas a las situaciones en estudio.

Se propone como trabajo futuro la adecuación del sistema de circulación a condiciones más cercanas a los flujos *in vivo*. En particular, el uso de una bomba que permita imponer un flujo pulsado con caudal conocido, el uso de fluidos con una viscosidad más reducida y el uso de un modelo de bifurcación flexible..

Conclusions

Throughout this work, it has been demonstrated that inline digital holography with low coherence light and lateral aperture can be used for the visualization of three-dimensional flows, enabling the measurement of three-dimensional velocities. The application of this technique allows the reduction of noise introduced by the vessel walls. On the other hand, it has been proved that low spatial coherence compromises the precision in particle location, so a compromise value must be achieved. The use of an adjustable-diameter iris at the LED light emission point allows the setting of the most appropriate spatial coherence for each instance.

A 3D velocity map in a semi-rigid carotid bifurcation model has been successfully obtained. A laminar flow has been observed, obtaining the velocity profile in the afferent pathway for different instants in time.

Additionally, we studied the flow in a flexible saccular aneurysm model at various velocities. Choosing the appropriate iris position and analysis, the deformation of the aneurysmal sac and the tridimensional velocity map have been measured and the image of the particles traces inside of the model has been obtained. Several flow patterns have been observed depending on the power exerted by the pump. Said patterns are coherent with the developmental processes of pathologies associated with the studied situations.

For future work, we propose the adaptation of the flow conditions to better resemble *in vivo* conditions. Particularly, the use of a pulsatile flow pump with a known flow, of fluids with a lower viscosity and of a flexible bifurcation model.

Bibliografía

1. Climente, M. G., Lobera, J., Palero, V., & Arroyo, M. P. (2019, June). Matched filter applied to discriminate particles with different sizes in biological flows. In *Optical Methods for Inspection, Characterization, and Imaging of Biomaterials IV* (Vol. 11060, pp. 38-44). SPIE.
2. Gallego, J. I., & García, E. G. (2005). Formación y crecimiento de los aneurismas saculares. *Archivos de medicina*, 1(2), 2.
3. Lim, S., Jeon, H., Ahn, S., & Hahn, J. (2022). Optimal spatial coherence of a light-emitting diode in a digital holographic display. *Applied Sciences*, 12(9), 4176.
4. Lobera, J., Palero, V., Roche, E. M., Climente, M. G., López, A. M., Andrés, N., & Arroyo, M. P. (2017, June). Multiplexed two in-line holographic recordings for flow characterization in a flexible vessel. In *Optical Methods for Inspection, Characterization, and Imaging of Biomaterials III* (Vol. 10333, pp. 75-84). SPIE.
5. López, A. M., Lobera, J., Andrés, N., Subías, A., Roche, E. M., Torcal, F. J., ... & Palero, V. (2024). Double field of view digital sideband holography as an optimized method to measure velocity fields in a large fluid volume. *Optics and Lasers in Engineering*, 175, 107993.
6. Palero, V., Lobera, J., Andrés, N., & Arroyo, M. P. (2014). Shifted knife-edge aperture digital in-line holography for fluid velocimetry. *Optics letters*, 39(11), 3356-3359.
7. Palero, V. R., Lobera, J., & Arroyo, M. P. (2010). Three-component velocity field measurement in confined liquid flows with high-speed digital image plane holography. *Experiments in fluids*, 49, 471-483.
8. Prasad, A. K. (2000). Stereoscopic particle image velocimetry. *Experiments in fluids*, 29(2), 103-116.
9. Scarano, F. (2012). Tomographic PIV: principles and practice. *Measurement Science and Technology*, 24(1), 012001.
10. Schnars, U., Falldorf, C., Watson, J., Jüptner, W., Schnars, U., Falldorf, C., ... & Jüptner, W. (2015). Fundamental Principles of Holography. *Digital Holography and Wavefront Sensing: Principles, Techniques and Applications*, 5-38.
11. Vilalta, G., Dago, Y., O'connor, J., Calas, H., & Figueredo, J. (2008). Análisis de la variación del flujo sanguíneo en la bifurcación carótida con diferentes grados de estenosis, utilizando MEF. *Ingeniería Mecánica*, 11(2), 21-28.