



TESIS DE DOCTORADO

Estudio interferométrico de las
propiedades ópticas de cristalinos y
su relación con la estructura
histológica

Firmado

Ana Gargallo Fernández

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA VISIÓN

FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

SANTIAGO DE COMPOSTELA 2015



AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

Dña. Eva María Acosta Plaza, Profesora de Departamento de Física Aplicada

D. Justo Arines Piferrer, Profesor del Departamento de Física Aplicada

Como Directores de la Tesis de Doctorado titulada «Estudio interferométrico de las propiedades ópticas de cristalinos y su relación con la estructura histológica»

Presentada por Dna. Ana Gargallo Fernández, Alumna del Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión.

Autorizan la presentación de la tesis indicada, considerando que reúne los requisitos exigidos en el artículo 34 del reglamento de Estudios de Doctorado, y que como Directores de la misma no incurre en las causas de abstención establecidas en la ley 30/1992.

En Santiago de Compostela, a 4 de noviembre de 2015

Fdo. Dña. Eva María Acosta Plaza

Fdo. D. Justo Arines Piferrer



PROYECTOS

Esta tesis ha sido realizada con ayuda del proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad (FIS2012-38244) y del Plan I2C de Apoyo a la etapa Predoctoral (Xunta de Galicia).





PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS

Ana Gargallo, Justo Arines y Eva Acosta. "Lens aberrations and their relationship with lens sutures for species with Y-suture branches." Journal of Biomedical Optics Vol. 18, No. 2, 1-7 (2013)

Ana Gargallo, Justo Arines, Eva Acosta. "Effect of the holding setup on the measurement of the crystalline lens aberrations" Proc. of SPIE Vol. 8001 800138-1 (2011)

Antía Blanco, Ana Gargallo y Eva Acosta. "Point diffraction interferometry for the rotational symmetry analysis in fish lenses" Optica Pura y Aplicada. Vol.47, No. 4, 321-328 (2014)

Santiago Vallmitjana, Isaac Ricart, Salvador Bosch, Ana Gargallo y Eva Acosta. Point diffraction interferometry to measure local curvatures and caustics of noisy wave fronts: Application for determining optical properties of fish lenses J.European Optical Society-Rapid Vol. 10, 15010 (2015)

COMUNICACIONES EN CONGRESOS RELACIONADAS CON LA TESIS

Ana Gargallo, Justo Arines y Eva Acosta "Lens astigmatism and its relationship with lens structure for species with Y-suture branches". 5th European Meeting on Visual and Physiological Optics. Sociedad Europea de Óptica. Estocolmo (Suecia), Agosto 2010

Ana Gargallo, Justo Arines y Eva Acosta "Effect of the holding setup on the measurement of the crystalline lens aberrations". International Conference: Applications of Optics and Photonics (AOP 2011). Portuguese Society for Research and Development of Optics and Photonics, SPOF. Braga (Portugal) Mayo 2011

Ana Gargallo, Justo Arines y Eva Acosta. "Effect of lens histology in optical aberrations" 6th European Meeting on Visual and Physiological Optics. Sociedad Europea de Óptica. Dublín (Irlanda). Agosto 2012

Ana Gargallo , Justo Arines y Eva Acosta. "El origen histológico de las aberraciones del cristalino" Sesiones plenarias: X Reunión nacional de óptica. Sociedad Española de Óptica. Zaragoza. Septiembre 2012

Ana Gargallo, Justo Arines y Eva Acosta. "Efecto de las suturas del cristalino sobre las aberraciones" I Reunión de la Sociedad Gallega de Optometría Clínica (SGOC). Santiago de Compostela, Octubre 2012

Ana Gargallo. "Acomodación" Mesa Redonda de Presbicia. II Reunión de la Sociedad Gallega de Optometría Clínica (SGOC). Santiago de Compostela, Noviembre, 2013

Ana Gargallo. "Estudio interferométrico de las aberraciones del cristalino y su relación con la estructura histológica". II Encontro Mocidade Investigadora EDI-USC. Enero 2014

Ana Gargallo Fernandez, J. Arines, E. Acosta. "Point diffraction interferometry of spherical fish lenses: Changes in aberrations with lens position" II International Conference: Applications of Optics and Photonics (AOP 2014). Portuguese Society for Research and Development of Optics and Photonics, SPOF. Aveiro (Portugal) Mayo 2014

A. Gargallo, J. Arines, E. Acosta "Focusing properties of multifocal fish lens analyzed with point-diffraction interferometry" 1st World Meeting in Visual and Physiological Optics (7th European Meeting). Wroclaw (Polonia). Agosto 2014

Santiago Vallmitjana, Isaac Ricart, Salvador Bosch, Ana Gargallo and Eva Acosta "Point diffraction interferometry to measure local curvatures and caustics of noisy wave fronts EOSAM. Berlín (Alemania). Septiembre 2014

Antía Blanco Bernárdez, Ana Gargallo Fernández, Eva Acosta Plaza
“Interferometría de difracción por punto para cuantificación de la esfericidad de los cristalinos de peces” VISER meeting. Santiago de Compostela (España).
Noviembre 2014

Ana Gargallo, Antía Blanco, Eva Acosta, Santiago Vallmitjana, Isaac Ricart, Salvador Bosch. “Caracterización óptica de los cristalinos de peces mediante interferometría de difracción por orificio”. XI Reunión Nacional de Óptica, Salamanca, Septiembre 2015





AGRADECIMIENTOS

Han sido casi seis de años de trabajo dedicados a esta tesis y mucha gente que, de una manera u otra, ha contribuido a que hoy esté aquí presentándome para obtener el título de doctora. Por este motivo me gustaría dedicar unas palabras de agradecimiento a cada uno de ellos.

En primer lugar tengo que dar las gracias a la Prof. Eva María Acosta Plaza, directora de esta tesis. Nos encontramos por casualidad cuando le asignaron ser mi tutora del trabajo fin de máster. Al principio me asusté porque yo venía de la parte más clínica de mi profesión y no me sentía capaz de realizar un trabajo en Óptica Visual. No obstante, ella creyó en mí y me dio la oportunidad de realizar el doctorado bajo su dirección. Sin su ayuda y apoyo nunca hubiera alcanzado este logro. Tras estos años además de una referencia profesional la considero una amiga.

Agradezco en este sentido también a mi codirector, el Dr. Justo Arines Piferrer. No sólo por la parte académica y la ayuda en la parte experimental, sino además por ser animador en los momentos donde los ánimos flaqueaban y por bajarme a la tierra cuando mi cabeza se dispersaba, que es una tendencia habitual en mí.

El capítulo 4 no hubiera sido posible sin la colaboración del *Grup d'Òptica Física i Fotònica* de la Universitat de Barcelona. Especialmente agradezco al Prof. Santiago Vallmitjana, al Prof. Salvador Bosch y a mi compañero de laboratorio D. Isaac Ricart que me acogieron en su grupo y en su ciudad, siempre dispuestos a trabajar con ilusión en la caracterización de los ojos de peces.

Para terminar con la parte que contribuyó a esta tesis desde el punto de vista académico, tengo que hacer mención a las estancias realizadas en el extranjero. Aunque los experimentos realizados no se incluyan en este documento me ayudaron a conocer nuevas maneras de trabajar en investigación y abrirme a nuevos proyectos. Mi estancia en la Universidad de Antioquia, en Medellín (Colombia), me aportó una de las mejores experiencias de mi vida y gran parte es debida a la gente del *Grupo de Óptica y Fotónica*, sobretodo al Prof. Alejandro Mira y a D. Walter Carnero. Del *Grupo de Optometria e Ciências da Visão* de la Universidade do Minho, en Braga (Portugal), me llevo amigas, Helena y Laura, y futuras líneas de colaboración, todo gracias al Prof. José Manuel Méijome que me facilitó la estancia allí.

Por supuesto la ayuda de Ana, la veterinaria del matadero, ha sido clave para la obtención de los cristalinos del capítulo de 3.

Las infinitas horas que se pasan en el laboratorio no serían lo mismo sin otros compañeros que, aunque no participen en las mismas líneas de investigación que yo, siempre han estado presentes para amenizar ese tiempo y embarcarme en otros proyectos. Con esto me refiero a los miembros del Área de Óptica de la Universidad de Santiago de Compostela. Me gustaría resaltar a Dña. Ana Alonso, que con su paciencia para escuchar y su trabajo bien hecho ha contribuido numerosas veces a mi tesis. También me llevo grandes amigos con los que conviví durante el doctorado, quizá por encontrarnos en el mismo punto de nuestras vidas nos entendemos a la perfección y cuento con vosotros para el futuro, Doña Ana Isabel Gómez y el Dr. Héctor González. Por su supuesto muchas gracias también a los demás compañeros del USC-OSA Student Chapter por esos divertidos momentos luchando para hacer más visible entre la población nuestro trabajo en Óptica y Fotónica.

Asistir a congresos para presentar este trabajo me ha permitido conocer a gente donde siempre encuentro apoyo en el ámbito profesional y personal. Merecen estar en este apartado los miembros del Área Joven de SEDOPTICA, la ciencia nos juntó para formar este proyecto y la amistad surgió y permanece, por eso sois una parte esencial de este periodo.

Mi profesión y mi personalidad inquieta me tiende a unir a gente con las mismas perspectivas profesionales e iniciativa, por ello fundamos la Sociedad Gallega de Optometría Clínica. Los miembros de ésta me han acompañado en esta etapa, en particular su presidente D. Pablo Charlón, al que quiero agradecer ser un ejemplo de buen hacer e ilusión, además de un gran amigo.

Y no puedo dejar de incluir mi esfera más personal en los agradecimientos. A mis grandes amigos Arturo Ortín, Lucía Hervella, Tamara Fernández, Noelia Ferreira, Miguel Pato, Sergio Espí, Sharay López, Andrés Carballo, Elena López, Erika Fernández, Enrique Camino, Ana Vizcaíno, Maribel Cruz, Natalia Barril, Susana Rodríguez, gracias por el apoyo e interés y por esos momentos de diversión sin hablar de láseres y aberraciones tan necesarios cuando el estrés aparece. Todo esto es también parte vuestra.

Por último, pero quizás lo más importante, está mi familia. Mis padres y su gran esfuerzo e ilusión para que esté hoy aquí es el principal motor de mi vida y mi trabajo, aunque hubo momentos muy duros durante esta época me he sentido

arropada y comprendida por vosotros, por eso os lo agradezco de todo corazón. Tengo la suerte de tener una familia muy grande y que siempre me ha apoyado, me gustaría mencionar uno a uno pero me extendería demasiado, así que miles gracias a todos por enseñarme los valores de respeto, trabajo, esfuerzo y unidad que me han convertido en quién soy. En especial gracias a mis abuelos que son un ejemplo a seguir, no sería la misma sin vosotros y por tanto esta tesis tampoco.



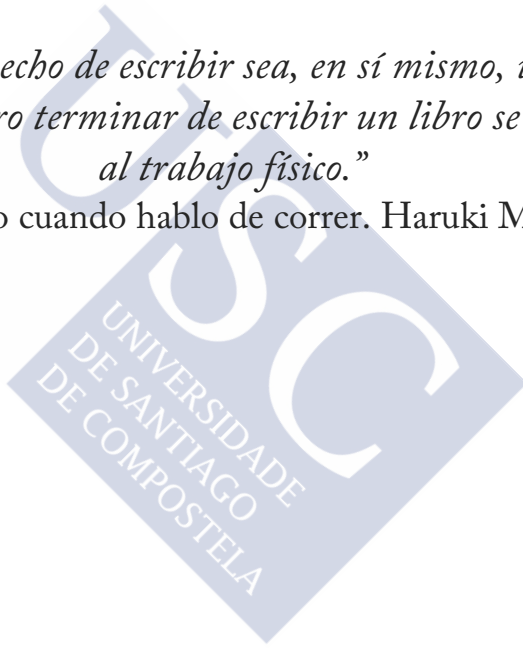


“La vida no es la que uno vivió sino la que uno recuerda y cómo la recuerda para contarla.”

Vivir para contarla. Gabriel García Márquez

“Tal vez el hecho de escribir sea, en sí mismo, una labor intelectual. Pero terminar de escribir un libro se parece más al trabajo físico.”

De qué hablo cuando hablo de correr. Haruki Murakami





ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO 1	9
CARACTERÍSTICAS ÓPTICAS Y BIOLÓGICAS DEL CRISTALINO	9
1.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DEL CRISTALINO	9
1.1.1 REPASO ANATOMOFISIOLÓGICO DEL CRISTALINO	9
1.1.2 EMBRIOLOGÍA	13
1.1.3 HISTOLOGÍA	16
1.2 CARACTERÍSTICAS ÓPTICAS BÁSICAS DEL CRISTALINO	21
1.3 LAS ABERRACIONES ÓPTICAS DEL CRISTALINO	22
1.3.1 LAS ABERRACIONES DE FRENTE DE ONDA	23
1.3.2 ABERRACIONES DEL CRISTALINO	27
1.3.3 MÉTODOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACIÓN DE LAS ABERRACIONES DEL CRISTALINO	29
CAPÍTULO 2	35
EL INTERFERÓMETRO DE DIFRACCIÓN POR ORIFICIO	35
2.1 INTRODUCCIÓN	35
2.3 MONTAJE DEL IDO	45
2.4 INTERPRETACIÓN DE LOS INTERFEROGRAMAS	47
2.5 ANÁLISIS DE LOS INTERFEROGRAMAS	50
CAPÍTULO 3	53
ABERRACIONES ÓPTICAS DE CRISTALINOS CON SUTURAS EN Y	53
3.1 INTRODUCCIÓN	53
3.2 EXTRACCIÓN Y PREPARACIÓN DEL CRISTALINO	53
3.3 MONTAJE DEL IDO PARA EL ESTUDIO DE CRISTALINOS CON PATRÓN DE SUTURAS EN FORMA DE “Y” (CERDOS, VACAS Y OVEJAS)	55
3.3.1 MONTAJE EXPERIMENTAL	55
3.3.2 ANÁLISIS DE LOS INTERFEROGRAMAS	56
3.4 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE SUJECCIÓN DEL CRISTALINO	60
3.4.1 METODOLOGÍA	61
3.4.2 RESULTADOS	62

3.4.3 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE SUJECIÓN	65
3.5 ANÁLISIS DE LOS CRISTALINOS CON SUTURAS EN “Y”	66
3.5.1 METODOLOGÍA	67
3.5.2 RESULTADOS	67
CAPÍTULO 4	75
CARACTERIZACIÓN ÓPTICA DE CRISTALINOS DE PECES TELEÓSTEOS	75
4.1 INTRODUCCIÓN	75
4.2 MEDIDA DE LAS ABERRACIONES DE LOS CRISTALINOS DE PECES CON EL IDO.	77
4.2.1 EXTRACCIÓN DE LOS CRISTALINOS DE PECES	77
4.3.1 CRISTALINOS	84
4.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL DE IDO PARA ESTUDIO DE LA ESFERICIDAD DE CRISTALINO	85
4.3.3 TOMA DE MEDIDAS Y ANÁLISIS DE LOS INTERFEROGRAMAS	86
CAPÍTULO 5	107
LA INFLUENCIA DE LAS SUTURAS DEL CRISTALINO EN SU CALIDAD ÓPTICA	107
5.1 INTRODUCCIÓN	107
5.2 CONSIDERACIONES PREVIAS	108
5.3 INFLUENCIA DEL TIPO DE SUTURA EN LAS ABERRACIONES DEL CRISTALINO	109
5.3.1 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS UMBILICALES: ANÁLISIS DE CRISTALINOS DE PECES TELEÓSTEOS	109
5.3.2 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS LINEALES: CRISTALINOS DE CONEJOS Y ANFIBIOS	112
5.3.3 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS EN Y: ANÁLISIS DE CRISTALINOS DE VACAS, CERDOS Y OVEJAS	114
5.3.4 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS EN ESTRELLA: CRISTALINOS DE PRIMATES Y HUMANOS	116
CONCLUSIONES	123
BIBLIOGRAFÍA	127

INTRODUCCIÓN





INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, con el aumento de las cirugías refractivas y una mayor exigencia de calidad visual por parte de la población, el interés por las aberraciones oculares ha incrementado. Este hecho supuso el desarrollo de nuevos instrumentos de medidas y métodos de corrección de la óptica ocular.

Por tanto, la génesis de las aberraciones es de especial interés en este campo y los estudios sobre este tema son numerosos. Se ha visto que la calidad óptica del ojo depende de la calidad óptica de sus elementos refractivos por separado, que son lentes biológicas cuyas características histológicas podrían ejercer una influencia medible sobre sus aberraciones.

Los tejidos del organismo son opacos debido a la absorción y a la dispersión de la luz que incide sobre ellos. En el ojo, sin embargo, encontramos tejidos transparentes debido a que, por un lado, sus componentes biomoleculares apenas absorben en el espectro visible y, por otro, su organización interna difiere de la de otros tejidos disminuyendo la dispersión.

Entre los tejidos transparentes del globo ocular englobamos el vítreo, la córnea y el cristalino. El vítreo es un gel viscoelástico con pocas células y ópticamente neutro (Bassnet, Shi, & Vrensen, 2011). La tarea de focalizar la luz sobre la retina recae principalmente sobre la córnea y el cristalino, por ello se consideran los mayores componentes refractivos del ojo y las aberraciones de cada uno de ellos contribuyen a la calidad de la imagen visual.

Se estima que en ojos jóvenes una proporción de aberraciones corneales son compensadas por las del cristalino. No obstante, los descentramientos e inclinaciones de los componentes oculares no son suficientes para explicar la compleja estructura del patrón de aberración de onda ocular total. Se ha visto que este patrón cambia con la edad, la acomodación y la cirugía y patología oculares (Marcos, 2006) (Artal & Tabernero, 2008).

El estudio exhaustivo de las aberraciones ópticas oculares permite diseñar instrumentos que proporcionen una imagen de alta calidad de la retina para evaluar su salud. Además, conocer el origen de estas aberraciones en busca de compensaciones que contribuyan a una mejor imagen retiniana puede llevar al diseño de nuevas lentes intraoculares y tratamientos de corrección de ametropías.

Dada la importancia sanitaria y socioeconómica que representa el estudio de la calidad óptica, se hace necesario el desarrollo de técnicas de medida más precisas de la óptica ocular y de elementos oftálmicos, así como de sistemas que corrijan las imperfecciones visuales de manera quirúrgica (lentes intraoculares) o con ayudas ópticas (lentes oftálmicas y lentes de contacto).

En la literatura encontramos diferentes aportaciones y hallazgos sobre la génesis de aberraciones ópticas en el globo ocular. La evidencia reciente sugiere que el cristalino no sólo tiene un papel en la compensación de la aberración esférica de la córnea, sino también en la compensación de las demás aberraciones (Taberero, Benito, Alcon, & Artal, 2007) (Guirao, Redondo, & Artal, 2000) (Artal, Berrio, Guirao, & Piers, 2002), aunque estudios previos sugirieron que no existía tal compensación (Millodot & Sivak, 1979) (Sivak, 1982).

Debido a las características histológicas especiales que contribuyen a la transparencia de los tejidos refractivos del ojo, pensamos que debe existir una relación entre la organización celular de la córnea, el cristalino, y la calidad óptica de éstos. Esta distribución histológica que minimiza la absorción y la dispersión de luz puede ser también un origen de las aberraciones oculares.

En el caso del cristalino, su situación en el interior del globo ocular hace difícil su caracterización óptica. Algunos estudios *in vitro* han relacionado la estructura histológica del cristalino con sus aberraciones (Kuszek, Peterson, Sivak, & Herbert, 1994) (Kuszek, Sivak, & Weerheimt, 1991) (Sivak, Herbert, Peterson, & Kuszek, 1994) (Roorda & Glasser, 2004) (Borja, et al., 2008). Sin embargo, creemos que los métodos empleados no son suficientemente precisos para demostrar esta afirmación.

Recientemente, se han utilizado técnicas interferométricas para la caracterización de elementos ópticos altamente aberrados como el cristalino (Acosta, Chamadoira, & Blendowske, 2006) (Acosta, Vazquez, & Rodriguez-Castillo, 2009) (Acosta, Bueno, Schwartz, & Artal, 2010). Estas técnicas emplean un interferómetro de difracción por punto modificado, denominado interferómetro de difracción por orificio (IDO), que proporciona un mapa continuo de las diferencias de camino óptico entre un frente de onda esférico de referencia y el frente de onda aberrado que introduce el elemento óptico a estudiar, en nuestro caso el cristalino.

El IDO ha demostrado ser muy útil en la inspección de cristalinos, debido a que presenta una buena precisión en las medidas, un importante número de puntos de muestreo y un gran rango dinámico, además de la ventaja adicional de una fácil interpretación visual de los resultados. También permite la visualización directa y simultánea de las franjas de isofase y las suturas cristalinas, proporcionando información sobre su comportamiento óptico en relación al patrón de suturas y el ruido biológico, que no pueden ser observadas con otras técnicas empleadas habitualmente para este fin, como el trazado de rayos láser.

El objetivo principal de este trabajo es caracterizar ópticamente cristalinos de diferentes especies, de peces a humanos, con un método preciso y relacionar la estructura de suturas con sus aberraciones ópticas. Para alcanzar este objetivo, hemos empleado el IDO en la caracterización de cristalinos ya que nos permite observar las suturas y las aberraciones al mismo tiempo.

A continuación presentamos el esquema de este trabajo:

En el capítulo 1 describimos las características ópticas y biológicas del cristalino, prestando especial interés a su histología. Además explicaremos las ventajas e inconvenientes de los diferentes métodos empleados hasta ahora para el estudio de sus aberraciones.

En el capítulo 2 realizaremos una descripción teórica del interferómetro de difracción por orificio y explicaremos su funcionamiento básico general para el análisis de cristalino, así como la interpretación de los resultados obtenidos. Las modificaciones

introducidas en el montaje experimental para cada tipo de cristalino serán explicadas en los capítulos siguientes.

Los capítulos 3 y 4 muestran los resultados del análisis de cristalinos con patrón de sutura en Y, y cristalinos esféricos de peces, respectivamente.

El capítulo 5 comprende una discusión de los resultados anteriores y la descripción de las aberraciones del cristalino en función de la evolución de sus suturas, tanto en peces como humanos, basándonos en los resultados obtenidos en este trabajo y los descritos en la literatura.

Por último, estableceremos las conclusiones derivadas de este trabajo.



**ESTUDIO INTERFEROMÉTRICO
DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS
DE CRISTALINOS Y SU
RELACIÓN CON LA
ESTRUCTURA HISTOLÓGICA**

UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA



CAPÍTULO 1

CARACTERÍSTICAS ÓPTICAS Y BIOLÓGICAS DEL CRISTALINO

El cristalino es un tejido muy especializado cuya función es afinar el enfoque de las imágenes sobre la retina. Para llevar a cabo esta función debe ser transparente, presentar un índice de refracción superior al del medio en el que está suspendido y tener unas superficies de refracción con la curvatura adecuada que, a su vez, en algunos casos como en el humano, debe poder variar para facilitar el enfoque de los objetos próximos por parte del sistema óptico.

Por tanto, el objetivo de este capítulo es ofrecer una visión del cristalino como estructura biológica que posee propiedades ópticas, prestando especial atención a sus características histológicas. La explicación detallada de su histología y desarrollo embrionario ayudará a entender mejor los mecanismos biológicos que afectan a la calidad óptica del cristalino y que estudiaremos en este trabajo.

Comenzaremos haciendo un repaso anatomofisiológico del cristalino, para continuar con una descripción de la embriología, la histología y el desarrollo de las suturas. Finalizaremos este capítulo explicando sus propiedades ópticas y los métodos más utilizados para la medida de sus aberraciones.

1.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DEL CRISTALINO

1.1.1 REPASO ANATOMOFISIOLOGICO DEL CRISTALINO

Para muchos animales el sentido de la vista es el vínculo más importante con el medio que los rodea. La adaptación a los diferentes climas y terrenos es vital para la supervivencia de los animales, esto lleva

consigo el desarrollo de diferentes ojos. El cristalino es un elemento común en los ojos de todos los vertebrados, sin embargo existen diferencias en su forma y tamaño. Presenta una geometría de esferoide oblato asimétrico (más plano en los polos). Por ejemplo, en los humanos la cara anterior presenta una curvatura menor que la cara posterior. Por el contrario, el cristalino de los peces es prácticamente esférico. El tamaño de esta lente también varía con la especie y con la edad, ya que, como se comentará más adelante, crece durante toda la vida. (Kuszak & Costello, 2004).

Por tanto, podemos generalizar que el cristalino de los vertebrados es una lente transparente biconvexa aplanada de delante a atrás, que se sitúa entre la córnea y la retina. Se mantiene en su posición gracias a la unión al mecanismo muscular de acomodación y a su unión al cuerpo vítreo (figura 1.1).

Como se puede observar en la figura 1.1, la cara anterior del cristalino está en contacto con el humor acuoso y la parte posterior está inmersa en el humor vítreo. Es un órgano avascular no inervado, es decir, no contiene vasos sanguíneos ni nervios, por lo que realiza todos los intercambios de nutrientes y desechos a través de la cápsula, esto explica su frágil metabolismo, de ahí que exista la posibilidad de opacificación o catarata (Saraux, Lemasson, Offret, & Renard, 1985).

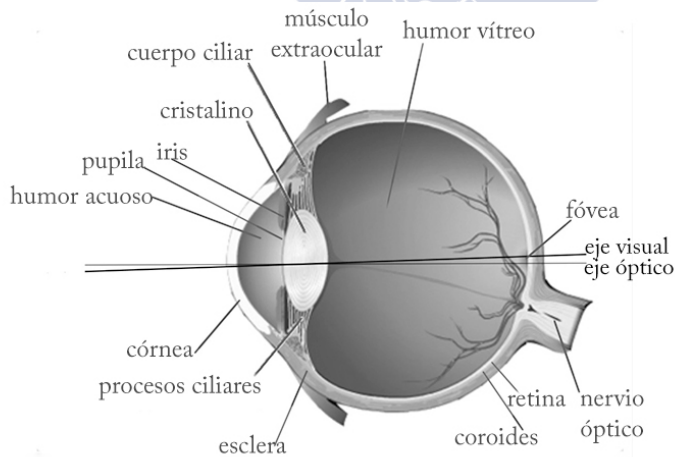


Figura 1.1. Dibujo del globo ocular humano con sus principales estructuras.

Su principal función es la de focalizar las imágenes en la retina. En los animales terrestres su poder dióptrico supone aproximadamente un tercio de la potencia total del ojo, ya que el resto lo aporta la córnea. Sin embargo, en el medio acuático la córnea pierde su capacidad de refracción al encontrarse en contacto por ambas caras con líquidos de similar índice de refracción al suyo. Por ello, en los vertebrados acuáticos, como los peces teleósteos, el cristalino es el principal responsable de la formación de imágenes nítidas en la retina.

Además, el cristalino es el encargado de la acomodación, es decir, de afinar el enfoque de objetos situados a diferentes distancias. La acomodación es un cambio dinámico en la potencia dióptrica del ojo. El ojo desempeña esta tarea mediante diferentes mecanismos que varían según la especie. La amplitud de acomodación¹ también es variable entre los vertebrados, así encontramos aves subacuáticas que presentan hasta 80 dioptrías de acomodación y animales como el conejo o el ratón que no presentan la capacidad de acomodar (Bito, Kaufman, Derausseau, & Koretz, 1987).

Algunos animales acuáticos, como los peces teleósteos, tienen la capacidad de desplazar el cristalino ánteroposteriormente lo que les permite enfocar a diferentes distancias. Existen variaciones en la manera de moverlo; por ejemplo, en los tiburones (elasmobranquios) y en anfibios el músculo *protactor lentis* aleja el cristalino de la retina para enfocar objetos cercanos. Sin embargo, en los peces teleósteos el músculo *retractor lentis* lo acerca para la visión lejana (figura 1.2).

La acomodación en los vertebrados terrestres se debe principalmente a la elasticidad del cristalino que permite el cambio en la curvatura de sus superficies. Los mecanismos acomodativos menos evolucionados son los de aquellos animales que proceden de los saurios como las: aves, lagartos y tortugas.

En el caso de las aves, el hábitat en el que vivan influye en la manera de acomodar. En aves terrestres existe una acomodación corneal complementaria a la del cristalino debida a la acción del músculo de Crampton sobre la periferia de la córnea. Por el contrario, en aves

¹ La amplitud de acomodación es el máximo cambio óptico de enfoque que se consigue mediante mecanismos de acomodación, se mide en dioptrías.

acuáticas no existe este mecanismo ya que el poder refractivo corneal no es significativo debajo del agua. Así, para cambiar la visión en el aire a visión bajo el agua, estas aves deben deformar ampliamente el cristalino y de manera muy rápida. Para conseguirlo cuentan, al igual que los reptiles, con el músculo de Brücke que empuja el cuerpo ciliar fuertemente, de manera que el cristalino queda libre de tensión y se curva. Además, el margen del iris ejerce fuerza sobre la cara anterior del cristalino para formar un lenticono (figura 1.2) que aumenta la curvatura de la cara anterior (Land, 2012).

En los mamíferos con capacidad visual escasa, como los roedores no existe la acomodación, al igual que en herbívoros y rastreadores donde es nula o muy escasa. Los carnívoros tienen el músculo ciliar más desarrollado pero poca amplitud de acomodación. Los gatos y mapaches son capaces de desplazar el cristalino para acomodar.

Los primates y humanos acomodan por la acción del músculo ciliar que al contraerse relaja los procesos ciliares, estos liberan la tensión y el cristalino se curva más para enfocar objetos cercanos. Cuentan con una amplitud de acomodación de 15-20D que disminuye con la edad debido a una pérdida progresiva de la elasticidad del cristalino (Bito, Kaufman, Derousseau, & Koretz, 1987).

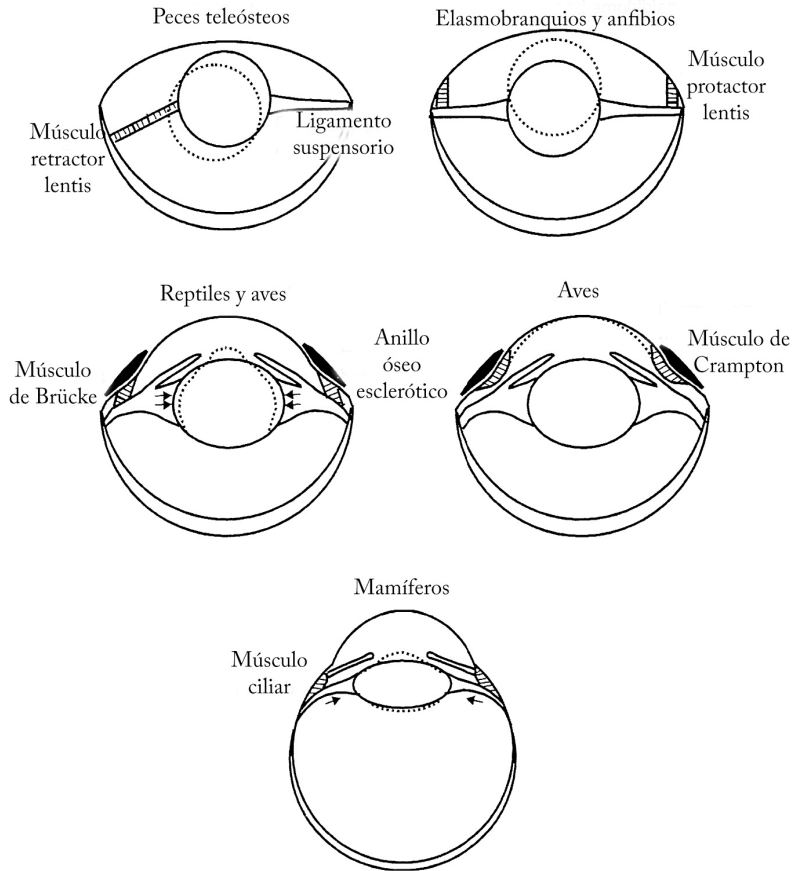


Figura 1.2. Los diferentes mecanismos de acomodación de los vertebrados.

1.1.2 EMBRIOLOGÍA

El ojo se forma a partir de la fusión de varias estructuras embrionarias diferentes, en concreto, el cristalino y la córnea proceden del ectodermo, al igual que la piel. La principal característica de estos tejidos de origen ectodérmico es que tienen la capacidad de generar células nuevas durante toda la vida. En el caso del cristalino, las células más antiguas no pueden liberarse como ocurre en la piel y la córnea, así que se van acumulando en su interior lo que conlleva un crecimiento continuo de éste.

Se considera que el desarrollo embrionario del cristalino comienza cuando las células del ectodermo superficial, que darán lugar al cristalino y la córnea, entran en contacto con las vesículas ópticas, formadas por la protrusión del neuroepitelio a cada lado del diencéfalo embrionario y que formarán la retina (figura 1.3.a). Posteriormente a este contacto, en el embrión de 4 mm aparece un engrosamiento del ectodermo de superficie que se denomina *placoda cristaliniiana* (figura 1.3.b), después se invagina en una *foseta cristaliniiana* (embrión de 5 mm) (figura 1.3.c) cuya profundidad aumenta cuando se acercan los bordes de la foseta (embrión de 8 mm) constituyendo una vesícula que se separa del ectodermo (embrión de 9 mm) (figura 1.3.d). Las células del ectodermo próximas a la placoda constituirán el epitelio corneal y conjuntival.

La *vesícula cristaliniiana* es una esfera excavada, cuya pared está constituida por una sola capa de células cilíndricas altas. Cuando se separa de la vesícula óptica el espacio entre ellos se llena de una matriz extracelular laxa que constituye el cuerpo vítreo primario. Las células epiteliales que dan lugar a la vesícula descansan sobre una lámina basal delgada que durante el proceso de invaginación acaba rodeando a la vesícula del cristalino. Con el desarrollo, esta lámina se va engrosando y dará lugar a la cápsula del cristalino.

En el embrión de 12 mm, las células de la pared anterior disminuyen de altura mientras que las de la posterior se alargan de atrás adelante formando el *botón cristaliniiano de Kölliker*.

Rápidamente, la extensión de las células posteriores colma la cavidad de la vesícula cristaliniiana. Ésta desaparece en el estadio de 16 mm. El esbozo cristaliniiano está pues, formado por una capa anterior de células cúbicas y por una capa posterior de células alargadas de delante a atrás, las fibras primarias (figura 1.3.e).

En el estadio de 20 mm el esbozo cristaliniiano crece sin cambiar de disposición. A partir de este estadio aparecen en el ecuador las fibras secundarias que, al crecer, hacen que las fibras primarias sean desplazadas progresivamente hacia el centro (figura 1.3.f). Este crecimiento lleva a la formación de suturas, que son las zonas donde se reúnen las fibras. Así, el cristalino está formado por la yuxtaposición sucesiva de nuevas capas de células.

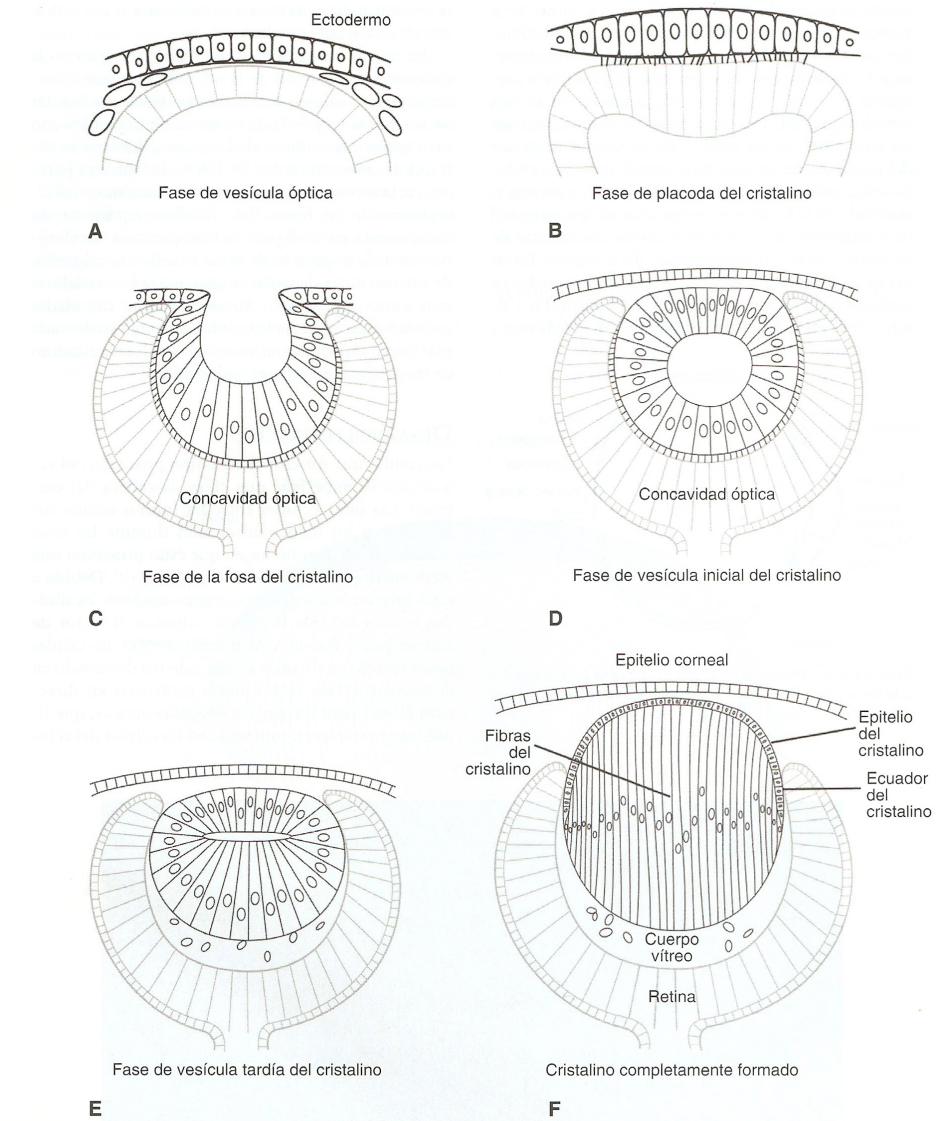


Figura 1.3. Esquema del desarrollo embriológico del cristalino. Imagen tomada de (Beebe, 2004)

Desde su formación, la vesícula cristaliniana está metida en un sistema vascular (túnica vascular del cristalino) formado por el vaso anular y los vasos de la membrana pupilar por delante y por la arteria hialoidea por detrás. Este sistema vascular alcanza su máximo desarrollo

en la fase de 40 mm, después desaparece progresivamente hasta el nacimiento. En ningún momento penetran estos elementos en el cristalino pero durante su reabsorción pueden dejar residuos embrionarios que serán visibles en la exploración ocular del fondo de ojo.

El crecimiento del cristalino, muy rápido en la vida uterina y en los primeros años de vida, se prolonga durante toda la vida. Como consecuencia de esto su consistencia aumenta con la edad, adquiriendo a veces en edad avanzada una dureza considerable en una zona central relativamente amplia (Saraux, Lemasson, Offret, & Renard, 1985) (Beebe, 2004).

1.1.3 HISTOLOGÍA

El cristalino está constituido por dos tipos de células epiteliales especializadas. La superficie anterior del cristalino, situada más cerca de la córnea, está revestida por una capa de células cuboideas y la parte central está compuesta por capas concéntricas de células alargadas. Por tanto, desde el punto de vista histológico podemos diferenciar tres partes en el cristalino de cualquier vertebrado (figura 1.4):

1. Cápsula o cristaloides: membrana que rodea al cristalino. Debido a su elasticidad permite que el cristalino se deforme bajo la acción del músculo ciliar.
2. Epitelio: capa de células cuboideas aplanadas por delante del ecuador.
3. Fibras cristalinas: son unas cintas prismáticas gruesas que tienen forma hexagonal en corte transversal. Cada fibra es una célula epitelial estirada en dirección anteroposterior que se unen por el cemento (Saraux, Lemasson, Offret, & Renard, 1985).

En el cristalino adulto, la mayor parte de las células epiteliales y todas las fibras carecen de capacidad mitótica. Sin embargo, las células del epitelio situadas cerca del ecuador (zona germinativa) muestran una proliferación lenta. Las células que se generan por mitosis en esta región

migran hacia la parte posterior y en el ecuador se alargan dando lugar a las fibras.

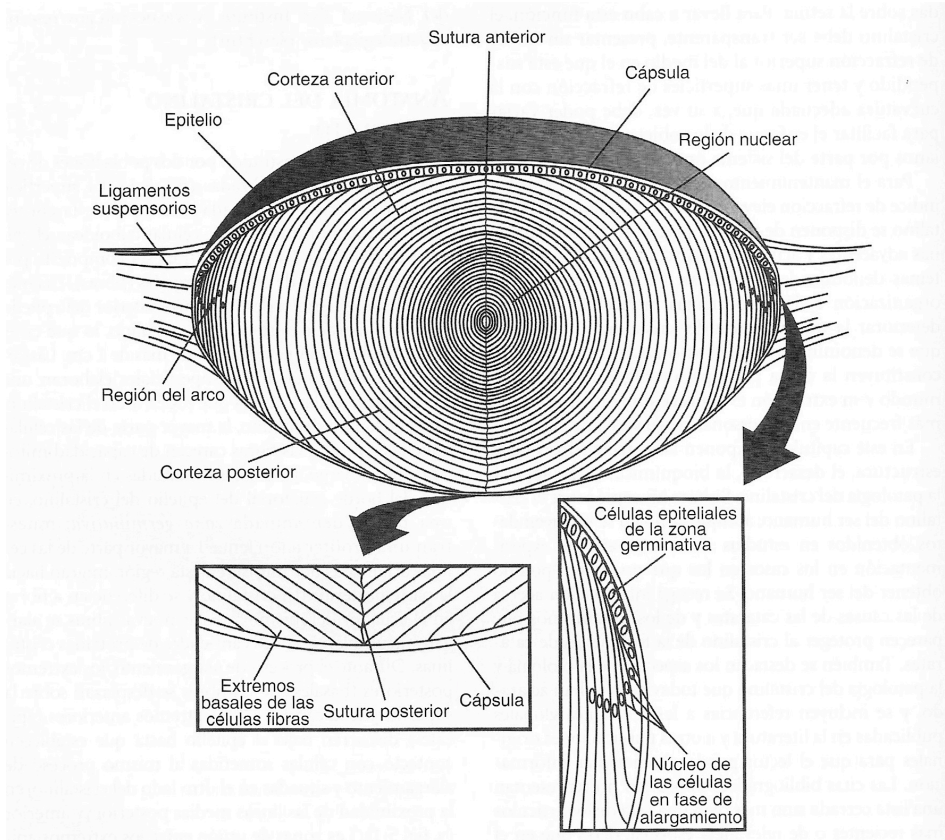


Figura 1.4. Esquema de un cristalino humano adulto. (Beebe, 2004)

1.1.3.1 Morfología de las fibras cristaliniánas

Aunque el tamaño y forma del cristalino varíe con la especie, la forma y tamaño de las fibras que lo componen es muy similar. En el núcleo, compuesto por las fibras primarias embrionarias y las primeras fibras secundarias fetales, son muy irregulares en forma y tamaño. Sin embargo, a medida que crece el cristalino, van apareciendo las fibras secundarias que son muy regulares.

Son numerosos los estudios que han establecido que las fibras secundarias tienen una sección transversal hexagonal con dos caras anchas paralelas a la superficie del cristalino y cuatro caras estrechas en ángulo agudo con ésta (figura 1.5). La longitud de las caras anchas y estrechas es igual en todas las fibras. El espesor de las fibras, de aproximadamente 2,50 micrómetros, y el ancho, de 6-7 micrómetros, es relativamente constante entre especies; lo que nos lleva a suponer que las diferentes formas y tamaños de los cristalinos se deben principalmente al número de fibras que los conforman (Kuszak, Zoltoski, & Sivertson, 2004).

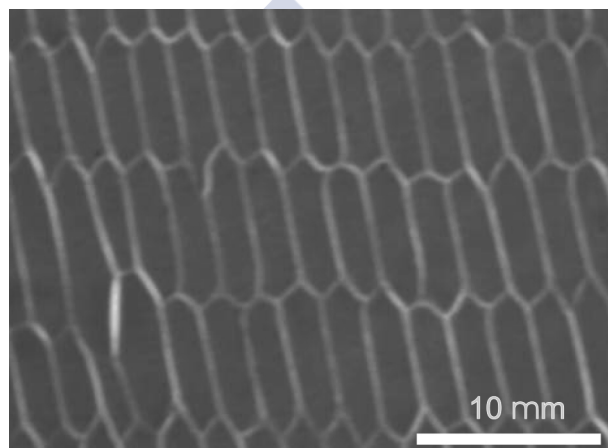


Figura 1.5. Micrografía óptica de 1-2 micrómetros de espesor de la sección transversal de las fibras de un cristalino de conejo adulto a 7 mm del ecuador. (Al-khudari, Donohue, Al-Ghoul, & Al-Ghoul, 2007)

1.1.3.2 Disposición de las fibras cristalinas y formación de las suturas

Las fibras secundarias se forman durante toda la vida y se disponen agrupadas en capas concéntricas, como una cebolla. Sin embargo, en el núcleo embrionario, situado en el centro del cristalino y formado por las fibras primarias, además de la forma de las fibras, la organización de éstas es más irregular. El ordenamiento de las fibras, agrupadas en una serie de

superficies refractivas concéntricas, contribuye a la transparencia del cristalino (Bassnet, Shi, & Vrensen, 2011).

Mientras las fibras primarias se alargan unidireccionalmente, las fibras secundarias se arquean alrededor del ecuador en dirección anterior y posterior. Las de la cara anterior discurren entre el epitelio anterior y las fibras primarias, y las de la cara posterior entre las fibras primarias y la cápsula posterior. En los polos del cristalino, los extremos de las fibras contactan en una zona denominada sutura, cuando consideramos todo el grosor del cristalino las suturas forman *planos de sutura*.

Como comentamos anteriormente, la estructura histológica de los cristalinos de vertebrados es parecida ya que están formados por las fibras cristalinas dispuestas ordenadamente para mantener su transparencia, sin embargo existen algunas diferencias entre las especies, manifestándose por ejemplo en la existencia de diversos patrones de suturas. También dentro de una misma especie hay variaciones con la edad. Es importante reconocer este hecho porque cada tipo de sutura ejerce una influencia medible en la calidad óptica de la lente (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991) (Kuszak, Peterson, Sivak, & Herbert, 1994) (Sivak, Herbert, Peterson, & Kuszak, 1994).

En las aves, peces y reptiles, las fibras secundarias se alargan hacia los polos y convergen en un mismo punto, dando lugar a dos suturas umbilicales, una anterior y otra posterior que, si consideramos todo el grosor del cristalino, forman una línea en el eje ánteroposterior. En anfibios y conejos forman suturas lineales perpendiculares, lo que se traduce en un plano vertical en la mitad anterior y un plano horizontal en la posterior.

En mamíferos como el gato, roedores, perro, cerdo, vaca y cordero forman planos en Y en la cara anterior y en Y invertida en la posterior (figura 1.6). En primates y humanos, durante el desarrollo fetal son en forma de Y pero al nacer se van complicando y adoptan una forma denominada en estrella (figuras 1.7) (Kuszak, Zoltoski, & Tiedemann, 2004).

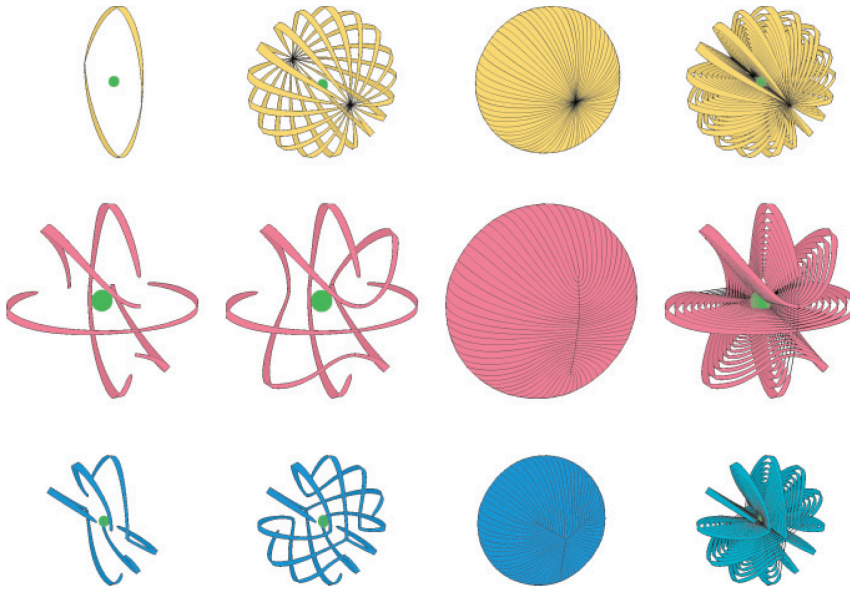


Figura 1.6. Disposición de las fibras cristalínas para dar lugar a los diferentes tipos de suturas. En la fila de arriba, las suturas umbilicales son propias de peces, aves y reptiles. En la fila del medio se representan las suturas lineales que se observan en anfibios y conejos. Por último en la fila de abajo, las suturas en Y que son características de muchos mamíferos. Dibujo tomado de (Kuszak, Zoltoski, & Tiedemann, 2004).

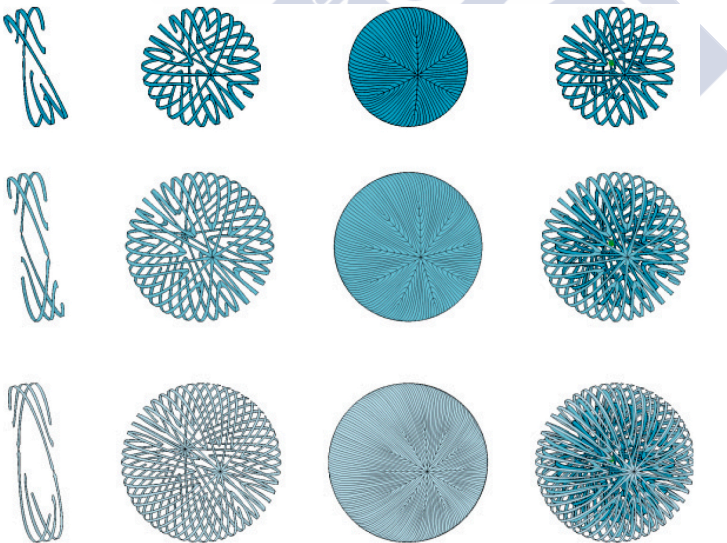


Figura 1.7. Filas de arriba a abajo, forma y disposición de las fibras cristalínas en el niño (arriba), adolescente (medio) y adulto humano (abajo). En el cristalino humano hay fibras rectas y curvas. Con cada estado del desarrollo y crecimiento hay un aumento de fibras rectas. Como resultado, las fibras curvas se organizan para terminar formando suturas en forma de estrella simple, estrella y estrella compleja (cuarta columna). Dibujo tomado de (Kuszak, Zoltoski, & Tiedemann, 2004)

1.2 CARACTERÍSTICAS ÓPTICAS BÁSICAS DEL CRISTALINO

El poder refractivo del cristalino viene determinado por la curvatura de sus superficies, las diferencias de índice de refracción entre éste y el medio que lo rodea y el gradiente de índice que existe en su interior.

Tomas Young fue el primero en describir que el ojo contenía una lente en su interior, le atribuyó un índice de refracción constante de 1,44 y dos superficies esféricas con radios de curvatura de 7,6 mm la anterior y 5,6 la posterior (Young, 1801). Estudios posteriores ampliaron el conocimiento sobre las características ópticas del cristalino (Gullstrand, 1909) (Le Grand, 1956).

En cuanto a las dimensiones del cristalino varían según la especie, en algunos peces puede llegar a medir 38,9mm de diámetro (Kröger, Fritsches, & Warrant, 2009) mientras en los humanos varía entre individuos de 8,5 a 10 mm. El cristalino humano tiene un grosor de unos 3,46 mm que aumenta aproximadamente 0,013 mm al año debido a la formación de nuevas fibras durante toda la vida.

La forma de sus superficies anterior y posterior es muy relevante desde el punto de vista óptico. Tanto el radio de curvatura como la asféricidad de éstas varían con la acomodación y con la edad. Por ejemplo, en los humanos el radio central de la cara anterior mide 10,75 mm y el posterior -7,86 mm a la edad de 20 años, ambos decrecen con los años pero el anterior en mayor medida que el posterior. Se debe señalar que la forma asférica de las superficies afecta a las aberraciones mientras que los radios de curvatura afecta sobre todo al poder refractivo (Smith, 2003).

En los animales acuáticos, al perder la córnea su capacidad refractiva, el cristalino es el principal encargado de focalizar los rayos en la retina. De esta manera, para mantener un ojo relativamente pequeño, la distancia focal del cristalino debe ser corta en relación a su tamaño por lo que sus radios de curvatura deben ser también pequeños. Esto se traduce

en cristalinos esféricos que, como veremos más adelante, presentan cantidades sustanciales de aberración esférica. (Land, 2012)

Todos los medios refractivos del ojo tienen un índice de refracción no muy distinto al del agua (1,33), sin embargo, en el cristalino este índice no es homogéneo, varía desde 1,38 en la periferia hasta 1,40 en su zona central. Las células del interior han perdido el núcleo y las organelas, tienen una alta concentración de proteínas y están muy compactadas, lo que hace que el índice de refracción en esta zona sea mayor.

En los humanos, la potencia del cristalino disminuye con la edad debido a cambios en su estructura interna, ya que la contribución en dioptrías de sus superficies disminuye ligeramente con el envejecimiento. Sin embargo el desarrollo de cataratas puede incrementar su potencia total (Borja, et al., 2008).

Otra propiedad óptica importante de este tejido es su transparencia que se debe principalmente a sus características histológicas que disminuyen la absorción y dispersión de luz (Trokel, 1962). Comprender la base celular de la transparencia es importante para entender el proceso de formación de cataratas, que empieza con un aumento de la dispersión y la absorción por parte de las células cristaliniánas. En los cristalinos cataratosos se puede encontrar una pérdida incompleta del núcleo, agrandamiento de los espacios intercelulares, desajuste en el empacamiento de las fibras, etc. (Bassnet, Shi, & Vrensen, 2011)

1.3 LAS ABERRACIONES ÓPTICAS DEL CRISTALINO

El ojo es el órgano encargado de formar las imágenes del mundo exterior en la retina, donde se envían en forma de impulsos nerviosos al cerebro para ser interpretadas. La calidad de visión de un ojo normal está limitada por dos factores: las propiedades ópticas del ojo y el procesamiento neuronal de la vía visual. Las propiedades ópticas del ojo están influenciadas por la difracción, la dispersión de la luz, las aberraciones y la forma del globo ocular.

1.3.1 LAS ABERRACIONES DE FRENTE DE ONDA

Para entender las aberraciones ópticas es necesario explicar el concepto de frente de onda. Supongamos una onda escalar monocromática que viene dada por la ecuación siguiente:

$$V(\vec{r}, t) = a(\vec{r}) \cos[\omega t - kW(\vec{r})] \quad (1.1)$$

donde $a(\vec{r})$ es la amplitud y $\omega t - kW(\vec{r})$ es la fase de la onda. El término $W(\vec{r})$ representa a la parte espacial de la fase, por lo que las superficies definidas por la condición $W(\vec{r}) = cte$ (para un t fijo) son superficies de igual fase, superficies de onda o *frentes de onda*, que se define como el lugar geométrico del medio que alcanzan los rayos de luz con el mismo camino óptico. Las superficies definidas por un $a(\vec{r}) = cte$ se denominan superficies de amplitud constante.

Si consideramos una fuente puntual ideal de luz, la radiación que procede de ella fluye radialmente hacia afuera en todas las direcciones. En este caso, los puntos que están a la misma distancia de la fuente en un momento determinado definen una superficie esférica centrada en la fuente. Esta superficie esférica es el frente de onda. En este caso el frente de onda esférico se expresa según la ecuación 1.2.

$$W(\vec{r}) = \sqrt{(x^2 + y^2 + z^2)}, \quad \vec{r} = (x, y, z) \quad (1.2)$$

y cuando $(x^2 + y^2 + z^2) = a$ la superficie representa una esfera. La energía de la onda es transportada a lo largo de los rayos que son ortogonales a los frentes de onda.

Si situamos dicha fuente puntual en el infinito, los rayos procedentes de la misma serían paralelos entre sí, esto genera un frente de onda plano definido por:

$$W(x, y, z) = ax + by + cz \quad (1.3)$$

El frente de onda plano y esférico son los ideales y por ello se toman muchas veces como referencia. En el caso de que $W(x, y, z)$ sea diferente del de referencia (ecuaciones 1.2 y 1.3) se dice que el frente de onda está aberrado (Geary J. , 1995) (Hecht, 1998).

Cuando los rayos provenientes de un objeto puntual atraviesan un sistema óptico ideal la imagen que se forma está limitada solo por difracción. Si el sistema óptico no es perfecto los rayos emergentes de éste no convergen en un punto, y el frente de onda asociado se dice que está aberrado. La imagen del objeto puntual formada por el frente de onda aberrado se extenderá por encima del punto imagen ideal (figura 1.8).

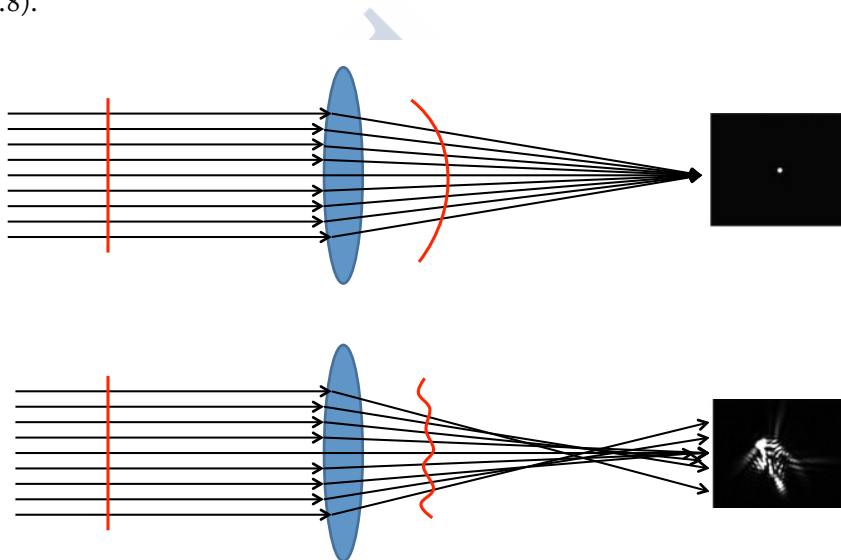


Figura 1.8. Representación de un frente de onda plano al atravesar un sistema óptico ideal (arriba) y un sistema óptico aberrado (abajo). A la derecha puede verse como en el primer caso la imagen de un objeto puntual es un punto y en la segunda es una mancha.

Las aberraciones presentes en un haz de luz se determinan comparando el frente de onda con una onda referencia, típicamente una onda plana o una onda esférica (figura 1.9).

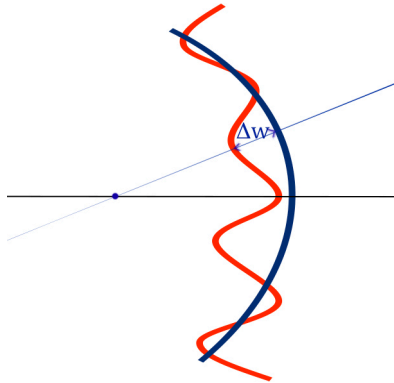


Figura 1.9. Determinación de las aberraciones comparando el frente de onda aberrado con uno de referencia, $\Delta W = W_R - W_A$.

El estudio de las aberraciones de un sistema óptico puede restringirse a una zona próxima a una dirección de propagación privilegiada, z , como puede ser el eje visual en el caso del ojo. En esta situación, la expresión 1.2 puede aproximarse a:

$$W(x, y, z) \approx z - \frac{(x^2 + y^2)}{2z} \quad (1.4)$$

donde z representa la distancia desde la fuente puntual a un plano ortogonal a la dirección de propagación determinado, que normalmente se refiere al plano de observación. Se puede prescindir de la dependencia lineal en z ya que no afecta a la calidad de imagen, y, por tanto, el estudio se puede llevar a cabo en dos dimensiones, $W(x, y)$.

Bajo esta aproximación, la aberración de frente de onda, $W(x, y)$, puede describirse como una combinación lineal de un conjunto de polinomios que formen una base completa. Los más usados en este campo son los polinomios de Zernike, que tienen la ventaja de ser ortogonales entre sí y, además, cada uno representa una aberración y nos indica en qué cantidad está presente (Geary J., 1995).

Los polinomios de Zernike se representan habitualmente en coordenadas polares en vez de coordenadas cartesianas, $W(\rho, \theta)$, donde

$x = \rho \cos \theta$ e $y = \rho \sin \theta$. En la Figura 1.10 se representan los polinomios hasta orden 6.

n (orden)	m (frecuencia)	Z_n^m	$Z_n^m(\rho, \theta)$	Descripcion
0	0	Z_0^0	1	Piston
1	-1	Z_1^{-1}	$4^{1/2}\rho \sin\theta$	Tilt (en eje x)
1	1	Z_1^1	$4^{1/2}\rho \cos\theta$	Tilt (en eje y)
2	-2	Z_2^{-2}	$6^{1/2}\rho^2 \sin 2\theta$	Astigmatismo (eje 45°, 135°)
2	0	Z_2^0	$3^{1/2}(2\rho^2-1)$	Desenfoque esférico
2	2	Z_2^2	$6^{1/2}\rho^2 \cos 2\theta$	Astigmatismo (eje 0°, 90°)
3	-3	Z_3^{-3}	$8^{1/2}\rho^3 \sin 3\theta$	Trefoil (base en eje x)
3	-1	Z_3^{-1}	$8^{1/2}(3\rho^3-2\rho)\sin\theta$	Coma en eje x
3	1	Z_3^1	$8^{1/2}(3\rho^3-2\rho)\cos\theta$	Coma en eje y
3	3	Z_3^3	$8^{1/2}\rho^3 \cos 3\theta$	Trefoil base en eje y
4	-4	Z_4^{-4}	$10^{1/2}\rho^4 \sin 4\theta$	Tetrafoil
4	-2	Z_4^{-2}	$10^{1/2}(4\rho^4-2\rho^2)\sin 2\theta$	Astigmatismo secundario
4	0	Z_4^0	$5^{1/2}(6\rho^4-6\rho^2+1)$	Aberración esférica
4	2	Z_4^2	$10^{1/2}(4\rho^4-2\rho^2)\cos 2\theta$	Astigmatismo secundario
4	4	Z_4^4	$10^{1/2}\rho^4 \cos 4\theta$	Tetrafoil
5	-5	Z_5^{-5}	$12^{1/2}\rho^5 \sin 5\theta$	Pentafoil
5	-3	Z_5^{-3}	$12^{1/2}(5\rho^5-4\rho^3)\sin 3\theta$	Trefoil secundario
5	-1	Z_5^{-1}	$10^{1/2}(10\rho^5-12\rho^3+3\rho)\sin\theta$	Coma secundario
5	1	Z_5^1	$10^{1/2}(10\rho^5-12\rho^3+3\rho)\cos\theta$	Coma Secundario
5	3	Z_5^3	$12^{1/2}(5\rho^5-4\rho^3)\cos 3\theta$	Trefoil Secundario
5	5	Z_5^5	$12^{1/2}\rho^5 \cos 5\theta$	Pentafoil
6	-6	Z_6^{-6}	$14^{1/2}\rho^6 \sin 6\theta$	Hexafoil
6	-4	Z_6^{-4}	$14^{1/2}(6\rho^6-5\rho^4)\sin 4\theta$	Tetrafoil secundario
6	-2	Z_6^{-2}	$14^{1/2}(15\rho^6-20\rho^4+6\rho^2)\sin 2\theta$	Astigmatismo terciario
6	0	Z_6^0	$7^{1/2}(20\rho^6-30\rho^4+12\rho^2-1)$	Aberración esférica secundaria
6	2	Z_6^2	$14^{1/2}(15\rho^6-20\rho^4+6\rho^2)\cos 2\theta$	Astigmatismo terciario
6	4	Z_6^4	$14^{1/2}(6\rho^6-5\rho^4)\cos 4\theta$	Trefoil secundario
6	6	Z_6^6	$14^{1/2}\rho^6 \cos 6\theta$	Hexafoil

Figura 1.10. los polinomios de Zernikes de orden radial 0 a 6 están representados con orden n, frecuencia m y la descripción que los relaciona con las aberraciones oculares (figura tomada de (McAlinden, McCartney, & Moore, 1998)).

Generalmente se habla de calidad óptica cuando la imagen proporcionada por un sistema óptico es nítida y bien definida, es decir, se parece al objeto sin deformaciones ni emborronamientos. Desde hace mucho tiempo, se sabe que el ojo está lejos de ser un sistema óptico perfecto, en particular para pupilas grandes. Ya en el siglo XIX, Hermann Von Helmholtz se refería a las imperfecciones del ojo con las siguientes palabras: “Si algún óptico intentara venderme un instrumento con estos defectos, yo me consideraría con derecho a expresar de forma terminante su negligencia en el trabajo, a protestar, y a devolverle el instrumento” (Helmholtz, 1885).

Las aberraciones del globo ocular resultan de la combinación de las aberraciones de sus elementos refractivos principales, que son la córnea y el cristalino. A continuación nos centraremos en describir las aberraciones y los métodos que se usan habitualmente para su medida.

1.3.2 ABERRACIONES DEL CRISTALINO

El cristalino es diferente a una lente de diseño debido a sus características biológicas. Para focalizar perfectamente en la retina la imagen de los objetos depende de la curvatura de sus caras, el gradiente de índice de refracción y el tipo de sutura que presente. Aunque su estructura a base de capas concéntricas de fibras celulares es común a todos los vertebrados, la forma y tamaño del cristalino, así como el patrón de suturas que presenta, difiere entre las especies. Lo que puede afectar de diferente manera a las aberraciones ópticas según la especie estudiada.

Muchas especies presentan cristalinios con aberración esférica negativa, al contrario que una lente biconvexa positiva típica; esto se debe al gradiente de índice y se cree que juega un papel importante en la reducción de las aberraciones de todo el ojo por compensar la aberración esférica positiva que se encuentra en la córnea típica (Artal, Guirao, Berrio, & Willians, 2001). Esta aberración esférica negativa se ha encontrado en cristalinios de cerdo (Acosta, Bueno, Schwartz, & Artal, 2010), , rata (Sivak & Drovat, 1983), peces (Kröger R. , Campbell, Munger, & Fernald, 1994), pollos (Glasser & Howland, 1995), primates y vacas (Roorda & Glasser, 2004). Hay especies que apenas presentan este tipo de aberración o que oscila entre pequeños valores positivos y negativos alrededor del cero, como ocurre en conejos (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991) y especies de peces teleósteos de peces grandes depredadores (Kröger, Fritsches, & Warrant, 2009). En humanos se ha visto que en sujetos jóvenes presentan cristalinios con aberración esférica negativa que con la edad tiende a valores positivos (Glasser & Campbell, 1998).

En algunos animales terrestres, como el humano o las aves, una de las principales características del cristalino es su capacidad para variar su

potencia dióptrica que le permite enfocar objetos cercanos en la retina. Los estudios *in vitro* de cristalinos asumen que este se encuentra en su máximo estado de acomodación. Para estudiar los cambios en las aberraciones del cristalino con la acomodación se han desarrollado aparatos mecánicos que simular esta capacidad *in vitro*. Se ha observado que la magnitud de las aberraciones del cristalino cambia en función de la acomodación, siendo mínimas para un estado acomodativo de 2D, la aberración esférica se vuelve aún más negativa con la acomodación. Además, con la edad el cristalino se vuelve menos elástico y pierde la capacidad de acomodar, lo que se conoce como presbicia (Glasser & Campbell, 1999). Cuando se analiza el cambio de las aberraciones en función de la edad se observa que en sujetos de mediana edad las aberraciones del cristalino comienzan a aumentar. Algunos autores han asociado este incremento a cambios en el gradiente de índice de refracción, ya que las superficies anterior y posterior no se aplanan lo suficiente para justificar este cambio (Artal, Berrio, & Guirao, 2002).

Como ya hemos indicado, el objetivo de este trabajo es estudiar la influencia del patrón de suturas del cristalino en sus aberraciones. Algunas investigaciones apuntan a las suturas como responsables de algunas de ellas. Los primeros estudios detectaron un cambio en la longitud focal cuando el láser atravesaba estas zonas en el cristalino de conejo (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991). Posteriormente, se observó que en cristalinos con sutura en Y, de vaca (Sivak, Herbert, Peterson, & Kuszak, 1994) y cerdo (Roorda & Glasser, 2004) (Acosta, Bueno, Schwartz, & Artal, 2010), predominan astigmatismo primario, coma primario y *trefoil*, siendo este último fácilmente identificable con este patrón histológico.

Finalmente, algunos autores encontraron en primates que el patrón histológico más complejo, en forma de estrella como el humano, tiene una menor influencia en la calidad óptica que los patrones presentes en mamíferos no primates (Kuszak, Peterson, Sivak, & Herbert, 1994) (Roorda & Glasser, 2004).

1.3.3 MÉTODOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACIÓN DE LAS ABERRACIONES DEL CRISTALINO

La medida de las aberraciones del cristalino es complicada debido a su situación dentro del ojo. Por este motivo se han desarrollado diferentes técnicas de caracterización óptica del cristalino tanto *in vivo* como *in vitro*. Podemos hacer una diferenciación general y englobarlas en dos grandes grupos: directas o indirectas.

1.3.2.1 Técnicas indirectas

Las medidas realizadas mediante técnicas indirectas se pueden realizar *in vivo*, ya que no requieren retirar el cristalino del globo ocular para su implementación. La estrategia general es sustraer a la óptica del ojo la contribución corneal, asumiendo al cristalino como el principal responsable después de ésta. No obstante, tienen el inconveniente de que es imposible aislar las aberraciones exclusivas del cristalino (Guirao & Artal, 1998).

Para eliminar la contribución corneal se puede optar por sustraer a las aberraciones oculares totales, obtenidas por técnicas de doble paso² basadas en Hartmann-Shack (Guirao & Artal, 1998) (Artal, Berrio, & Guirao, 2002) o en Trazado de Rayos Láser (Barbero, Marcos, & Jimenez-Alfaro, 2003) las aberraciones de la córnea, calculadas mediante diseño óptico a partir de datos de elevación de la superficie corneal (obtenidos de medidas topográficas). Las aberraciones restantes corresponden a las aberraciones internas, cuya principal fuente es el cristalino.

Otro posible abordaje, es introducir el ojo en agua, de esta manera se anula prácticamente todo el poder refractivo de la córnea, como ocurre en los animales acuáticos, y se asume el cristalino como el principal responsable de las aberraciones oculares. Este método ha sido usado en

² Las técnicas de doble paso consisten en proyectar una fuente puntual en la retina, la imagen de vuelta se forma en una cámara CCD tras pasar dos veces por los medios oculares. La MTF se obtiene a partir de esta imagen aérea.

estudios de cristalinos de peces y mamíferos acuáticos vivos (Hanke, Dehnhardt, Schaeffel, & Hanke, 2006) en los que se realizan medidas con el animal dentro del agua mediante *fotorretinoscopia de infrarrojos*.

La *fotorretinoscopia de infrarrojos* es una técnica introducida por Schaeffel en 1987 (Schaeffel, Farkas, & Howland, 1987) que permite medir el estado refractivo del ojo en sujetos no colaboradores y en ojos muy pequeños. La luz infrarroja evita la contracción pupilar por lo que no es necesaria la dilatación farmacológica. Los LEDs infrarrojos se colocan a diferentes excentricidades del eje óptico de la videocámara que registra las imágenes. La luz es proyectada en el ojo donde se refleja y produce una distribución de brillo en la pupila que proporciona una indicación de a que distancia, con respecto a la cámara, está focalizando el ojo. Con este método se pueden detectar animales con ojos que contengan un sistema óptico multifocal, que se verá como estructuras anulares de diferente brillo en la imagen de fotorretinoscopia (Gustafsson, Collin, & Kröger, 2008). Sin embargo, este sistema no aporta suficiente información para caracterizar el frente de onda del cristalino (figura 1.12).

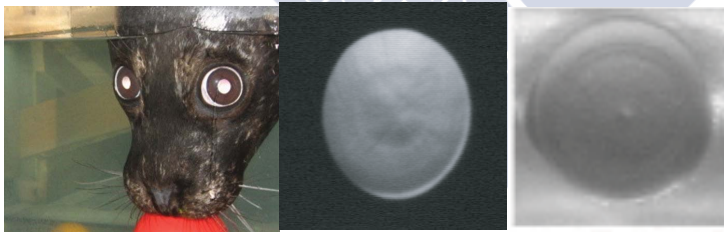


Figura 1.12. Fotorretinoscopia de infrarrojos bajo el agua en animales vivos, medido en una foca en A y B (Hanke, Dehnhardt, Schaeffel, & Hanke, 2006). En C se observan los anillos periféricos de diferente intensidad en un cristalino multifocal de un pez tropical (Karpestami, Gustafsson, Shashar, Katzir, & Kröger, 2007).

Otro estudio en humanos propone utilizar gafas de buceo llenas de agua para anular el efecto refractivo de la córnea al realizar una aberrometría del globo ocular mediante un dispositivo basado en sensor Hartmann-Shack (Artal, Guirao, Berrio, & Willians, 2001). Los

sistemas basados en Hartmann-Shack consisten en proyectar un frente de onda sobre una matriz de microlentes. Si el frente de onda es ópticamente ideal se forman múltiples imágenes en el punto focal de las microlentes, pero si está aberrado cada microlente muestrea una porción inclinada de ese frente de onda, de modo que las imágenes se desvían del foco de éstas. A partir de esta desviación se estima la aberración de frente de onda en función de la pupila. Añadiéndole la técnica del doble paso es uno de los métodos más ampliamente utilizados en la práctica clínica.

1.3.2.2 Técnicas directas

Las medidas de cristalinios aislados tienen la ventaja de que dan mucha información de las aberraciones propias del cristalino, no obstante, al no encontrarse unido al cuerpo ciliar, sus curvaturas son máximas por lo que las medidas realizadas de esta forma deben equipararse a aquellas del cristalino totalmente acomodado. Algunos estudios han incluido aparatos mecanizados que sujetan el cristalino por los procesos ciliares y ejercen diferentes tensiones para simular el efecto de la acomodación (Glasser & Campbell, 1998) (Glasser & Campbell, 1999) (Roorda & Glasser, 2004) (Schachar, 2004) (Manns, et al., 2007). Existen varias técnicas que se han empleado para la caracterización óptica de cristalinios *in vitro* de diferentes especies y serán brevemente reseñadas a continuación:

- *Fotografía de Schlieren*: fue usada por primera vez en cristalinios de animales por Jagger y Sands (Jagger & Sands, 1996). Esta técnica de un solo paso se basaba en hacer pasar un láser infrarrojo monocromático a través del cristalino y fotografiarlo. Al analizar la distribución de la luz en la fotografía se puede conocer sus características focalizadoras. Posteriores estudios modificaron esta técnica introduciendo el doble paso que permite corregir el desenfoque del cristalino, además usaron luz blanca y el registro de la imagen a color permite apreciar si se trata de un cristalino multifocal mediante la aparición de anillos coloreados muy

característicos (figura 1.13) (Malkki & Kröger, 2005) (Gustafsson, Collin, & Kröger, 2008) .

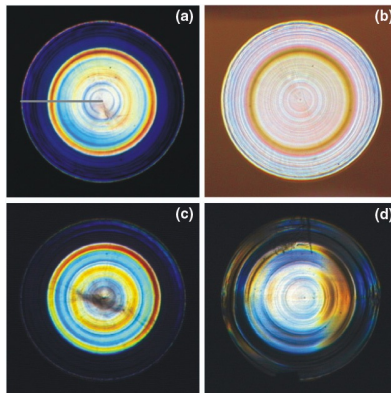


Figura 1.13. Imágenes de fotografía de Schlieren en un cristalino de carpa (Malkki & Kröger, 2005)

- *Trazado de rayos láser (TRL)*: es el método más empleado en la caracterización óptica *in vitro* desde los años 80 (Sivak, 1982) , se basa en hacer incidir un haz de rayos paralelos sobre el cristalino y trazar la trayectoria de los rayos refractados por éste. Con la parametrización de los frentes de onda de salida se calculan las aberraciones (Roorda & Glasser, 2004). Sivak y Drovat en 1983 analizaron 15 cristalinos de rata albina con una técnica que consistía en hacer pasar dos haces de rayos paralelos separados por distancias variables y fotografiar el foco de los rayos (figura 1.14). Mediante la desviación de los rayos calculaban la aberración esférica (Sivak & Drovat, 1983). Modificaciones posteriores introdujeron el escáner láser asistido por ordenador para rastrear el cristalino y tomar imágenes de la forma en que focalizaban los cristalinos (figura 1.15) (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991). Posteriormente se realizaron estudios en diferentes especies y mejorando las medidas para estudiar la acomodación, la influencia de la edad en las aberraciones y la distribución del índice de refracción (Kröger & Campbell, 1996) (Glasser & Campbell, 1999) (Roorda & Glasser, 2004) (Hanke, Dehnhardt, Schaeffel, & Hanke, 2006) (Karpestami,

Gustafsson, Shashar, Katzir, & Kröger, 2007) (Borja, et al., 2008).

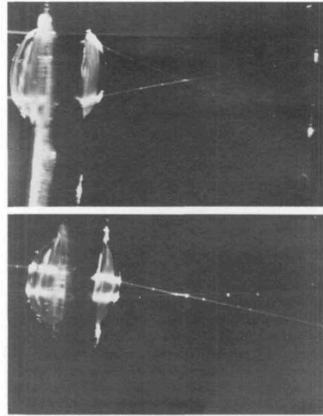


Figura 1.14. Técnica inicial del trazado de rayos láser (Sivak & Drovat, 1983).

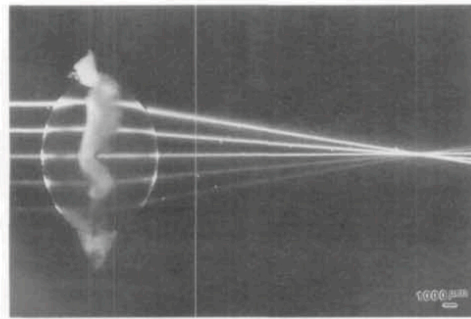


Figura 1.15 Imagen del microscopio de barrido láser de un cristalino de conejo (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991).

- *Interferometría de difracción por orificio (IDO)*: Más recientemente, se ha desarrollado una técnica basada en la interferometría de difracción por punto (IDP) que proporciona mapas continuos de la diferencia de camino óptico introducida por el cristalino con gran precisión en las medidas. Además, esta técnica permite la visualización directa de las franjas del patrón de interferencia lo que proporciona información directa del comportamiento óptico del cristalino como pequeñas fluctuaciones de fase que no pueden ser observadas con el trazado de rayos laser (Acosta, Chamadoira, & Blendowske, 2006). La

IDO ha sido utilizada para la caracterización óptica de cristalinos de diferentes especies y apunta a una relación entre las aberraciones y la estructura histológica, ya que tiene la ventaja adicional de realizar medidas de las propiedades ópticas al mismo tiempo que se visualizan las suturas (Acosta, Vazquez, & Rodriguez-Castillo, 2009) (Acosta, Bueno, Schwartz, & Artal, 2010).

- *Tomografía de coherencia óptica (OCT)*: es una técnica de imagen de alta resolución y de corte transversal ideada en 1991 que utiliza la interferencia de la luz para visualizar tejidos (Huang, et al., 1991). En los últimos años se ha desarrollado para el estudio del cristalino. Al ser de carácter no invasivo, se han podido realizar medidas tanto *in vivo* como *in vitro*, con los datos obtenidos es posible la caracterización 3D de la forma de sus superficies y de la distribución del gradiente de índice, a partir de los cuales se pueden *estimar* las aberraciones del cristalino (Ortiz, Perez-Merino, Gamba, De Castro, & Marcos, 2012) (Ruggeri, Uhlhorn, De Freitas, Ho, Manns, & Parel, 2012) (Sun, Birkenfeld, De Castro, Ortiz, & Marcos, 2014) (Birkenfeld, De Castro, & Marcos, 2014).

En el capítulo siguiente detallamos el funcionamiento del IDO, que es la técnica que utilizaremos, ya que es un método directo de medida de aberraciones que, a diferencia del TRL, proporciona un mapa continuo de la diferencia de fase entre la onda aberrada y la de referencia siendo más rápida y precisa la obtención de información sobre las aberraciones.

CAPÍTULO 2

EL INTERFERÓMETRO DE DIFRACCIÓN POR ORIFICIO

2.1 INTRODUCCIÓN

La interferometría es una técnica ampliamente utilizada en la caracterización y medida de elementos ópticos debido a su alta precisión.

Las primeras técnicas de interferometría se basaron en lo que se conoce como división de amplitud (Hecht, 1998). Dicha técnica consiste en la creación de dos ondas a partir de una, que recorren distintos caminos y que al incidir sobre un mismo plano de observación dan lugar a lo que conocemos como patrón de interferencia. Una de esas ondas es llamada *onda de referencia*.

Ejemplos importantes de interferómetros por división de amplitud son el interferómetro de Young (Young, 1804), el interferómetro de Fizeau (Fizeau, 1851), el interferómetro de Michelson (Michelson & Morley, 1887), el interferómetro de Mach-Zehnder (Zehnder, 1891) (Mach, 1892) y el interferómetro de Fabry-Perot (Childs, 1926).

Debido a la difícil alineación de dichos interferómetros y, teniendo en cuenta que los haces recorren caminos diferentes, se comenzó a trabajar en los interferómetros de camino común, como el interferómetro de Sagnac (Sagnac, 1913), que se usa principalmente como sensor de rotación, o el interferómetro de difracción por punto (Linikk, 1933). En este tipo de interferómetros las ondas recorren el mismo camino facilitando su alineación. Además, ambas ondas se verían afectadas de la misma manera por movimientos mecánicos y por fluctuaciones de la temperatura si los hubiera, con lo que no se alteraría el resultado de la medida por estos motivos (Glückstad & Mogensen, 2001).

En 1933 Linikk propuso la creación del Interferómetro de Difracción por Punto (IDP); un instrumento muy simple con el que se miden variaciones de fase, combinando los campos de la interferencia y la

difracción. Consiste en crear una onda de referencia mediante la difracción de la luz por un pequeño orificio. Su implementación en el laboratorio es muy sencilla y las franjas que se obtienen son directamente interpretables. Las bases teóricas del IDP así como su configuración experimental pueden encontrarse en la literatura (Linikk, 1933) (Smart & Steel, 1975) (Koliopoulos, Kwon, Shagam, Wyant, & Hayslett, 1978) (Geary J. , 1995) (Gong & Geary, 1996) (Dörband, Gross, & Müller, 2012). Este tipo de interferómetro tiene numerosas aplicaciones dentro de la metrología óptica.

En un principio, el IDP se pensó para alinear telescopios astronómicos (Smart & Steel, 1975), con el tiempo sus aplicaciones se ampliaron hasta otros campos, como, por ejemplo, la visualización de ondas de choque (Numata & Ohtani, 2012).

El IDP original fue sufriendo modificaciones con el tiempo, que no alteraron su sencillez inicial, pero diversificaron sus aplicaciones. Entre ellas, destacamos la interferometría de llamas donde proporciona un ajuste instantáneo de la fase (Millerd, Brock, Hayes, & Wyant, 2004) y la interferometría de alta precisión en extremo UV (Naulleau, Goldberg, Gullikson, & Bokor, 2000)

Recientemente para la caracterización óptica de elementos oftálmicos, se ha desarrollado un interferómetro de difracción por punto que presenta buena precisión en las medidas, un importante número de puntos de muestreo y un gran rango dinámico. Además, presenta la ventaja adicional de una fácil interpretación visual de los resultados (Acosta, Chamadoira, & Blendowske, 2006). Para diferenciarlo del IDP original los autores lo denominaron interferómetro de difracción por orificio (IDO). El IDO también se probó para caracterizar cristalinios *in vitro* (Acosta, Bueno, Schwarz, & Artal, 2010). Este interferómetro es el que adaptaremos en este trabajo para evaluar la aberraciones de diferentes cristalinios.

Explicaremos los principios y bases teóricas de este dispositivo. Después, describiremos el montaje para el análisis de cristalinios y , por último, se detallará la interpretación de los interferogramas.

2.2 BASES TEÓRICAS DEL IDO

2.2.1 PRINCIPIOS DEL IDP

Como se ha explicado en el apartado anterior, el Interferómetro de Difracción por Punto (IDP) es un interferómetro de camino común en el que las franjas de interferencia representan variaciones en la diferencias de fase entre la onda examinada y una onda esférica de referencia (Linikk, 1933).

Básicamente, el IDP es una lámina semitransparente (caracterizada por un coeficiente de transmisión t) con un pequeño agujero circular (de radio a) en el centro. Al iluminar la lámina con un haz de luz, parte del haz se difractará por el orificio, de acuerdo con el principio de Huygens, el cual creará una onda esférica que actuará como onda de referencia; y la otra parte del haz atravesará la lámina sin modificarse. Por lo tanto, se puede considerar que tras la lámina tendremos dos ondas (figura 2.1), las cuales van a generar patrones interferenciales que tendrán buen contraste si la onda de referencia y la onda que atraviesa la lámina tienen una amplitud similar. Esto se consigue adecuando el tamaño del orificio y la transmitancia de la lámina. (Acosta, Chamadoira, & Blendowske, 2006)

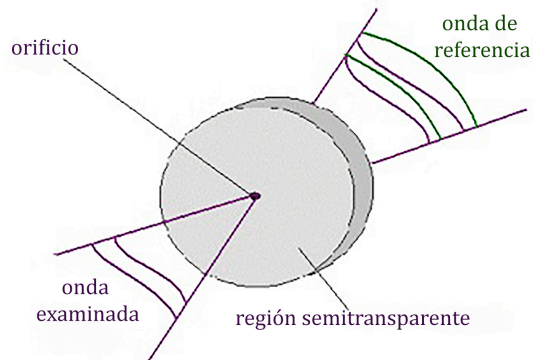


Figura 2.1. Principio del IDP.

En general, la precisión del IDP depende de la calidad y tamaño del orificio. Para orificios cuyo radio es menor que el diámetro del disco de Airy, la mayoría de sensores de frente de onda basados en estos interferómetros logran precisiones del rango de $\lambda/10$ - $\lambda/15$ pico-valle. La repetitibilidad depende de la calidad de las franjas registradas. Para la

mayoría de aplicaciones, cuando se registran interferogramas bien contrastados la precisión que se consigue es del rango de $\lambda/20$ - $\lambda/25$ picovale (Geary J. , 1995).

Sin embargo, las láminas con orificios más grandes, de diámetros del orden de micrómetros como en el caso del IDO, proporcionan un mayor rango dinámico, sin perder demasiada precisión y visibilidad en todas las franjas de interferencia. Esta modificación permite la medida e inspección de un gran número de componentes ópticos oftálmicos que pueden considerarse como elementos generadores de grandes cantidades de aberraciones: lentes oftálmicas, lentes de contacto rígidas y blandas, lentes progresivas y lentes intraoculares (Vazquez, et al., 2006). Además el tamaño del orificio facilita la alineación del aparato (Acosta, Vazquez, & Rodriguez Castillo, 2009).

El mayor inconveniente de esta modificación es que en algunos casos disminuye el contraste en las franjas periféricas, haciendo difícil, y a veces imposible, su detección. Este problema se puede subsanar analizando simultáneamente varios interferogramas obtenidos al cambiar de posición la lámina del IDO, como se verá más adelante. No obstante es un aparato robusto y estable, lo que lo convierte en una herramienta ideal para el estudio de elementos ópticos muy aberrados como el cristalino.

2.2.2 BASES TEÓRICAS

Para explicar de una forma simple e intuitiva el funcionamiento de este tipo de interferómetros, supondremos que el frente de onda a analizar es esferocilíndrico, ya que en este caso se simplifican las matemáticas y la interpretación de los interferogramas es sencilla y generalizable a otros más complicados.

Un frente de onda esferocilíndrico que se propaga en una dirección z va a generar dos líneas focales perpendiculares entre sí. La distribución de la amplitud compleja de la onda en un plano $z=0$ viene dada por la expresión:

$$A(x_i, y_i) \propto e^{\frac{ik}{2} \left(\frac{x_i^2}{\epsilon_x} + \frac{y_i^2}{\epsilon_y} \right)} \quad (1.1)$$

Donde (x_i, y_i) son las coordenadas en el plano $z=0$, y ϵ_x y ϵ_y son las distancias de las líneas focales al plano de referencia, pueden ser negativas o positivas. En la figura 2.2 se representa lo que se conoce como el conoide de Sturm para entender mejor la propagación de la onda esféricocilíndrica. El plano de observación se sitúa a una distancia R de $z=0$ y sus coordenadas son (x_o, y_o) .

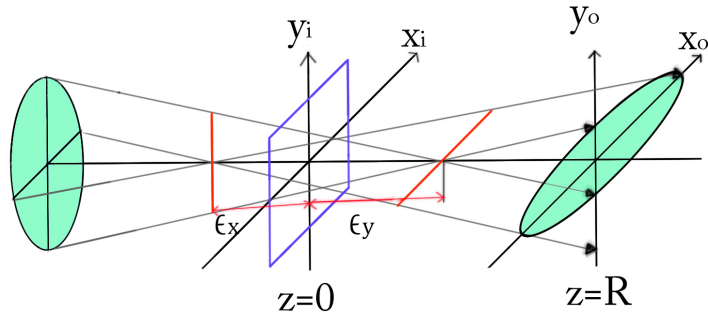


Figura 2.2. Conoide de Sturm.

Para simplificar las matemáticas, situamos la lámina del IDO en el plano $z=0$ haciendo que el eje de propagación (z) pase por el centro del orificio. También consideraremos que las líneas focales del haz incidente están alineadas con los ejes del sistema de referencia. Bajo la aproximación de Fresnel, la intensidad en el plano de observación, $z=R$, viene dada por (Chamadoira, 2012):

$$I(x_o, y_o) = a^4 Jinc^2 \left(\frac{akr_o}{R} \right) + \left(\frac{Rt}{k \sqrt{\left| \frac{(R - \epsilon_x)(R - \epsilon_y)}{\epsilon_x \epsilon_y} \right|}} \right)^2 + 2a^2 Jinc \left(\frac{akr_o}{R} \right) \left(\frac{Rt}{k \sqrt{\left| \frac{(R - \epsilon_x)(R - \epsilon_y)}{\epsilon_x \epsilon_y} \right|}} \right) \cos y \quad (1.2)$$

donde la función $Jinc\left(\frac{akr_0}{R}\right)$ se define como:

$$Jinc\left(\frac{akr_0}{R}\right) = \frac{J_1\left(\frac{akr_0}{R}\right)}{\left(\frac{akr_0}{R}\right)} \quad (1.3)$$

donde $r_0 = x_0^2 + y_0^2$, J_1 representa la función de Bessel de primer orden en la expresión 1.3; y γ es el factor interferencial. El término interferencial viene dado por la expresión:

$$\gamma = \frac{k}{2R} \left[\frac{x_0^2 \epsilon_x}{(R - \epsilon_x)} + \frac{y_0^2 \epsilon_y}{(R - \epsilon_y)} \right] - (\phi + \sigma) \quad (1.4)$$

donde ϕ representa un desfase global introducido por la lámina sobre la onda que la atraviesa respecto a la que se genera por difracción y σ el cambio de fase Gouy³. Este factor de fase constante, $(\phi + \sigma)$, desempeña un papel importante a la hora de caracterizar el carácter convergente o divergente de una lente, como veremos más adelante. Sin embargo, para la interpretación de las franjas no juega un papel importante por lo que vamos a considerar que $\phi + \sigma = 0$:

$$\gamma = \frac{k}{2R} \left[\frac{x_0^2 \epsilon_x}{(R - \epsilon_x)} + \frac{y_0^2 \epsilon_y}{(R - \epsilon_y)} \right] \quad (1.5)$$

La expresión 1.5 representa la ecuación de una cónica que nos servirá para analizar la forma de los patrones interferenciales en función de la posición de las líneas focales ϵ_x y ϵ_y .

Así, si las líneas focales coinciden, $\epsilon_x = \epsilon_y = \epsilon$, esto equivale a decir que sobre la lámina incide un frente de onda esférico. Si $\epsilon=0$, el foco se sitúa en la lámina y el plano de observación estará uniformemente iluminado. Sin embargo, si desplazamos la lámina en su plano aparecerán franjas lineales. Cuanto más separemos el agujero del foco aparecerán más franjas. Esto es lo que se conoce como introducir franjas portadoras lineales (figura 2.3).

³ Es el cambio en la fase axial $\pi/2$ que una onda convergente experimenta al atravesar su foco o sus líneas focales propagándose de $-\infty$ a $+\infty$.

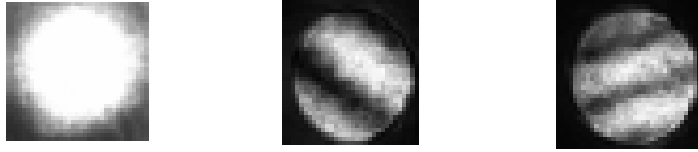


Figura 2.3. En la primera imagen se observa el plano de observación uniformemente iluminado cuando el orificio está centrado en el foco de un frente de onda esférico, en las otras imágenes aparecen franjas portadoras lineales cuando descentramos el orificio manteniendo el foco en el plano de la lámina del IDP

Si desde la posición original movemos la lámina axialmente, $\epsilon \neq 0$, se verán franjas circulares con centro oscuro, si se mueve en sentido contrario a la dirección de propagación, y claro, si se mueve en sentido opuesto⁴. Esto es lo que se conoce como introducir franjas portadoras circulares. Aparecerán más franjas cuanto más se separe la lámina de la posición inicial (figura 2.4).



Figura 2.4. Franjas portadoras circulares

Si se mueve la lámina tanto longitudinalmente como transversalmente se observa una combinación con franjas portadoras lineales y circulares de la siguiente manera (figura 2.5):

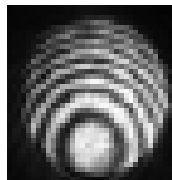


Figura 2.5. Combinación de franjas portadoras lineales y circulares

⁴ Si $\phi + \sigma = \frac{\pi}{2}$, en la parte final de este apartado se explica con más detalle la influencia de este factor.

En el caso de que las líneas focales no coincidan, $\epsilon_x \neq \epsilon_y$, sobre la lámina incide un frente de onda esferocilíndrico (figura 2.6). La posición relativa de las líneas focales respecto a la lámina determinará la forma de las franjas. Así, si $\epsilon_x \cdot \epsilon_y \neq 0$, dependiendo de la posición de las dos líneas focales con respecto a lámina obtendremos:

- Elipses con centro oscuro: ambas se encuentran antes de lámina (figura 2.6.a).
- Elipses con centro claro: ambas líneas se sitúan detrás de la lámina.
- Hipérbolas: una se encuentra antes de la lámina y la otra después (figura 2.6.b)

Si una de las líneas coincide con la lámina, $\epsilon_x \cdot \epsilon_y = 0$, las franjas serán lineales ya que el patrón de interferencia depende de una sola componente (figura 2.6.c).

Como ya hemos explicado, los ejes tanto de las elipses como de las hipérbolas vienen determinados por la orientación de las líneas focales y, por tanto, nos dan la orientación del frente de onda a estudiar.

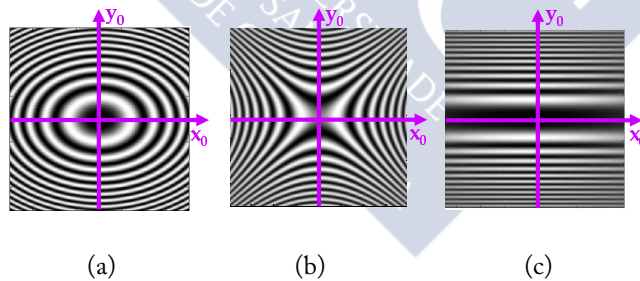


Figura 2.6. Simulación numérica de las franjas de interferencia.

2.2.3 DESPLAZAMIENTOS RESPECTO AL SISTEMA DE REFERENCIA

En el caso de que el eje de propagación, z , no pase por el eje del orificio, la demostración matemática es equivalente. En este caso, el término interferencial vendrá determinado por la ecuación de una cónica trasladada, lo que se traduce en que la forma de las franjas no cambiará pero el centro del patrón de interferencia estará desplazado. (Chamadoira, 2012)

$$\gamma = \frac{k}{2R} \left[\frac{\epsilon_x(x_0 - X_0)^2}{(R - \epsilon_x)} + \frac{\epsilon_y(y_0 - Y_0)^2}{(R - \epsilon_y)} \right] \quad (1.6)$$

(X_0, Y_0) representa el centro del patrón de franjas:

$$X_0 = \frac{x_s - x_p}{R + \epsilon_x} \quad (1.7)$$

$$Y_0 = \frac{y_s - y_p}{R + \epsilon_y} \quad (1.8)$$

donde (x_p, y_p) representa la posición del orificio y (x_s, y_s) el desplazamiento de las líneas focales.

Si representamos la proyección de las variables por separado para simplificar el análisis geométrico, podemos obtener el punto que corresponde al centro de las franjas prolongando hasta el plano de observación la línea que une la línea focal con el agujero de la lámina (figura 2.7).

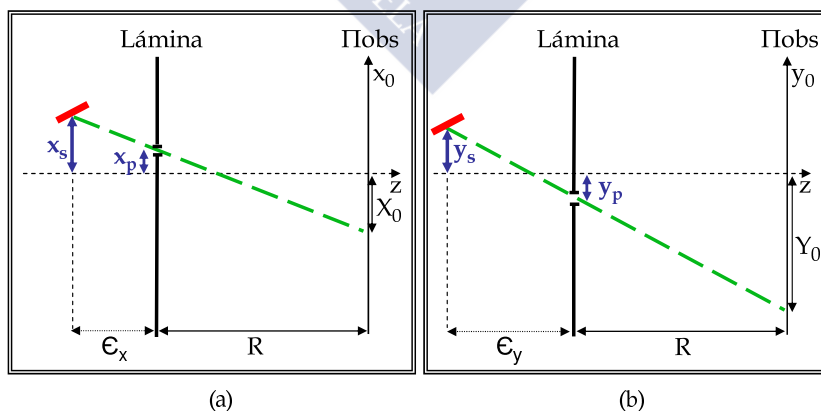


Figura 2.7. Proyecciones: (a) proyección en x , (b) proyección en y . Imagen tomada de (Chamadoira, 2012).

En definitiva, los desplazamientos producirán, en general, interferogramas desplazados. Por otro lado, si la orientación de las líneas focales de la onda estudiada no coincide con la orientación de los ejes del sistema de referencia, inmediatamente se deduce que las franjas estarán rotadas el mismo ángulo que forman las líneas focales con los ejes del sistema (figura 2.8).

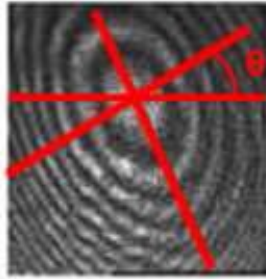


Figura 2.8. Interferograma obtenido con una lente oftálmica esferocilíndrica toroidal desplazada. Se observa que E_x y E_y están delante de la lámina y el frente de onda está desplazado y sus ejes girados respecto al sistema.

Para una comprensión más sencilla, en la descripción teórica nos hemos referido a frentes de onda esferocilíndricos que atraviesan la lámina. No obstante, los cristalinos son lentes altamente aberradas, es decir, generan frentes de onda tanto con aberraciones de orden dos como de alto orden, y por tanto el término interferencial viene dado por la interferencia de un frente de onda esférico con origen en el agujero y el frente de onda bajo test:

$$\gamma = \frac{k}{2R} \left[\frac{(x_0 - x_p)^2 + (y_0 - y_p)^2}{2R} \right] - W(x_0, y_0) \quad (1.9)$$

La expresión 1.9 es la que utilizaremos para evaluar las aberraciones de cristalinos, donde $W(x_0, y_0)$ representa la fase del frente de onda en el plano de observación. Dado que el objetivo de esta tesis es relacionar la estructura histológica con las características ópticas de cristalinos de ojos

de diferentes animales no profundizaremos más en las bases teóricas del IDP, para más detalle consultar referencia (Chamadoira, 2012).

Cabe resaltar que para tener patrones interferenciales con buen contraste las amplitudes de la onda generada y la transmitida deben ser parecidas. En el caso del IDO, los parámetros de fabricación que controlan esta relación son fundamentalmente el radio del orificio y la transmitancia de la lámina. Para nuestro estudio el coeficiente de transmisión de la lámina es fijo ($t= 0,07$) pero el radio del orificio varía en función de si queremos estudiar un interferograma completo o una zona focal pequeña. Estos valores se detallarán en capítulos posteriores.

Por último, si ahora tenemos en cuenta la fase constante de la ecuación 1.4 veremos que σ y ϕ permiten conocer la posición de las líneas focales respecto a la lámina, o lo que es lo mismo, discriminar el signo de ϵ_x y ϵ_y . Como ya se explicó anteriormente, la fase constante es la suma de la fase Gouy, σ , que cambia su valor en función de la posición de las líneas focales con respecto a la lámina, y la fase que pueda añadir la lámina, ϕ , que puede tomar cualquier valor entre 0 y 2π en función de cómo esté fabricada. Por tanto, la intensidad en el centro del Interferograma depende del factor constante del término interferencial ($\phi + \sigma$). En nuestro caso concreto, la lámina está fabricada de manera que introduce un desfase $\phi = -\pi/2$, esto genera que todos los patrones interferenciales cambien el contraste, presentando un máximo o un mínimo central, dependiendo de si las líneas focales convergen antes o después de la lámina respectivamente. Por tanto, la visualización directa de los interferogramas nos permite reconocer no solo el valor si no también el signo de ϵ_x y ϵ_y .

2.3 MONTAJE DEL IDO

En este apartado explicaremos el montaje experimental del IDO para la caracterización óptica del cristalino. Para este trabajo se han utilizado dos montajes diferentes, en vertical para el estudio de cristalinos con sutura en Y y en horizontal para el estudio en peces. Las modificaciones introducidas para cada montaje se especificarán en los capítulos correspondientes.

El cristalino es una lente biológica con una distancia focal pequeña (aproximadamente 5 cm en el humano). El que sea una lente con alta potencia dióptrica nos permite focalizar directamente el haz que lo atraviesa en la lámina del IDO o en sus proximidades.

De esta manera, el dispositivo básico (figura 2.9) consta de un haz colimado que conseguimos al hacer que un láser de He-Ne ($\lambda = 0,633 \mu\text{m}$) atraviese un objetivo de microscopio, lo que generará una fuente puntual, que colocaremos en el plano focal objeto de una lente convergente o lente colimadora, por lo que a la salida de ésta tendremos un frente de onda plano. A una cierta distancia, tras la lente colimadora, colocamos el cristalino inmerso en Medium 199 suplementado en una cubeta de vidrio de láminas plano paralelas, siendo así iluminado por el frente de onda plano generado. La lámina semitransparente con el orificio se sitúa en las proximidades del plano focal del cristalino. Una cámara CCD recogerá las imágenes formadas en el plano de observación, situado a una distancia R de la lámina.

Si el cristalino iluminado por el frente de onda plano no presentara ningún tipo de aberración en el plano de observación se obtiene un campo uniforme. Sin embargo para elementos ópticos no perfectos el frente de onda a la salida de estos no será esférico por lo que obtenemos un interferograma en el plano de observación, entre la onda aberrada y la onda esférica generada por el orificio. Este interferograma nos dará información de las aberraciones ópticas de ese objeto transparente y un cierto desenfoque y desplazamiento, si el orificio no está exactamente situado en el foco paraxial del cristalino.

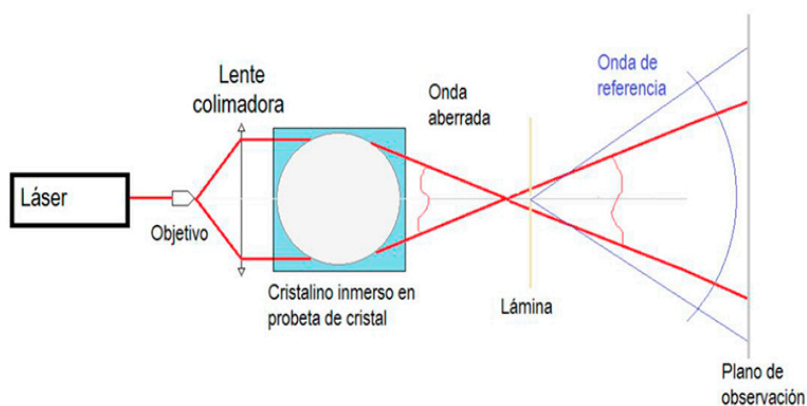


Figura 2.9. Montaje experimental del IDO para análisis de cristalinidad.

La posibilidad de situar el orificio en diferentes posiciones significa que podemos introducir franjas portadoras circulares (desenfoque inducido con el movimiento axial del orificio) y lineales (descentramientos inducidos con el movimiento del orificio perpendicular a la propagación del haz). Esto proporciona:

- I. una manera simple para saber numerar las franjas; ya que los movimientos tanto transversales como longitudinales de la lámina nos permiten numerarlas.
- II. una manera simple de mejorar el contraste de los interferogramas, ya que, debido a la gran cantidad de aberración presente en este tipo de lentes, puede haber zonas donde bien el contraste sea bajo o bien la frecuencia de las franjas sea demasiado alta como para que pueda resolverlas el dispositivo de adquisición de imagen.

2.4 INTERPRETACIÓN DE LOS INTERFEROGRAMAS

Hemos comentado la interpretación de los patrones interferenciales que se obtienen para un frente de onda esférico y para uno esferocilíndrico. Es importante resaltar que si la lámina está en foco y las franjas que proporciona un elemento oftálmico (por ejemplo una lente) son elipses, es relativamente fácil conocer qué meridiano de la lente tórica

tiene más potencia, pero si aparecen hipérbolas no. Para saberlo solo necesitamos desplazar axialmente la lámina hasta que coincida con una de las líneas focales y el interferograma que se observará serán líneas rectas como las de la figura siguiente:

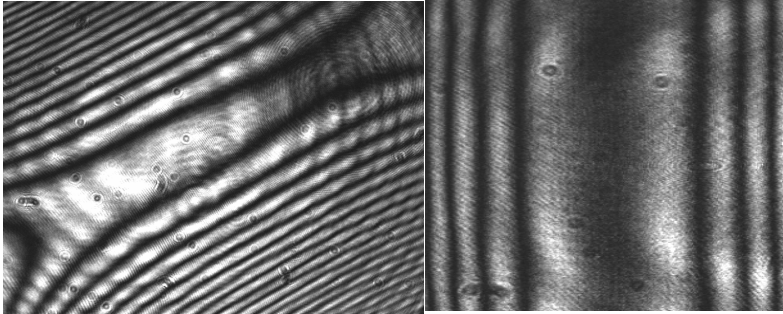


Figura 2.10. Interferogramas de lentes tóricas cuando la lámina coincide con una de las líneas focales

Sin embargo, cuando tratamos con elementos ópticos oftálmicos que generan frentes de onda más complejos, se obtienen interferogramas más complicados. Por ejemplo, en la figura 2.11 vemos un interferograma de una lente progresiva de adición 3 dioptrías. En este caso, para obtener un interferograma de una región amplia se utilizaron franjas portadoras lineales y circulares, caracterizadas por la posición inicial del pinole, R , y la fase que representan las franjas de interferencia viene dada por:

$$\gamma = \frac{k}{2R} \left[\frac{(x_0 - x_p)^2 + (y_0 - y_p)^2}{2R} \right] - W(x_0, y_0) \quad (1.9)$$

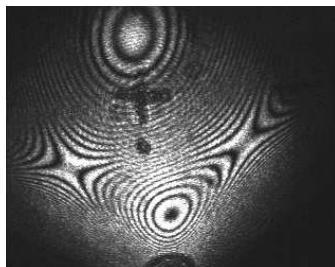


Figura 2.11. Interferograma de una lente progresiva

El cristalino, debido a su carácter biológico, presenta diferencias notables fácilmente identificables con el IDO. Como se ha comentado en la introducción, presentan suturas, que son las zonas de unión de las fibras cristalinas, que forman patrones diferentes según la especie. Con el IDO podemos visualizar estas suturas al mismo tiempo que el interferograma (figura 2.12), lo cual es muy útil en la caracterización óptica de estos elementos, como se explicará más adelante.

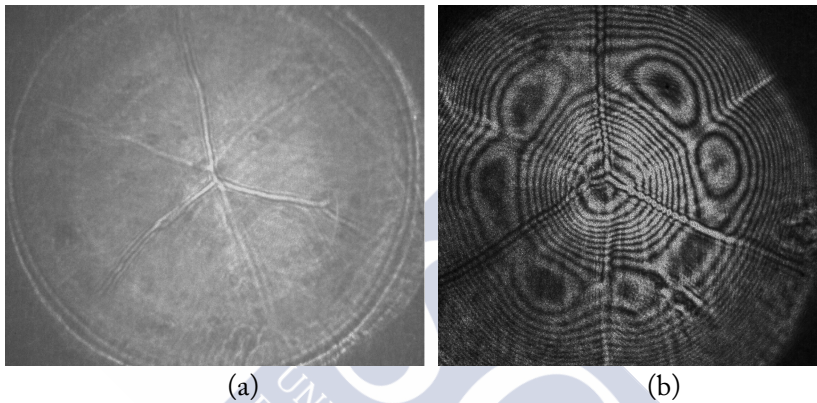


Figura 2.12. Vista de las suturas de un cristalino de vaca a través del IDO sin franjas de interferencia (a) y con franjas (b)

Como podemos observar en la figura 2.12, los patrones de interferencia del cristalino son más complejos, debido a las aberraciones de alto orden que presentan. Además, se pueden observar pequeñas imperfecciones, como roturas de la cápsula o el ruido biológico, que puedan modificar el patrón de interferencia en alguna zona (figura 2.13), y de esta manera son desechados antes de su cuantificación mediante software.

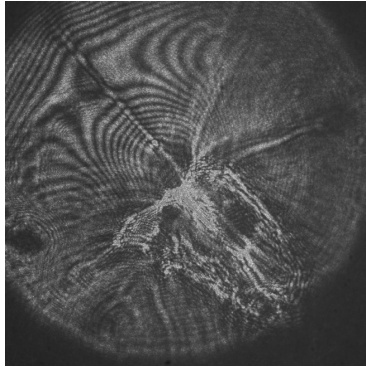


Figura 2.13. Rotura de la cápsula de un cristalino de vaca observada con el IDO

2.5 ANÁLISIS DE LOS INTERFEROGRAMAS

En el apartado anterior, hemos explicado la sencillez de la interpretación visual de los interferogramas. Ahora vamos a comentar como se realiza el análisis cuantitativo de éstos. Para realizar este análisis, nos centraremos en la localización manual de los mínimos interferenciales (figura 2.14). Las curvas obtenidas para cada franja representan una región de isofase en el plano de observación donde dos franjas vecinas están separadas por una longitud de onda. Con los valores (x, y) de las curvas trazadas se hace un ajuste directo para conseguir la combinación lineal de polinomios de Zernike que produciría el mismo patrón de interferencia.

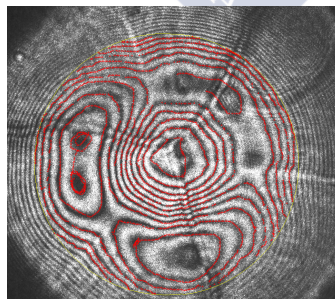


Figura 2.14. Trazado manual de las franjas.

Es fácil determinar el signo del desenfoque a simple vista observando los cambios de contraste de las franjas centrales cuando se introducen franjas portadoras circulares. Así la numeración consecutiva de franjas puede hacerse tanto en orden ascendente como descendente. De esta manera, si al procesar los interferogramas obtenemos el signo de desenfoque distinto al evaluado visualmente sencillamente cambiamos el signo a todos los coeficientes de Zernike. Una vez hecha la toma manual de datos el programa de ajuste utilizado (Atmosfringe 3.3) nos proporcionara los coeficientes del desarrollo en polinomios de Zernike que supondremos válido para la fase.

Analizando el error cuadrático medio del ajuste (RMS) para distinto número de polinomios y conjuntamente procediendo a la simulación numérica de los interferogramas para comprobar que reproducen en toda la zona estudiada el interferograma experimental, estableceremos lo que estimamos mejor ajuste:

- Elegir el mínimo número de coeficientes de Zernike que minimiza el error RMS en las diferencias de fase.
- Determinar si la función de ajuste puede ser razonablemente extrapolable a las regiones donde los datos no pueden tomarse (debido a pérdida de visibilidad de franjas).
- Que reproduzca fielmente el interferograma experimental en toda su extensión ya que puede ocurrir que, a veces, algunas características de pequeñas regiones del interferograma no son bien reproducidas, especialmente cuando las franjas son cortas. En este caso, pueden añadirse manualmente más datos experimentales cerca de estas franjas hasta la obtención de una buena réplica del interferograma, aunque esto implique un pequeño sacrificio en términos de valor de error de RMS.

De esta manera, analizamos en su totalidad el cristalino, como se explicará en el siguiente capítulo. Si lo que queremos hacer es un análisis local o por zonas, tanto experimental como de ajuste, el procedimiento varía significativamente y será explicado en detalle en el capítulo que estudia los cristalinos de peces.



CAPÍTULO 3

ABERRACIONES ÓPTICAS DE CRISTALINOS CON SUTURAS EN Y

3.1 INTRODUCCIÓN

En los animales terrestres, el cristalino aporta aproximadamente un tercio de la potencia refractiva total del globo ocular. Además, su elasticidad le permite cambiar su curvatura para enfocar sobre la retina las imágenes de objetos situados a diferentes distancias, lo que se conoce como acomodación (Bito, Kaufman, Derousseau, & Koretz, 1987).

En el caso de los humanos y primates las suturas del cristalino tienen forma de estrella, sin embargo en su forma embrionaria presentan forma de Y en su cara anterior y posterior. Esta Y embrionaria puede verse en la parte central del cristalino durante el examen de la salud ocular con lámpara de hendidura. Sin embargo, otros mamíferos presentan este patrón de suturas durante todo su desarrollo. Son diversos los estudios que hay en la literatura que analizan la calidad óptica de cristalinios con esta configuración histológica (Roorda & Glasser, 2004). Sin embargo, las diferentes técnicas que emplean tienen algunas limitaciones.

En este capítulo se exponen los resultados del análisis mediante interferometría de difracción por orificio de las propiedades ópticas para este tipo de sutura en tres especies diferentes (vaca, cerdo y cordero). Además se explican las modificaciones del montaje del IDO y la metodología empleada en este tipo de cristalinios.

3.2 EXTRACCIÓN Y PREPARACIÓN DEL CRISTALINO

Como hemos explicado en el capítulo 1, el cristalino es una lente biológica con un metabolismo muy frágil, esta característica conlleva que se opacifica con facilidad si el medio que lo rodea no es el adecuado. La falta de transparencia impide realizar medidas con el IDO, por ello el procedimiento seguido para la extracción debe ser rápido para que el

cristalino no quede expuesto al aire mucho tiempo y se opacifique, la manera en la que lo extrajimos fue la siguiente:

Los ojos de los animales estudiados fueron proporcionados por el matadero local lo que nos permitió realizar el estudio en las primeras 6h *postmortem*. Los cristalinos se mantuvieron dentro del globo ocular a temperatura ambiente hasta su medida.

Para comenzar la extracción, identificamos los músculos extraoculares cuya posición con respecto al nervio óptico nos ayuda a orientar el globo ocular fuera de la órbita. Una vez señalada la parte superior, abrimos el ojo a la altura de las venas vorticosas. Para extraer el cristalino utilizamos una tijera quirúrgica de Castroviejo y con ella cortamos los procesos ciliares dejando una pequeña parte del cuerpo ciliar adherida a la parte superior, de esta manera nos sirve de referencia cuando está fuera del ojo (figura 3.1). Con esta tijera y un frotis retiramos todo el vítreo adherido al cristalino con cuidado de no tocar la cápsula.



Figura 3.1. Vista del cristalino y el cuerpo ciliar desde la parte interna del ojo.

Una vez extraído del globo ocular, se introduce dentro de una cubeta inmerso en un líquido que garantice sus propiedades de forma y transparencia, ya que en contacto con el aire se opacifican. En la literatura encontramos que el Medium 199 suplementado con antibióticos, proteínas y suero bovino fetal, era el que mejor conservaba estas propiedades de forma y transparencia (Augusteyn, Rosen, Borja, Ziebarth, & Parel, 2006). La cara anterior se coloca hacia abajo para que la luz atraviese el cristalino en la misma dirección que en el ojo una vez que la cubeta se coloca en el dispositivo de medida.

3.3 MONTAJE DEL IDO PARA EL ESTUDIO DE CRISTALINOS CON PATRÓN DE SUTURAS EN FORMA DE “Y” (CERDOS, VACAS Y OVEJAS)

3.3.1 MONTAJE EXPERIMENTAL

En el capítulo anterior describimos la configuración básica del IDO para el análisis de cristalinos. En este caso, para facilitar la sujeción y centrado de los cristalinos y obtener una mayor comodidad en la realización de las medidas, el montaje se realizó en vertical como se muestra en la fotografía siguiente (figura 3.2).

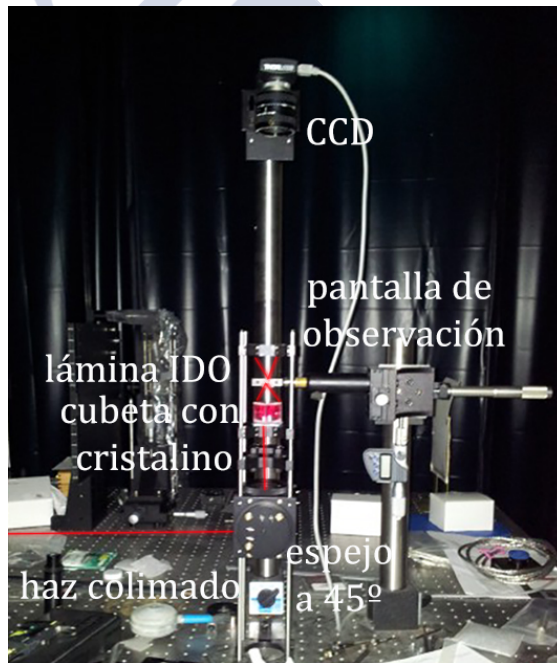


Figura 3.2. Montaje experimental para análisis de cristalinos con sutura en Y.

Como comentamos en el apartado anterior, posicionamos la cubeta con el cristalino en el montaje (figura 3.2) de manera que la cara anterior de éste sea iluminada con un haz plano de luz monocromática (longitud

de onda 633nm). Medimos todas las lentes bajo las mismas condiciones de alineamiento respecto al eje del interferómetro, que comprobamos mediante la coincidencia de los centros de las suturas de acuerdo a la figura 3.3.

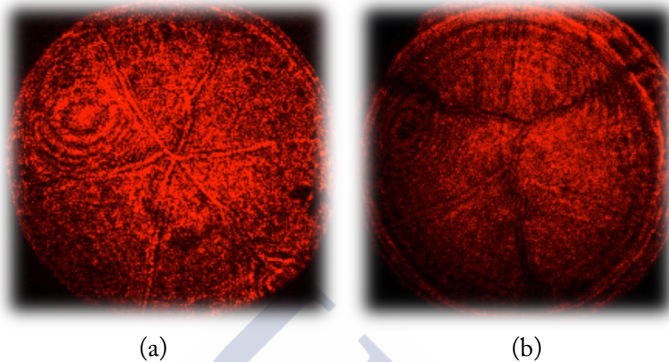


Figura 3.3. Alineamiento de cristalinos con el eje óptico. Imágenes de las suturas de un cristalino de vaca obtenidas con el IDO, en (a) se observa que las suturas se cruzan en el mismo punto lo que indica que el cristalino está bien anileado, en (b) se muestra un cristalino desalineado con el eje óptico.

La lámina del IDO que se utilizó en este estudio consta de una capa de sustrato de silicio con óxido de cromo con una densidad óptica de 2,3 y un orificio de 7 micrómetros de diámetro. Esta lámina se sitúa en las proximidades del foco paraxial del cristalino. El tamaño de la pupila del sistema se adecuó al tamaño del cristalino, asegurándonos que permitía estudiar aproximadamente un 90% del total del cristalino. Se utilizó una CCD (Thorlabs, Compact USB 2.0 CMOS Camera DCC1645C) para recoger los interferogramas proyectados en una pantalla de papel semitransparente

3.3.2 ANÁLISIS DE LOS INTERFEROGRAMAS

Como se explica en el capítulo 2, el interferograma resultante equivale a la interferencia entre la onda convergente que sale del cristalino y una onda esférica de referencia generada por el orificio de la lámina situada en las proximidades del foco paraxial del cristalino:

$$\gamma = \frac{k}{2R} \left[\frac{(x_0 - x_p)^2 + (y_0 - y_p)^2}{2R} \right] - kW(x_0, y_0) \quad (3.1)$$

De esta manera el patrón de interferencia se puede interpretar fácilmente como la aberración de onda del cristalino junto con pequeñas cantidades de desplazamiento y desenfoque cuando la lámina no está perfectamente situada en el foco paraxial del cristalino.

Para procesar los interferogramas se utilizó un software comercial, Atmosfringe 3.3 (Atmos-Software). Este programa permite un trazado semiautomático de las franjas oscuras que es manualmente dirigido por el operador. Las curvas obtenidas para cada franja representan una región de isofase en el plano de observación, donde dos franjas vecinas están separadas por una longitud de onda (figura 3.4).

Este software usa la notación y orden de J.C. Wyant para describir los polinomios de Zernike (Wyant & Creath, 1992). En esta notación, los coeficientes del ajuste de los polinomios son la mitad del valor pico-valor de la correspondiente aberración, lo que la hace más intuitiva que otras notaciones. Además, se ordenan en orden ascendente por la suma de sus frecuencias radial y azimutal (ver tabla 3.1 para los primeros 36 polinomios). Hemos comprobado que esta distribución nos proporciona resultados más precisos con menor número de términos comparado con el orden clásico basado en la frecuencia radial como se explica detalladamente en trabajos anteriores de nuestro grupo (Noll, 1976) (Acosta, Vazquez, & Rodriguez-Castillo, 2009) (Acosta, 2010).

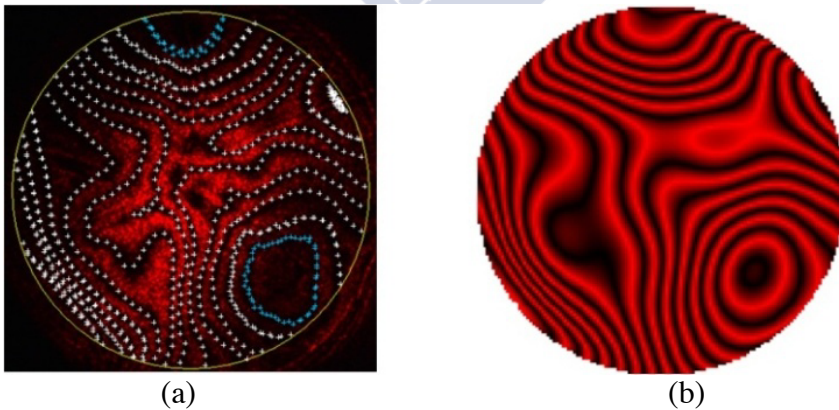


Figura 3.4. Detección de franjas en el interferograma real con Atmosfringe 3.3 (a) y el interferograma sintético reconstruido por el software a partir de las líneas trazadas (b).

$z_0 = 1;$	Piston or Bias
$z_1 = \rho \text{ Cos}[\theta];$	Tilt x
$z_2 = \rho \text{ Sin}[\theta];$	Tilt y
$z_3 = -1 + 2 \rho^2;$	Power
$z_4 = \rho^2 \text{ Cos}[2 \theta];$	Astig x
$z_5 = \rho^2 \text{ Sin}[2 \theta];$	Astig y
$z_6 = \rho (-2 + 3 \rho^2) \text{ Cos}[\theta];$	Coma x
$z_7 = \rho (-2 + 3 \rho^2) \text{ Sin}[\theta];$	Coma y
$z_8 = 1 - 6 \rho^2 + 6 \rho^4;$	Primary Spherical
$z_9 = \rho^3 \text{ Cos}[3 \theta];$	Trefoil x
$z_{10} = \rho^3 \text{ Sin}[3 \theta];$	Trefoil y
$z_{11} = \rho^2 (-3 + 4 \rho^2) \text{ Cos}[2 \theta];$	Secondary Astigmatism x
$z_{12} = \rho^2 (-3 + 4 \rho^2) \text{ Sin}[2 \theta];$	Secondary Astigmatism y
$z_{13} = \rho (3 - 12 \rho^2 + 10 \rho^4) \text{ Cos}[\theta];$	Secondary Coma x
$z_{14} = \rho (3 - 12 \rho^2 + 10 \rho^4) \text{ Sin}[\theta];$	Secondary Coma y
$z_{15} = -1 + 12 \rho^2 - 30 \rho^4 + 20 \rho^6;$	Secondary Spherical
$z_{16} = \rho^4 \text{ Cos}[4 \theta];$	Tetrafoil x
$z_{17} = \rho^4 \text{ Sin}[4 \theta];$	Tetrafoil y
$z_{18} = \rho^3 (-4 + 5 \rho^2) \text{ Cos}[3 \theta];$	Secondary Trefoil x
$z_{19} = \rho^3 (-4 + 5 \rho^2) \text{ Sin}[3 \theta];$	Secondary Trefoil y
$z_{20} = \rho^2 (6 - 20 \rho^2 + 15 \rho^4) \text{ Cos}[2 \theta];$	Tertiary Astigmatism x
$z_{21} = \rho^2 (6 - 20 \rho^2 + 15 \rho^4) \text{ Sin}[2 \theta];$	Tertiary Astigmatism y
$z_{22} = \rho (-4 + 30 \rho^2 - 60 \rho^4 + 35 \rho^6) \text{ Cos}[\theta];$	Tertiary Coma x
$z_{23} = \rho (-4 + 30 \rho^2 - 60 \rho^4 + 35 \rho^6) \text{ Sin}[\theta];$	Tertiary Coma y
$z_{24} = 1 - 20 \rho^2 + 90 \rho^4 - 140 \rho^6 + 70 \rho^8;$	Tertiary Spherical
$z_{25} = \rho^5 \text{ Cos}[5 \theta];$	Pentafoil x
$z_{26} = \rho^5 \text{ Sin}[5 \theta];$	Pentafoil y
$z_{27} = \rho^4 (-5 + 6 \rho^2) \text{ Cos}[4 \theta];$	Secondary Tetrafoil x
$z_{28} = \rho^4 (-5 + 6 \rho^2) \text{ Sin}[4 \theta];$	Secondary Tetrafoil y
$z_{29} = \rho^3 (10 - 30 \rho^2 + 21 \rho^4) \text{ Cos}[3 \theta];$	Tertiary Trefoil x
$z_{30} = \rho^3 (10 - 30 \rho^2 + 21 \rho^4) \text{ Sin}[3 \theta];$	Tertiary Trefoil y
$z_{31} = \rho^2 (-10 + 60 \rho^2 - 105 \rho^4 + 56 \rho^6) \text{ Cos}[2 \theta];$	Quaternary Astigmatism x
$z_{32} = \rho^2 (-10 + 60 \rho^2 - 105 \rho^4 + 56 \rho^6) \text{ Sin}[2 \theta];$	Quaternary Astigmatism y
$z_{33} = \rho (5 - 60 \rho^2 + 210 \rho^4 - 280 \rho^6 + 126 \rho^8) \text{ Cos}[\theta];$	Quaternary Coma x
$z_{34} = \rho (5 - 60 \rho^2 + 210 \rho^4 - 280 \rho^6 + 126 \rho^8) \text{ Sin}[\theta];$	Quaternary Coma y
$z_{35} = -1 + 30 \rho^2 - 210 \rho^4 + 560 \rho^6 - 630 \rho^8 + 252 \rho^{10};$	Quaternary Spherical

Tabla 3.1 Los primeros 36 Zernike usados en el análisis del frente de onda (Wyant & Creath, 1992)

Para determinar el número de términos de Zernike más apropiado para describir la aberración de onda de los cristalinós nos basamos en el valor del error RMS del ajuste y en la comparación visual del interferograma real y el simulado con los coeficientes obtenidos (también llamado Chi-by-eye test (Press, 1992)). Conviene matizar que esto nos permite:

1. Comprobar si todas las franjas del interferograma están correctamente ajustadas para un error RMS aceptable. En ocasiones, determinadas características en una zona pequeña del interferograma no son bien reproducidas, especialmente si las franjas son cortas (p.ej. en el centro de las franjas concéntricas o cerca del borde pupilar. En estos casos, se puede añadir más datos experimentales manualmente hasta que obtengamos una buena réplica del interferograma a expensas de sacrificar algo de precisión en términos de valor de error de RMS.
2. Elegir el mínimo número de polinomios de Zernike para minimizar el error de RMS de las diferencias de fase. Lo que otorga mayor significado a la expansión de coeficientes.
3. Revisar si la función de ajuste puede extrapolar razonablemente valores a las regiones donde los datos no puedan ser tomados (debido a una visibilidad pobre de las franjas)
4. Establecer los niveles de ruido biológico analizando el error de RMS del ajuste así como pequeñas diferencias en cada punto de los datos.

En este trabajo, se usaron los coeficientes de Zernike proporcionados por Atmosfringe 3.3 para computar el módulo de magnitud y el eje de aquellas aberraciones más significativas. Para ello usamos las funciones de Zernike simplificadas propuestas por Campbell (Campbell C. , 2003) donde los términos con la misma frecuencia radial (n) y mismo valor de magnitud de índice azimutal (m y $-m$) son reducidos a una magnitud M y un ángulo α que describe la orientación del polinomio de Zernike respecto del eje horizontal. α_{nm} es una nueva variable que tiene el carácter del eje del cilindro comúnmente usado en la clínica optométrica, su valor puede calcularse a partir de los coeficientes asociados con los términos estándar Z_n^m y Z_n^{-m} usando la ecuación:

$$\alpha_{nm} = \frac{\tan^{-1}\left(\frac{C_n^{-m}}{C_n^m}\right)}{m} \quad (3.2)$$

La magnitud viene dada por la ecuación:

$$M_{nm} = \sqrt{(C_n^{-m})^2 + (C_n^m)^2} \quad (3.3)$$

3.4 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE SUJECCIÓN DEL CRISTALINO

Antes de comenzar el estudio de la relación entre aberraciones y características histológicas de cristalinos con patrón de suturas en Y, nos encontramos con el problema de la colocación del cristalino. Una vez metidos en la cubeta de cristal, inmersos en Medium 199 suplementado, tenemos dos opciones, apoyar los cristalinos directamente en el fondo de la cubeta o introducir una arandela sobre la que colocarlos. Es importante señalar que ninguna de estas soluciones reproduce su posición dentro del globo ocular. En el primer caso el centro de la cara anterior descansa sobre el fondo de la cubeta y en el segundo es la zona periférica la que está en contacto con la arandela. De esta manera, las tensiones en las zonas de apoyo pueden alterar su forma y, por tanto, modificar el frente de onda medido.

Con la intención de conocer la influencia del método de sujeción en el estudio de las aberraciones del cristalino mediante IDO, analizamos las propiedades ópticas de cristalinos de vaca con ambas sujeciones. Primero los medimos apoyados directamente sobre el fondo de la cubeta y después colocados sobre una arandela que impedía el contacto entre el cristalino y el fondo de la misma. En los dos casos ajustamos las franjas interferométricas con el método explicado en el apartado 3.3.2. Para evaluar si esta deformación es o no significativa, y colocar el cristalino de la manera más parecida a como se encuentra en el ojo, realizamos un experimento paralelo suspendiendo uno de los cristalinos estudiados en su propio humor vítreo.

3.4.1 METODOLOGÍA

Para llevar a cabo este experimento, analizamos 6 cristalinios de ojos de vacas con edades comprendidas entre 6 meses y 1 año, que extrajimos del globo ocular como hemos explicado en el apartado 2.2. Realizamos las medidas en el siguiente orden. En primer lugar, colocamos cada cristalino extraído en la cubeta con Medium 199 apoyado directamente sobre su fondo. Tras realizar la medida y obtener un interferograma adecuado, introducimos una arandela de metal en la cubeta donde lo apoyamos para impedir el contacto de su parte central con la cubeta (figura 3.5). En ambos casos, los cristalinios estaban centrados y alineados con el sistema (como se explica en la figura 3.3) y utilizamos un diafragma de 11,5 mm de diámetro, que es el diámetro interno de la arandela y lo que delimita el campo de visión en este caso. Además, realizamos un experimento adicional, extrayendo el vítreo de un ojo y llenando con él la cubeta, su consistencia de gel nos permitió colocar un cristalino de manera que quedaba suspendido en él y medirlo así con el IDO. Posteriormente, limpiamos la cubeta de vítreo y la llenamos del medio de cultivo para realizar las otras dos medidas, con y sin arandela.



Figura 3.5. Cristalino en el interior de la cubeta sobre la arandela.

3.4.2 RESULTADOS

En el análisis de las aberraciones utilizamos 37 polinomios de Zernike para todos los cristalinicos estudiados, ya que era el número mínimo de polinomios que optimizaba el valor del error RMS del ajuste. A simple vista, se pueden observar grandes diferencias cualitativas y cuantitativas en los interferogramas que se obtienen con los dos métodos de sujeción, este hecho se representa en la figura 3.6.

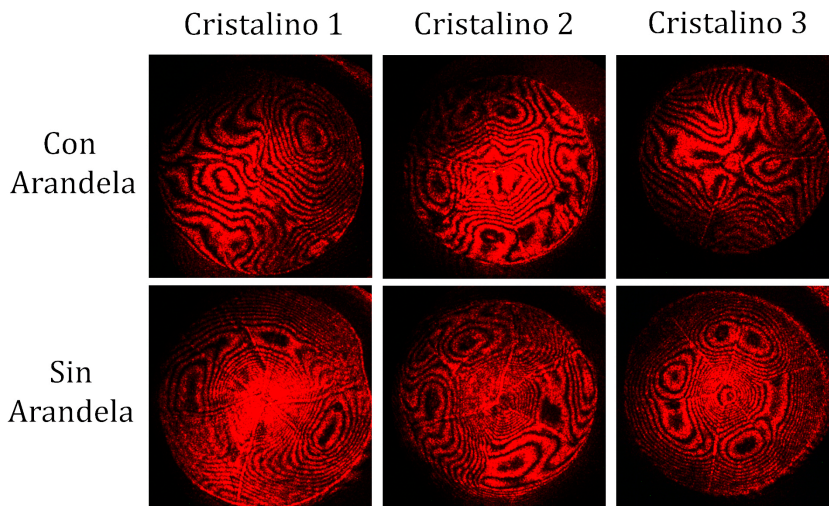


Figura 3.6. Muestra de las diferencias cualitativas entre los interferogramas reales obtenidos con y sin arandela de 3 de los cristalinicos estudiados.

Calculamos la magnitud de las aberraciones como se explica en el subapartado 3.3.2, lo que nos permite realizar una correcta comparación cuantitativa. Para una mejor comprensión de los resultados obtenidos, hemos representado gráficamente en la figura 3.7 la magnitud de las principales aberraciones encontradas cuando se apoya el cristalino sobre el fondo de la cubeta o sobre una arandela para cada cristalino. El cambio más dramático se observa en la aberración esférica, sin embargo también se modifican el astigmatismo y el coma de manera significativa, lo que confirma la influencia del método de sujeción no solo en las aberraciones simétricas, como cabría esperar, sino también en las no simétricas.

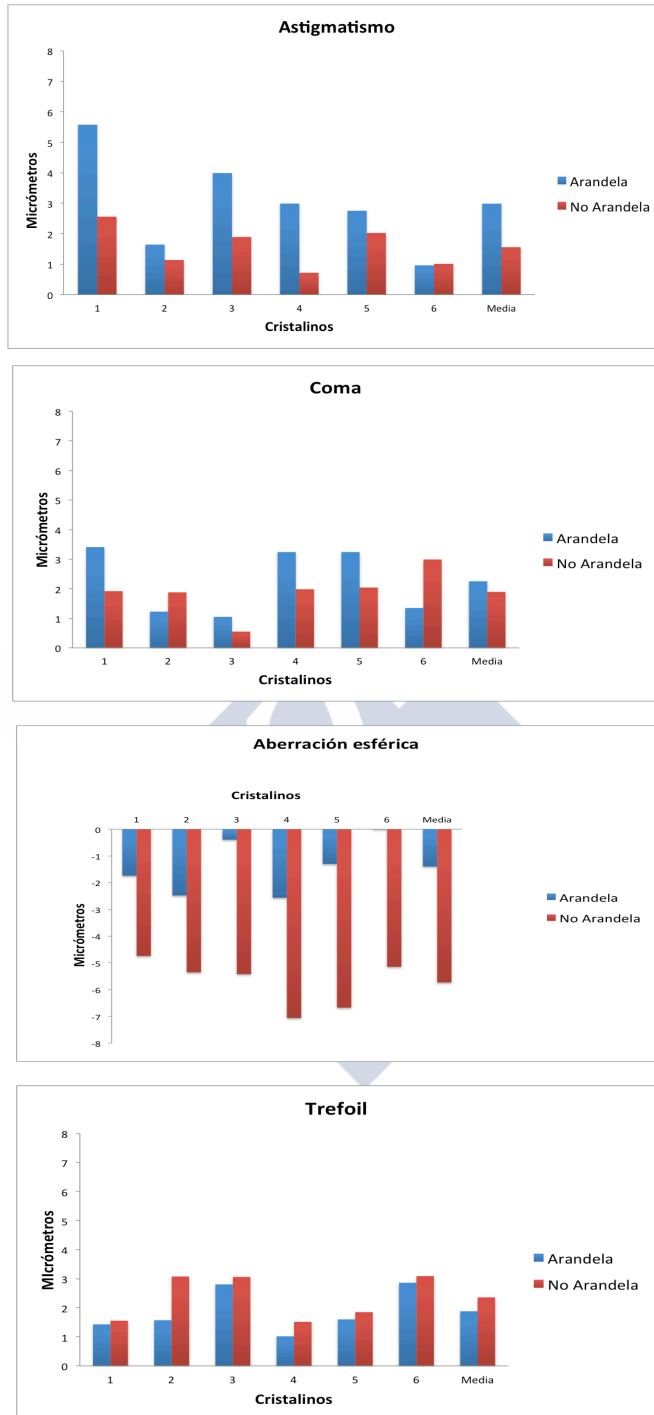


Figura 3.7. Diferencias en la magnitud de las principales aberraciones con y sin arandela.

Como se explica anteriormente, analizamos uno de los cristalinos flotando en su propio vítreo en el interior de la cubeta. Creemos que este sistema proporciona resultados más parecidos a la realidad, cuando el cristalino está dentro del globo ocular y la tensión del cuerpo ciliar es mínima. La figura 3.8 muestra la comparación cualitativa de los interferogramas de esta lente sin arandela, con arandela y flotando en el vítreo. Son notables las diferencias entre los tres métodos de sujeción siendo más acusada esta diferencia cuando la lente se apoya directamente sobre el fondo de la cubeta.

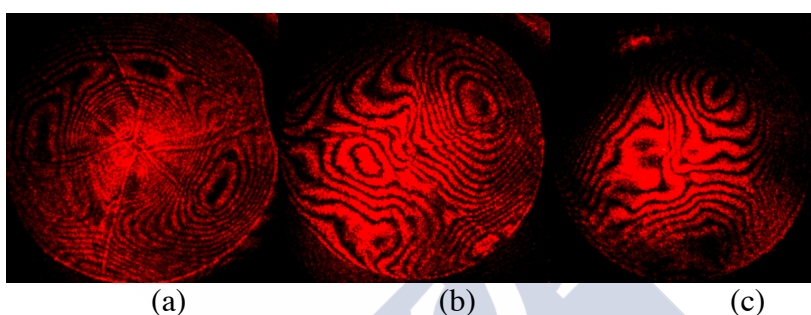


Figura 3.8. Interferograma real para el mismo cristalino examinado con los tres métodos de sujeción: sobre el fondo de la cubeta (a), sobre una arandela (b) y flotando en el humor vítreo (c).

En la figura 3.9 se presentan los resultados cuantitativos del análisis de los interferogramas de la figura 3.8,. Podemos observar que hay diferencias significativas entre los tres montajes, siendo la medida sin arandela la que más difiere de las otras dos, excepto para el trefoil.

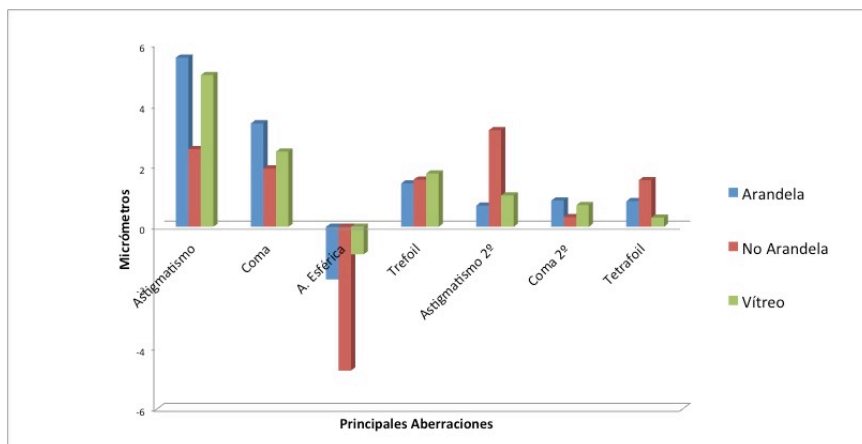


Figura 3.9. Diferencias de aberraciones para el mismo cristalino con arandela, sin ella y en vítreo.

3.4.3 ELECCIÓN DEL MÉTODO DE SUJECIÓN

En los estudios *in vitro* de propiedades ópticas, los cristalinos se encuentran liberados de la tensión del cuerpo ciliar, por lo que presentan un estado refractivo similar a cuando está totalmente acomodado. Nuestros resultados muestran que el IDO permite observar a simple vista la influencia de los diferentes métodos de sujeción, que se confirman cuantitativamente con el posterior procesado de los interferogramas.

Estas diferencias en los interferogramas se ven principalmente en el centro, donde el cristalino y la cubeta están en contacto, con la presencia de varias franjas concéntricas en el caso del análisis sin arandela. Estas franjas inicialmente se atribuyen a la aberración esférica del cristalino, sin embargo, su comparación con el otro sistema de sujeción revela que son inducidas por la deformación de la cara anterior de éste al apoyar en el fondo de la cubeta. Podríamos pensar que este hecho solamente induce cambios en las aberraciones simétricas, lo que podría significar que el análisis de los términos no simétricos no sería afectado. No obstante, encontramos también cambios en el astigmatismo y el coma.

Tras probar a sostener el cristalino en su propio humor vítreo para imitar su colocación en el interior del globo ocular encontramos que, tras el procesado de los interferogramas, la diferencia entre esta situación y colocarlo sobre arandela no es significativa, sin embargo difiere mucho

del método en el que el cristalino se apoya directamente sobre el fondo de la cubeta (figura 3.9). Aunque la situación más parecida a la real es la de suspender el cristalino en su propio vítreo, además de ser un medio que evita su degradación y no modifica su forma, se trata de un método extremadamente complicado, en cuanto al centrado, y sucio, en el sentido de que puede conllevar restos de sangre y pigmento que afectan a la calidad del interferograma.

Por supuesto hay una diferencia en el número de franjas de los interferogramas obtenidos con arandela y suspendido en el vítreo, lo que es causado por la diferencia de índice de refracción entre el Medio 199 suplementado y el humo vítreo bovino.

La aberración esférica es la que presenta mayor dependencia del sistema de sujeción siendo 5 veces menor cuando se usa la arandela que cuando se apoya en el fondo de la cubeta. En cuanto al astigmatismo notamos el comportamiento contrario, éste incrementa con el uso de la arandela, siendo en media el doble del que se obtiene sin ella.

Por tanto, a la vista de los resultados de este análisis la deformación del cristalino cuando se coloca directamente sobre el fondo de la cubeta puede evitarse con el uso de un anillo para una mejor estimación de sus aberraciones. Aunque evaluamos el uso del propio humor vítreo para suspender la lente sin inducir tensiones anisotrópicas que puedan afectar las aberraciones, esta técnica es muy complicada y el resultado no difiere de manera significativa del estudio con arandela con lo que nos decidimos a hacer las medidas con la arandela y en Medium 199.

3.5 ANÁLISIS DE LOS CRISTALINOS CON SUTURAS EN “Y”

En este apartado se comentarán los resultados obtenidos al analizar con el IDO las aberraciones de cristalinos de tres especies diferentes con patrón de suturas en Y y su relación.

3.5.1 METODOLOGÍA

Para estudiar la relación entre el patrón de suturas en Y y las aberraciones del cristalino decidimos estudiar tres especies con diferentes tamaños de esta lente (cerdo, oveja y vaca). El estudio incluyó 30 cristalinos, 10 de cada especie, de ojos izquierdos y derechos indistintamente.

Una vez extraídos, los colocamos sobre una arandela metálica dentro de la cubeta inmersos en Medium 199 suplementado para evitar el contacto de la parte central con el fondo del recipiente, lo que causaría su deformación y afectaría a la medida como se mostró en el apartado 3.4.

El montaje del IDO que empleamos se ha descrito en el apartado 3.3. Las pupilas utilizadas en este caso son de 6,5 mm para los cristalinos porcinos, de 9,0mm para los ovinos y de 11,0 mm para los bovinos.

3.5.2 RESULTADOS

Antes de analizar los interferogramas procedimos a establecer el sistema de referencia para cada cristalino individualmente, es decir, localizar las suturas mediante una fotografía sin introducir franjas. A partir de las imágenes de las suturas, trazamos 50 puntos sobre cada uno de los plano de las suturas, que se ven como líneas en las imágenes (figura 3.10). Los puntos marcados se ajustaron a una recta con el fin de obtener la orientación de la sutura. Establecimos la sutura vertical como el eje a 0° o de referencia. En la figura 3.11 se muestra la posición de los planos de sutura respecto la vertical, donde se puede observar que, como se esperaba, están situadas a una media de 60° (con una desviación estándar de 6°) de la sutura vertical.

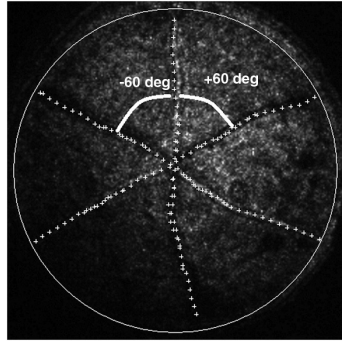


Figura 3.10. Puntos empleados para ajustar las suturas a una línea

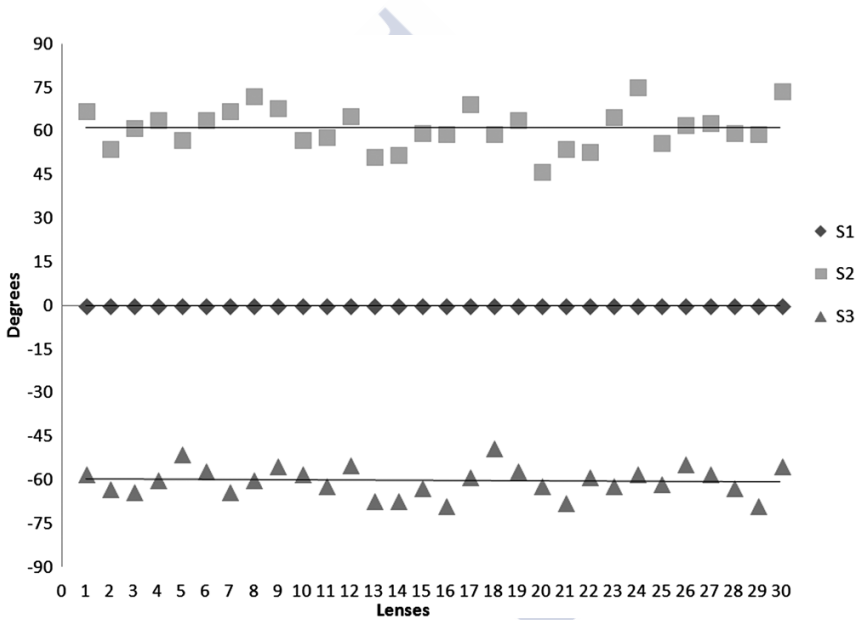


Figura 3.11. Representación gráfica de la posición de las suturas (S2 y S3) con respecto a la sutura vertical (S1) tomada como 0°, los 10 primeros corresponden a cristalinicos de vaca, del 11 al 20 son de cerdo y del 21 al 30 de oveja.

Tras establecer la posición de las suturas analizamos los interferogramas de cada cristalino trazando las franjas oscuras con el programa Atmosfringe 3.3. En primer lugar estudiamos el número de polinomios necesarios para minimizar el valor del error de RMS, como se explica en el apartado 3.3.2. En la figura 3.12.a se muestran los resultados de los valores del error de RMS de la fase. Estos resultados, junto el criterio del test “chi-by-eye”, nos lleva a considerar que para

proporcionar un buen ajuste son suficientes 16 términos de Zernike para los ojos de cerdo, 25 para los de oveja y 37 para los de vaca, ya que aumentar el número de número de términos de Zernike no proporciona un decrecimiento significativo del error de RMS (menor de 0,1 longitudes de onda). En la figura 3.12.b se representa el interferograma real de un cristalino de cada especie y su interferograma simulado correspondiente obtenido con el número mínimo de Zernikes para cada especie.

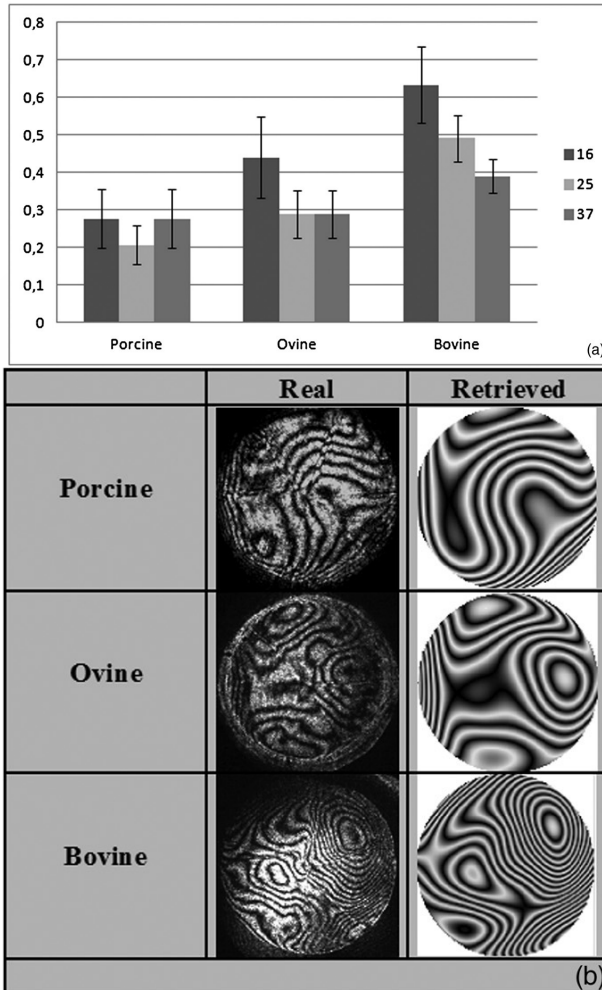


Figura 3.12. En la figura (a) se muestra el error RMS del ajuste (en ondas) en función del número de términos de Zernike considerado para la estimación del frente de onda; en (b) se representa el patrón de interferencia (real) y el simulado (retrieved) con el mínimo número de polinomios que minimiza el error de RMS, 16 para los cristalinos de cerdo (porcine), 25 para los de cordero (ovine) y 37 para los de vaca (bovine)

Mediante la ecuación 3.3 calculamos la magnitud de todas las aberraciones no simétricas con los coeficientes de los términos de Zernike que nos proporcionaba el software empleado. La figura 3.13 muestra el valor medio de la magnitud de las aberraciones más significativas obtenidas para estas tres especies en el 90% de la pupila. En ésta se puede ver que en todas las especies estudiadas las aberraciones no simétricas más representativas son astigmatismo primario y secundario, coma y *trefoil*. En los cristalinos de cerdo y vaca, las aberraciones más significativas por orden de importancia son prácticamente las mismas: astigmatismo primario, coma primario, *trefoil*, astigmatismo secundario y coma secundario. Para los cristalinos ovinos, el orden en el coma primario y el *trefoil* se invierte.

En función del tamaño, podemos decir que a mayor tamaño de cristalino mayor es la magnitud de todas las aberraciones, excepto en la aberración esférica que no se cumple este criterio.

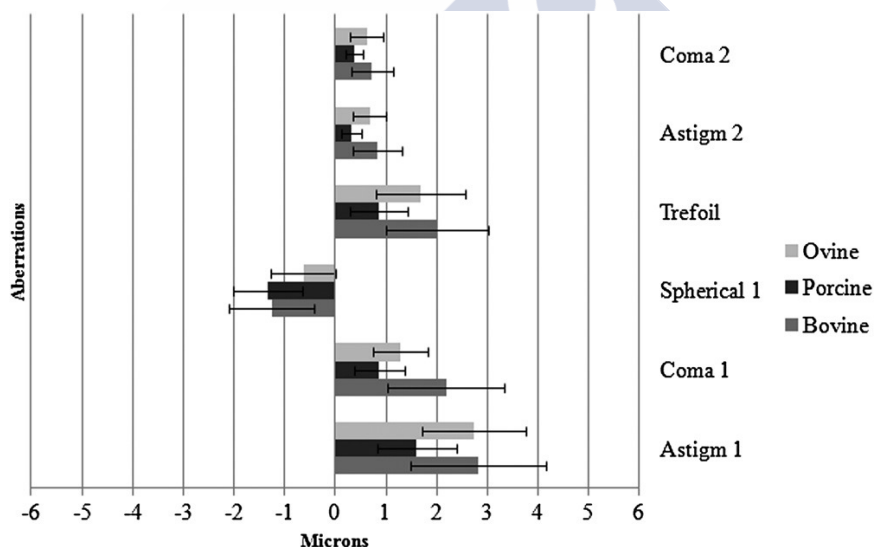


Figura 3.13. Magnitud media de las principales aberraciones de los cristalinos de las tres especies estudiadas

Para establecer la relación entre los planos de sutura y los ejes de las diferentes aberraciones, calculamos el ángulo de cada eje de aberración no simétrica por ecuación 3.2, presentada anteriormente en este capítulo. El eje de la aberración lo calculamos nuevamente respecto al sistema de

coordenadas establecido con las suturas. Las figuras 3.14, 3.15 y 3.16 muestran los resultados para el astigmatismo y coma primarios, y *trefoil* respectivamente, y las figuras 3.17 y 3.18 para el astigmatismo y coma secundarios.

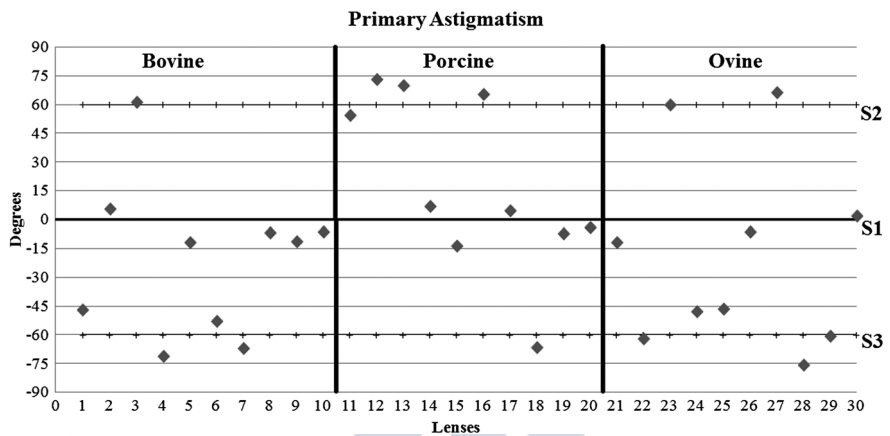


Figura 3.14. Disposición del eje del astigmatismo primario en relación con las suturas

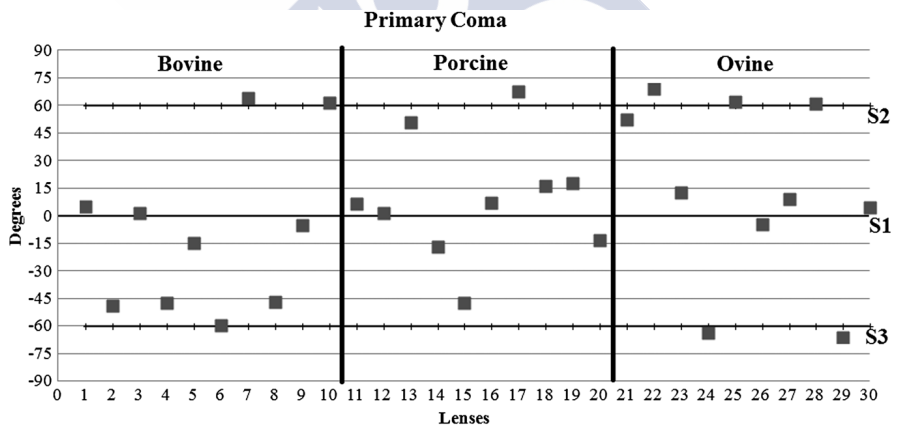


Figura 3.15. Disposición del eje del coma primario en relación con las suturas

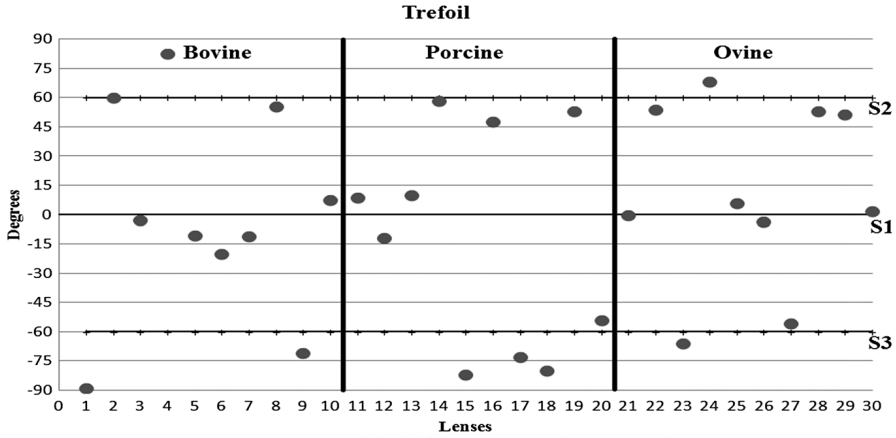


Figura 3.16. Disposición del eje del *trefoil* en relación con las suturas

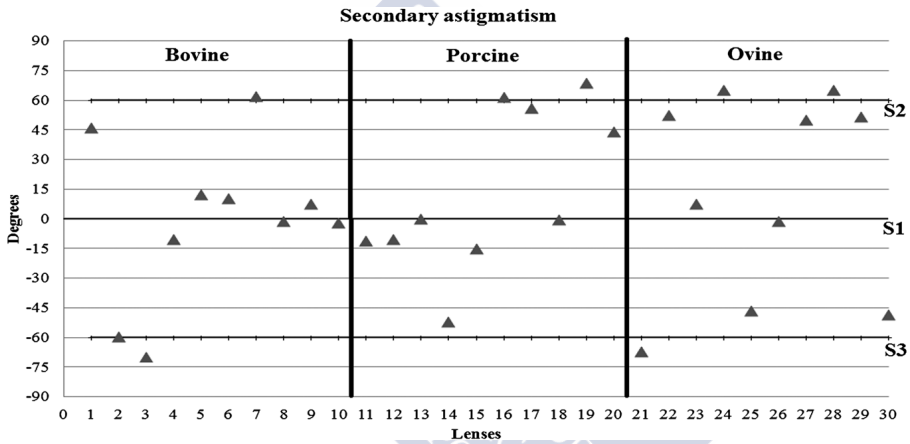


Figura 3.17. Disposición del eje del astigmatismo secundario en relación con las suturas

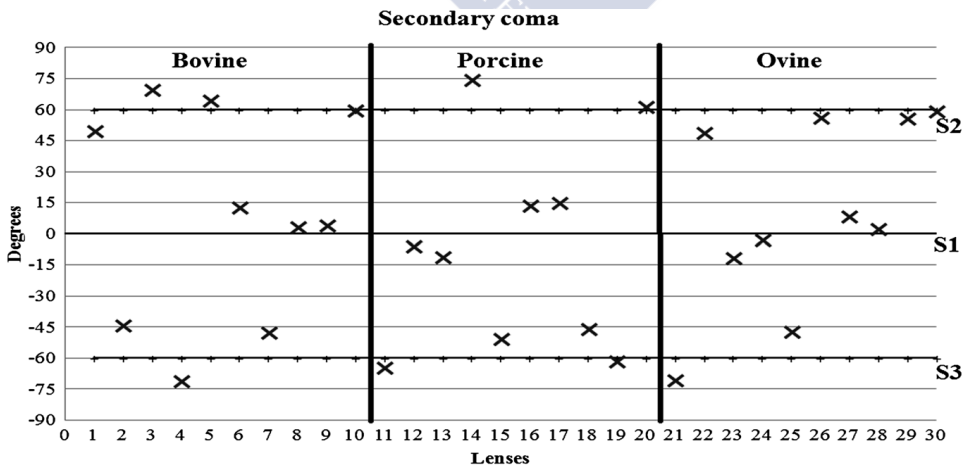


Figura 3.18. Disposición del eje del coma secundario en relación con las suturas

En todos los casos observamos que el eje de la aberración estudiada se encuentra siempre muy próximo una de las tres suturas, pero de manera aleatoria salta de una a otra dependiendo del ojo. Para una mejor visualización de los resultados representamos las diferentes aberraciones en diferentes figuras. Para determinar si era una única sutura la que producía todas las aberraciones en cada ojo hemos incluido una composición de las gráficas del astigmatismo y el coma primarios (figura 3.19), donde podemos observar que no hay un eje común para todas las aberraciones de un mismo cristalino.

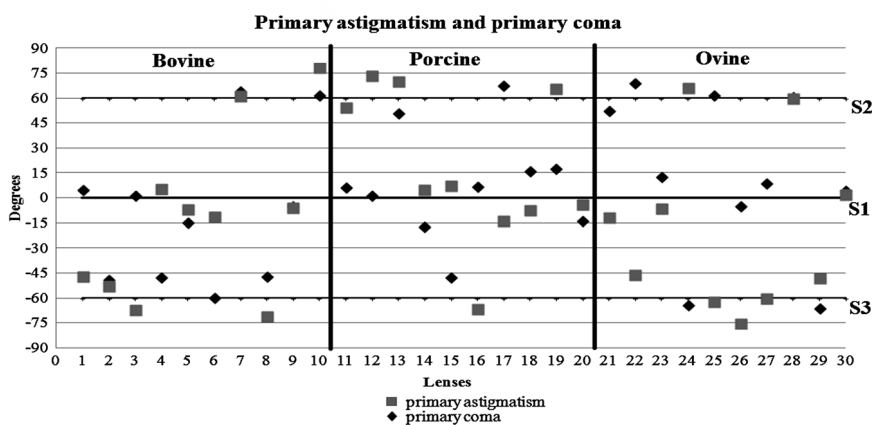


Figura 3.19. Disposición del eje del coma y el astigmatismo primarios. En la gráfica vemos que en algunos cristalinicos coinciden ambos ejes y en otros se disponen alrededor de suturas diferentes.

Este resultado se mantiene para todas las aberraciones. Para el *trefoil* la fórmula dada en la ecuación 3.2 también muestra que el eje se coloca aleatoriamente sobre una sutura u otra según el cristalino, sin embargo debido a la frecuencia azimutal de esta aberración, está claro que cada lóbulo del *trefoil* recae sobre una sutura. El eje calculado solo indica que el pico o el valle de la aberración se mantiene al borde del plano de sutura.

El software empleado, Atmosfringe 3.3, nos permite extraer de cada interferograma la simulación de cada aberración individualmente o simular el interferograma de la combinación de varias de ellas para estudiar cuanto aportan a la aberración de onda total de cada cristalino.

Con el fin de ilustrar visualmente la relación entre las suturas y los ejes de las aberraciones no simétricas, hemos superpuesto la imagen real de las suturas a la de los interferogramas del astigmatismo, coma y *trefoil* que se extraen de su interferograma real. En la figura 3.20 se muestra esta superposición, el eje calculado del astigmatismo y el coma se ha marcado con dos líneas y la sutura vertical con un punto en todos los cristalininos, se puede observar la alta correlación entre el eje de la aberración y una de las suturas.

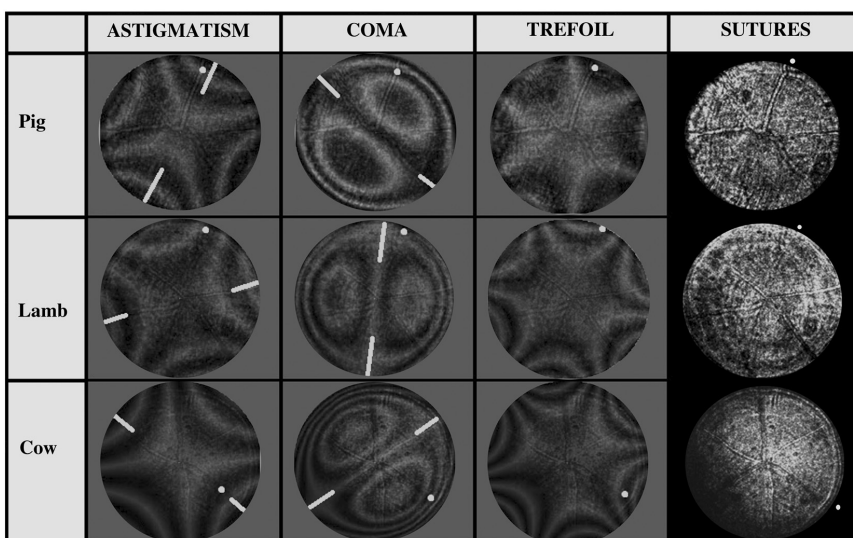


Figura 3.20 Imagen real de las suturas superpuesta a los interferogramas simulados del astigmatismo primario, coma primario y *trefoil* para cada especie. Las líneas blancas marcan el eje de la aberración, el punto blanco la sutura vertical que es considerado como eje de referencia, 0 grados.

Nuestros resultados apuntan a las suturas del cristalino como un origen histológico de las aberraciones ópticas no simétricas de éste. Estos hallazgos serán discutidos en el capítulo 5, comparándolos con los hallazgos de otros estudios y otros tipos de sutura.

CAPÍTULO 4

CARACTERIZACIÓN ÓPTICA DE CRISTALINOS DE PECES TELEÓSTEOS

4.1 INTRODUCCIÓN

En el medio acuático la córnea se encuentra rodeada de líquidos de índices de refracción muy similares al suyo (agua y humor acuoso) por lo que pierde prácticamente todo su poder refractivo. De esta manera, la tarea de focalizar la imagen en la retina recae principalmente en el cristalino. Asumiendo este elemento como el principal responsable de la refracción ocular, estudiar las características ópticas de los cristalinos de peces nos permite conocer con cierta precisión la calidad óptica total del ojo, si bien es cierto que la calidad de visión final vendrá dada por la integración a nivel sensorial de la imagen proyectada en la retina.

Como ocurre en los demás vertebrados, los cristalinos de peces están formados por fibras cristalínianas ordenadas formando capas superpuestas. En este caso, las fibras convergen en un punto, dando lugar a lo que se denominan suturas umbilicales, una en el polo anterior y otra en el posterior. Cuando consideramos todo el espesor del cristalino esta sutura formaría una línea desde el centro de la superficie anterior al centro de la superficie posterior, coincidiendo con el eje anteroposterior (Kuszak, Zoltoski, & Sivertson, 2004).

A diferencia de los vertebrados terrestres, el cristalino de los peces no se mantiene en su posición por las fibras zonulares sino por dos o más músculos que se anclan a éste por medio de un ligamento. La acción de estos músculos puede mover el cristalino axialmente y es así como el ojo enfoca objetos a diferentes distancias (figura 4.1) (Khorramshahi, Schartau, & Kröger, 2008).

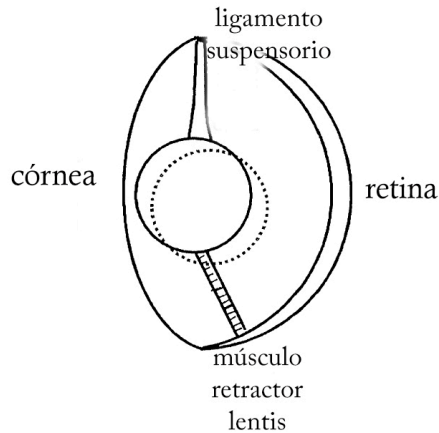


Figura 4.1. Esquema en 2 dimensiones de un ojo de pez teleosteo donde se observa el mecanismo de acomodación mediante desplazamiento del cristalino.

Generalmente, se asume que los cristalinios de los peces son esféricos, y su tamaño varía enormemente entre especies, llegando a medir hasta 38,9mm de diámetro en algunas especies (Kröger, Fritsches, & Warrant, 2009). Esta forma produce una cantidad considerable de aberración esférica, sin embargo es compensada en parte por el gradiente de índice de refracción que presentan estos cristalinios, cuya distribución disminuye desde el interior hacia el exterior (desde 1,40 hasta 1,38) (Jagger, 1992).

Por otro lado, cabe destacar que, como método para compensar la aberración cromática longitudinal, estas lentes presentan zonas multifocales que focalizan selectivamente las longitudes de onda sobre la retina (Kröger R. , Campbell, Fernald, & Wagner, 1999).

El objetivo de este capítulo es caracterizar la calidad óptica de los cristalinios de peces teleosteos, así como su simetría esférica y las características ópticas en función de las suturas. Presentaremos a continuación los resultados obtenidos con el interferómetro de difracción por orificio.

4.2 MEDIDA DE LAS ABERRACIONES DE LOS CRISTALINOS DE PECES CON EL IDO.

Este apartado muestra el procedimiento y resultado del análisis de las aberraciones y esfericidad de los cristalinos de peces cuando aplicamos el mismo diseño del IDO del capítulo anterior para cristalinos con sutura en Y.

4.2.1 EXTRACCIÓN DE LOS CRISTALINOS DE PECES

Compramos los peces frescos en un mercado local. Para garantizar su transparencia, los cristalinos fueron extraídos de los globos oculares en unas pocas horas tras la captura. Aunque no podemos saber con exactitud las horas desde la muerte del pez, siempre se analizaron dentro de las primeras 12 horas, tenemos que resaltar que otros experimentos realizados en nuestro grupo con peces de piscifactoría sacrificados en el momento del análisis (los cristalinos fueron extraídos unos minutos después de la muerte) no encontramos diferencias en los resultados.

Primero se procede a extraer el ojo de la cabeza del pez con material quirúrgico. Posteriormente se abre el globo ocular haciendo una incisión en la esclera a la altura del ecuador.

A diferencia de los mamíferos, el sistema de acomodación que sujeta el cristalino en los peces teleósteos consiste en un músculo, anclado a la parte inferior, y un ligamento suspensorio, insertado en la zona superior, como se observa en la figura 4.1. Estas estructuras son fácilmente reconocibles a simple vista, así que con cuidado las separamos de la pared interna del ojo dejando su otro extremo adherido a la lente. Esto nos facilita el manejo y posicionamiento del cristalino extraído en la cubeta. La colocación en la cubeta fue igual que en el capítulo 3, apoyando la cara anterior sobre una arandela e inmerso en Medium 199 suplementado (figura 4.2).



Figura 4.2. Cristalino de pez en el interior de la cubeta. En la imagen se aprecia una zona más oscura en la esfera transparente que corresponde con el músculo retractor del cristalino que se dejó adherido.

4.2.2 EL IDO PARA ESTUDIOS DE ABERRACIONES DE CRISTALINOS DE PECES

Comenzamos utilizando el montaje experimental del IDO, detallado en el capítulo 3, para estudiar las aberraciones que presentaban los cristalinos con suturas en Y. Igual que en el caso anterior las pupilas eran de aproximadamente el 95% del diámetro total de los cristalinos. Estos se alinearon con el plano ecuatorial perpendicular a la dirección del haz láser con ayuda de su músculo retractor y ligamento elástico. Un sistema de captura de imágenes registró los interferogramas que fueron analizados con el software comercial Atmosfringe 3.3.

4.2.3 RESULTADO: INTERFEROGRAMAS DE CRISTALINOS DE PECES

Cuando se iluminan los cristalinos de peces con un frente de onda plano que se propaga perpendicular a su plano ecuatorial, es decir, alineado con las suturas de la cara anterior y posterior, y situamos el orificio de la lámina del IDO en eje, la inspección visual de los interferogramas revela una alta simetría de revolución en la parte central que se va perdiendo al acercarse a la periferia, así como un predominio de

aberración esférica, como se puede observar en la figura 4.3, correspondiente a un cristalino de *Pagellus Bogaraveo* (besugo). Sin embargo, cuando situamos la lámina de esta manera, nos encontramos algunas dificultades en el análisis. Por un lado, encontramos en el interferograma saltos de la fase y aparición de bifurcaciones en las franjas, que imposibilitan el trazado y la numeración correcta de éstas y por tanto el análisis de las aberraciones con el software Atmosfringe. Por otro lado, tampoco nos permite visualizar la multifocalidad descrita en la literatura (Kröger R. , Campbell, Fernald, & Wagner, 1999) (Malkki & Kröger, 2005).

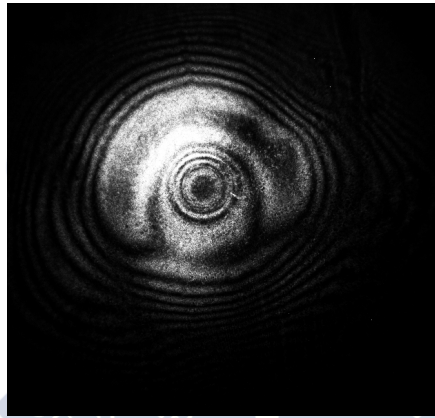


Figura 4.3 Interferograma de un cristalino de *Pagellus Bogaraveo* (besugo)

La posibilidad de introducir franjas portadoras lineales, mediante desplazamientos transversales de la lámina, nos revela la presencia de 6 a 8 zonas anulares casi concéntricas, en aproximadamente el 60% central del diámetro del cristalino, donde las franjas cambian de forma brusca su dirección. Este hecho implica claras diferencias cuantitativas de focalización entre estas regiones. El cambio de dirección nos permite delimitar el diámetro interno y externo de las regiones anulares (figura 4.4). Debemos resaltar que, aunque el cambio de foco de un anillo al siguiente no es suave, las franjas son continuas. En otras palabras, la fase es continua, pero no derivable. Este comportamiento multifocal es el que utilizan algunos tipos de lentes de contacto para corregir la presbicia, puesto que permiten enfocar a diferentes distancias, mostramos un interferograma de este tipo en la figura 4.5.

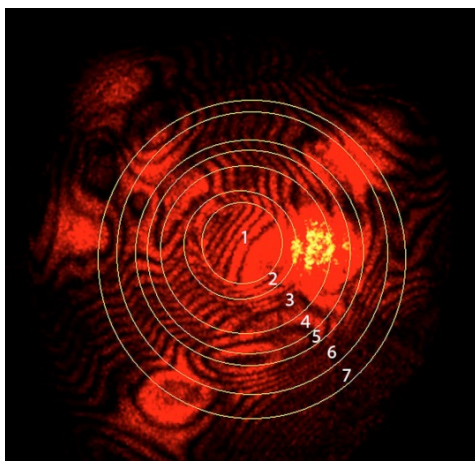


Figura 4.4. Se observa un interferograma de un cristalino de besugo donde hemos dibujado los círculos que delimitan las 7 primeras zonas centrales, marcadas por el cambio brusco de dirección de las franjas.

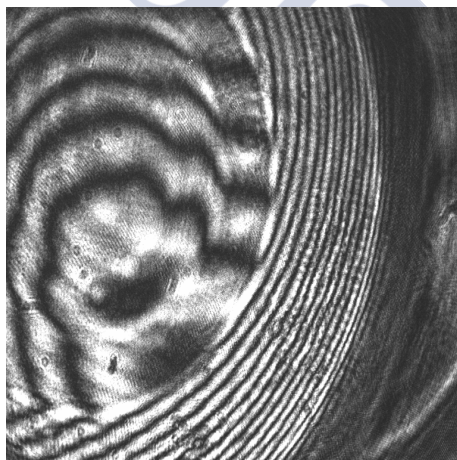


Figura 4.5. Interferograma de una lente de contacto multifocal

El software Atmosfringe 3.3 nos permite trazar y analizar las franjas dentro de regiones anulares. De esta manera procedimos a analizar cuantitativamente las aberraciones de los cristalinos para comprobar lo observado visualmente. Para ajustar la fase usamos en este caso los 9 primeros polinomios de Zernike, indicados en la tabla 2.1, suficientes para optimizar el error de RMS en cada anillo. El interferograma reconstruido se muestra en la figura 4.6.

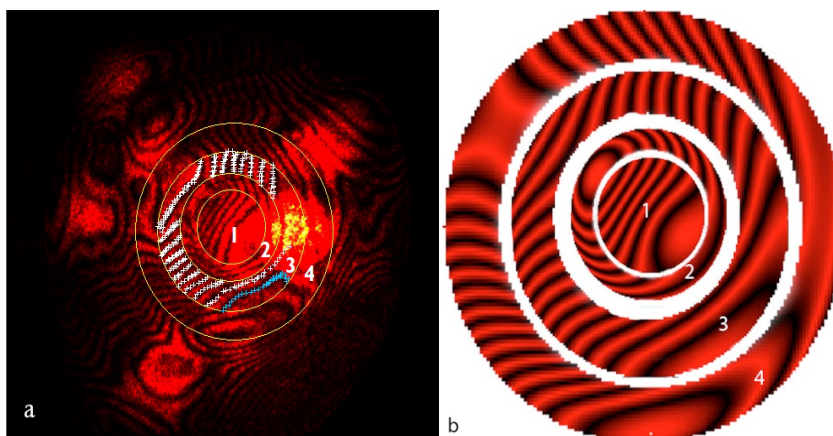


Figura 4.6. Interferograma simulado obtenido con Atmosfringe 3.3 (b) a partir de los datos de las primeras 4 zonas centrales del cristalino (a) mostrado en la figura 4.4.

Los resultados obtenidos para las primeras 4 zonas centrales se resumen en la tabla 4.1. Podemos ver que no sólo aumenta el desenfoque hacia la periferia, como esperábamos, sino que el astigmatismo y el coma también lo hacen.

	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4
Desenfoque	-0.55	0.12	0.92	3.04
Coma	0.24	0.79	0.28	1.66
Astigmatismo	0.48	0.98	1.49	2.80

Tabla 4.1. Resultados cuantitativos de las principales aberraciones para las primeras cuatro zonas centrales del cristalino de *Pagellus Bogaraveo* (en micrómetros).

Estos resultados son consistentes con el hecho conocido de que los cristalinos de peces presentan una aberración esférica longitudinal compleja, que produce multifocalidad. En la literatura se han descrito cristalinos multifocales en muchas especies de peces teleósteos y se estima que esto se deba al gradiente de índice de refracción. Recientes estudios

confirman un cambio en el gradiente de índice de las capas periféricas que puede ser el responsable de producir diferencias significativas en la calidad óptica del cristalino (Gagnon, Söderberg, & Kröger, 2008). La multifocalidad ayuda a compensar la aberración cromática y obtener mejor calidad de imagen retiniana (Kröger & Campbell, 1996) (Karpestami, Gustafsson, Shashar, Katzir, & Kröger, 2007). Con el IDO podemos apreciar a simple vista esos cambios de focalidad en las zonas centrales del interferograma y cuantificarlos con precisión por primera vez.

Los límites de cada zona se pueden delimitar con facilidad ya que se muestran como cambios bruscos en la dirección de las franjas. Este método aporta más información a los estudios previos sobre multifocalidad en estos cristalinos. Los análisis con trazado de rayos láser no permiten ver que el cambio de foco es brusco y no continuo como se aprecia con el IDO, con el que podemos incluso cuantificar las zonas que hay en cada cristalino. Con la fotografía de Schlieren, explicada en el capítulo 1, se pueden obtener fotografías a color que permiten apreciar si se trata de un cristalino multifocal mediante la aparición de anillos coloreados muy característicos (figura 4.7) (Malkki & Kröger, 2005) (Gustafsson, Collin, & Kröger, 2008) . El IDO añade la ventaja de dar información no sólo del foco de cada zona sino también de las demás aberraciones, que, como hemos visto, varían de una a otra zona focal.

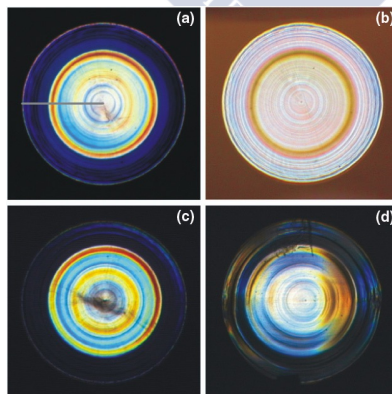


Figura 4.7 Imágenes de fotografía de Schlieren (Malkki & Kröger, 2005)

Cabe destacar que hemos encontrado zonas focales en los cristalinos de besugos pero no en otras especies que estudiamos (cabracho y jurel), en la figura 4.8 se muestra un interferograma de cabracho donde se observa que la multifocalidad no es tan marcada como en otras especies (Gagnon, Söderberg, & Kröger, 2008) (Jagger, 1992) (Karpestam, Gustafsson, Shashar, Katzir, & Kröger, 2007) (Khorramshahi, Schartau, & Kröger, 2008). Por tanto, la multifocalidad no es común a todas las especies de peces teleósteos. Para analizar las propiedades de focalización de estos cristalinos hemos desarrollado un método teórico y experimental que se detallará en el apartado 4.4.

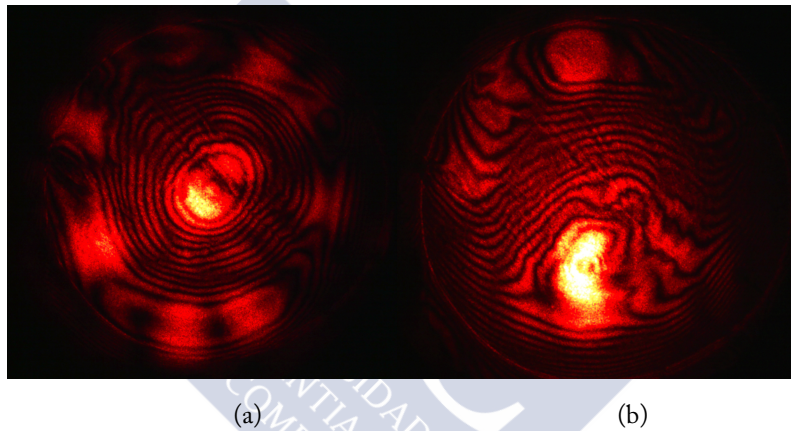


Figura 4.8 Interferogramas de un cristalino de cabracho, en (a) centrado con el orificio del IDO y en (b) introduciendo franjas portadoras lineales.

4.3 ESTUDIO DE LA ESFERICIDAD DE LOS CRISTALINOS DE PECES

Numerosas investigaciones en peces teleósteos han partido de la suposición de que el cristalino es esférico en forma y distribución de gradiente de índice (Jagger, 1992) (Kröger R. , Campbell, Fernald, & Wagner, 1999) (Vazquez, Acosta, Smith, & Garner, 2006) (Gagnon, Söderberg, & Kröger, 2008) (Gagnon, Soderberg, & Kröger). Sin embargo como ya hemos visto en el apartado anterior la simetría se pierde ligeramente hacia la periferia. El objetivo del siguiente apartado es, por tanto, utilizar el IDO para analizar la esfericidad. Mostraremos los resultados obtenidos en dos especies diferentes de peces.

4.3.1 CRISTALINOS

Se estudiaron 9 cristalinos *in vitro* de dos especies diferentes de peces, 7 de *Pagellus Acarne*, comúnmente conocido como besugo blanco, y 2 de *Scorpaena Scrofa*, más conocido como cabracho, extraídos pocas horas después de la captura.

Una vez extraído del globo ocular, como detallamos en el apartado 4.2.1, el cristalino se coloca dentro de una cubeta con Medium 199 sobre una arandela especialmente diseñada para el estudio, que permitía la toma de los interferogramas en diez posiciones diferentes, desde una posición con el plano ecuatorial ortogonal al eje óptico hasta una posición casi paralela.

Para permitir el giro se fijó en el fondo de la cubeta un cilindro metálico de 9,5 mm de diámetro, que evita giros. Sobre este cilindro se coloca una arandela con un diámetro interior un poco mayor, de 10 mm. Insertamos un pequeño tornillo a un lateral de la arandela, que sobresale un poco para ayudar a rotar y servir de referencia durante el estudio. En este caso, el cristalino se sujeta por ligamento y se introduce en la cubeta, de manera que queda en posición vertical apoyado en la cubeta por su parte inferior. Así la rotación, que conseguimos con el giro de la arandela, será siempre en torno al eje vertical (figura 4.7).



Figura 4.7. Cubeta porta cristalin. Consta de una pieza metálica circular que se fija al fondo de la cubeta y una arandela que gira alrededor de ésta. El tornillo nos ayuda a girar la arandela.

4.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL DE IDO PARA ESTUDIO DE LA ESFERICIDAD DE CRISTALINO

El cristalino, colocado verticalmente sobre la arandela que permite su rotación, es iluminado con una onda plana monocromática (633nm) por su cara anterior a través de un lateral de la cubeta (figura 4.8). A diferencia de los casos anteriores, el montaje se realiza en horizontal. En este caso, situamos la lámina del IDO después de la cubeta alejada de la zona focal del cristalino, lo que permite obtener un interferograma bien contrastado y por tanto valores precisos de la fase dentro de dicha zona, como comentamos en el capítulo 2. Una cámara CCD capturaba los interferogramas en el plano de observación y otra cámara la posición del cristalino en la cubeta.

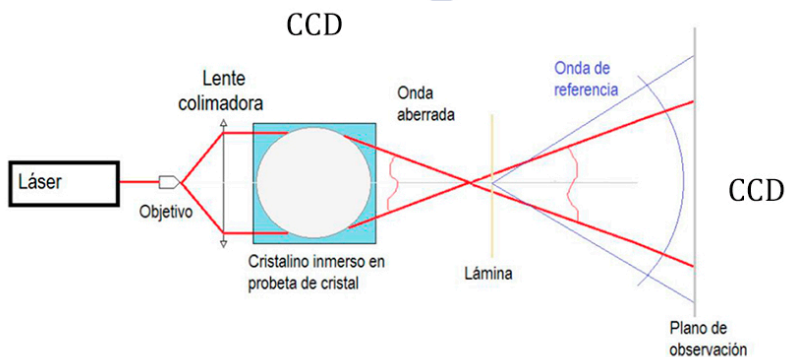


Figura 4.8. Esquema del funcionamiento del IDO para el estudio de simetría en cristalin de peces teleósteos.

Asumiendo una geometría esférica y una distribución concéntrica del índice de refracción, los interferogramas obtenidos deberían ser radialmente simétricos independientemente de su posición. El IDO nos permitirá verificar visual y numéricamente esta simetría.

4.3.3 TOMA DE MEDIDAS Y ANÁLISIS DE LOS INTERFEROGRAMAS

Para obtener las medidas, buscamos una posición de la lámina en la que el interferograma tenga el centro oscuro. De esta manera, nos aseguramos que el foco paraxial o las líneas focales del cristalino se encuentran antes de la lámina.

Para ello buscamos primero el foco paraxial, que reconocemos por un círculo brillante que ocupa casi toda la zona iluminada y desde esta posición se aleja la lámina hasta que obtengamos un interferograma pequeño con buen contraste en el centro de la lente (figura 4.9). Como ya hemos visto en la figura 4.3 el cristalino pierde simetría hacia la periferia pero el interferograma en la zona central presenta franjas concéntricas. Nuestro objetivo es cuantificar la falta de simetría y por tanto simplificamos el análisis eligiendo una posición de la lámina del IDO que produzca interferogramas pequeños de la zona central.

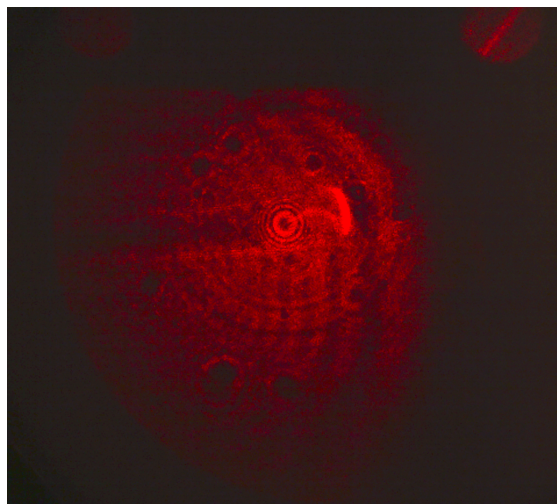


Figura 4.9. Interferograma pequeño en una zona central del cristalino de besugo

En esta posición tomamos una imagen del interferograma, junto con la imagen de la posición del cristalino en la cubeta. A continuación, giramos levemente la arandela metálica y tomamos nuevamente ambas imágenes, así hasta 10 posiciones diferentes, rotando el cristalino desde una posición con el plano ecuatorial ortogonal al eje óptico a casi paralelo (figura 4.10). Conociendo la posición del tornillo podemos evaluar aproximadamente cuantos grados separan una medida de otra.



Figura 4.10. De izquierda a derecha y de arriba abajo las 10 posiciones del cristalino para el besugo 4, el giro se aprecia por el cambio de posición del tornillo (indicado con las flechas) insertado en la arandela que sostiene el cristalino.

Al situar la lámina lejos del plano focal del cristalino, los interferogramas analizan una pequeña zona central del cristalino. Si se asume que la fase es localmente esferocilíndrica, vendrá caracterizada por dos radios de curvatura. Denominaremos R_x al radio de curvatura horizontal del frente de onda (en la dirección del ancho de la cubeta) y R_y al vertical (altura de la cubeta). El conocimiento de R_x proporcionara la posición de la línea focal vertical y R_y el de la línea focal horizontal que, de acuerdo a lo explicado en el capítulo 2, estarán a una distancia ε_x y ε_y de la lámina del IDO, respectivamente (figura 4.11).

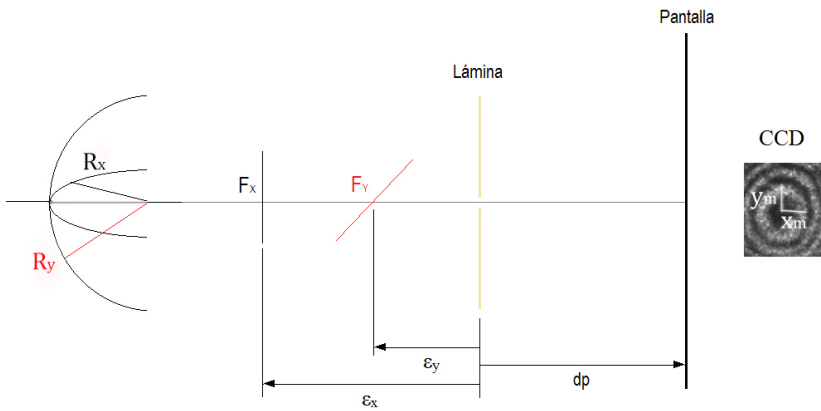


Figura 4.11 Esquema de las líneas focales.

Como se explica en el capítulo 2, las elipses que forman el interferograma se pueden considerar como la interferencia de dos ondas, la esférica de referencia, con origen en el agujero de la lámina, y la que procede del cristalino, que asumiremos puramente astigmática dentro de esta pequeña región de análisis. La fase del término interferencial viene dada por la expresión:

$$\phi(x, y) = \frac{\pi}{\lambda} \left[\left(\frac{x^2}{\varepsilon_y + dp} + \frac{y^2}{\varepsilon_y + dp} \right) - \frac{x^2 + y^2}{dp} \right] - \frac{\pi}{2} \quad (4.1)$$

donde dp denota la distancia de la lámina al plano de observación.

En la figura 4.12 se muestra un interferograma obtenido para una posición arbitraria del cristalino donde se observan las franjas de interferencia elípticas. Si una de las líneas focales se aproxima al plano de la lámina (por ejemplo cuando ϵ_y tiende a cero), el eje de la elipse (en este caso el eje x) aumenta.

Si x_m e y_m denotan los radios de la elipse que forma el primer anillo oscuro del patrón de interferencia, horizontal y vertical respectivamente, tendremos (Acosta, Chamadoira, & Blendowske, 2006):

$$\frac{\pi}{2} = \frac{\pi}{\lambda} \left[\left(\frac{x_m^2}{\epsilon_x + dp} + \frac{y_m^2}{\epsilon_y + dp} \right) - \frac{x_m^2 + y_m^2}{dp} \right] \quad (4.2)$$

De los interferogramas podemos obtener x_m e y_m , y con ello, a partir de la expresión anterior, calcular ϵ_x y ϵ_y (figura 4.12). Observamos en general, que a medida que nos alejamos de la zona central de referencia, las elipses aumentan su radio en la dirección vertical en mayor medida que en la horizontal.

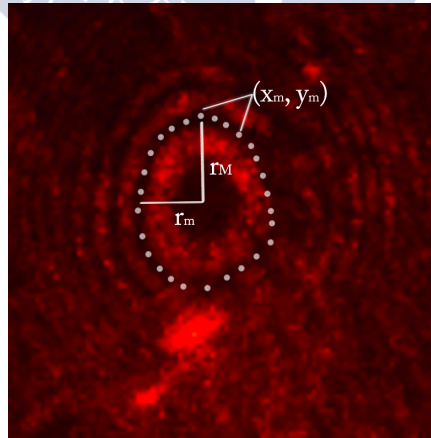


Figura 4.12. Interferograma de un pez donde la primera franja mínima describe una elipse (x_m, y_m) con radios r_M y r_m .

Para analizar automáticamente todos los datos a partir de las imágenes obtenidas con la cámara CCD del plano de interferencia,

desarrollamos con Mathcad programas específicos para procesar y analizar los interferogramas:

1. En primer lugar, se recortan las imágenes para tener una imagen más detallada de las elipses de la zona central.
2. A continuación, se puntea manualmente el primer anillo oscuro; dichos puntos se ajustan a una elipse por el método de mínimos cuadrados. De esta forma, se obtienen los valores de los radios mayor y menor de la elipse, r_m e r_M , y la orientación de la misma, α .
3. Una vez obtenidos estos datos, y tras introducir previamente los valores de la longitud de onda de la fuente de iluminación (633nm), la escala a la que está la imagen recogida por la CCD y la distancia entre la lámina y la pantalla de observación (dp); podemos calcular la distancia de las líneas focales a la lámina, ε_x y ε_y , y la elipticidad:

$$\varepsilon_x = 2 \frac{\lambda dp^2}{(r_m^2 - 2\lambda dp)} \quad (4.3)$$

$$\varepsilon_y = 2 \frac{\lambda dp^2}{(r_M^2 - 2\lambda dp)} \quad (4.4)$$

$$e = \frac{r_M}{r_m} \quad (4.5)$$

4.3.4 ESTUDIO DE LA ESFERICIDAD DE CRISTALINOS DE PECES: RESULTADOS

La muestra estudiada es heterogénea, tanto en número de ejemplares por especie como en tamaño de los mismos, debido a que la disponibilidad de estos peces es limitada. Por ello, la hemos dividido en tres grupos según el tamaño:

1. El primer grupo está compuesto por 3 besugos de mayor tamaño que los otros y por tanto de mayor edad. Los 3 cristalinos analizados de este grupo (B1, B2 y B3) tenían un diámetro de aproximadamente 9,5 mm de diámetro.
2. El segundo grupo lo forman los 4 besugos restantes (B4, B5, B6 y B7), con cristalinos más pequeños, de 7 mm de diámetro.
3. El tercer grupo está formado por los 2 cabrachos con cristalinos de tamaños similares a los del grupo 1 (C1 y C2). A partir de aquí, se analizaron los resultados comparando los tres grupos.

Como hemos indicado anteriormente, se tomaron 10 interferogramas de cada cristalino, uno por cada posición del tornillo que se observa en la figura 4.10. A medida que se gira el cristalino las franjas se hacen menos circulares y se vuelven más elípticas, por lo que la elipticidad (que podemos aproximar como $\frac{\epsilon_y}{\epsilon_x}$ dado que $dp \gg \epsilon_x$ y $dp \gg \epsilon_y$) varía según el plano ecuatorial se encuentre perpendicular al eje óptico o no (figura 4.13).

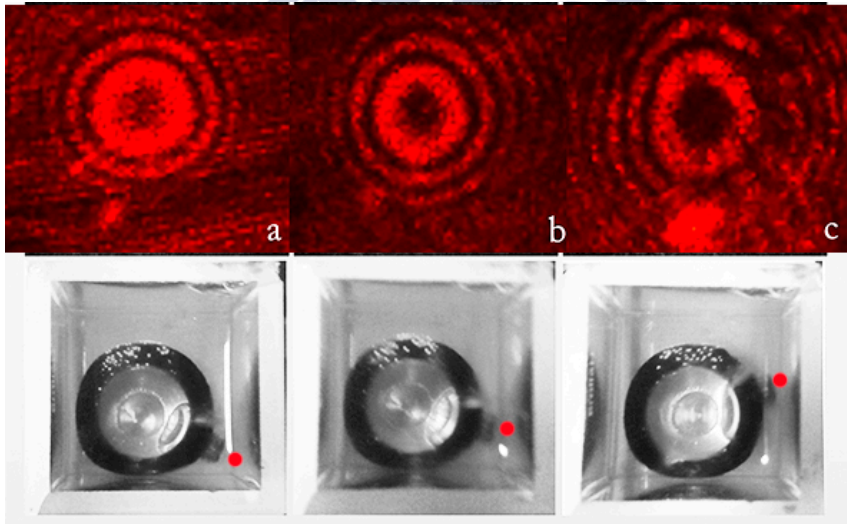


Figura 4.13 Tres interferogramas de un mismo cristalino tomado en diferentes posiciones, que se corresponden con la imagen de abajo, el punto rojo señala la posición del tornillo de la arandela. Se puede observar como las franjas cambian el tamaño de las franjas y su elipticidad al variar la posición.

En la figura 4.14 se representaron por grupos todos los valores de la elipticidad obtenidos en cada posición y cada cristalino. Lo que se denomina “orden de la medida” equivale aproximadamente a 15 grados de cambio en la posición del tornillo. No obstante, somos consciente que el cristalino pudo rotar ya que no se encontraba pegado a la arandela. Todas las gráficas se han representado a la misma escala para observar las diferencias de elipticidades según el tamaño y la especie.



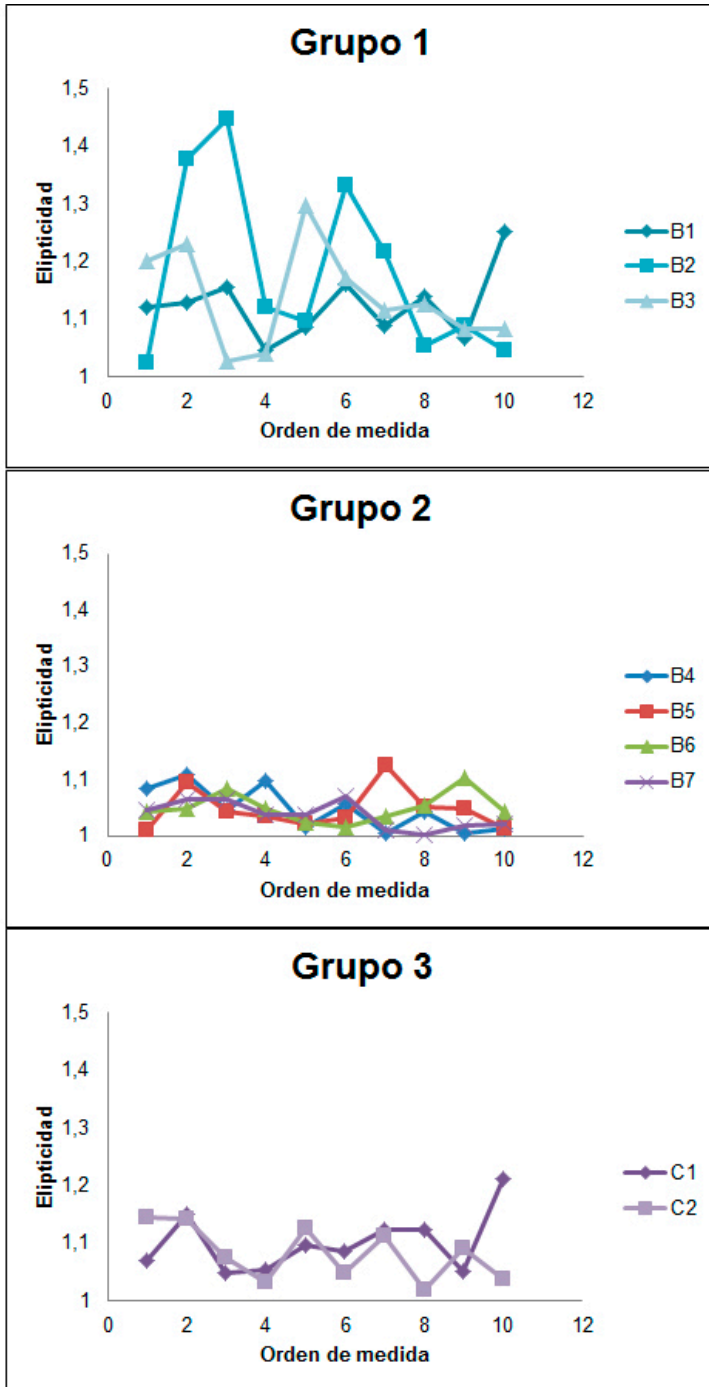


Figura 4.14 Representación de la elipticidad para cada cristalino en función de la medida.

Es importante destacar que los datos experimentales de la figura 4.14 están representados en función del orden de realización de la medida, por lo que la posición de la sutura en cada medida es aleatoria. Teniendo esto en cuenta, observamos que la elipticidad no se mantiene de una posición a otra y, además, su valor nunca es inferior a 1.

Se observa que los cristalinicos incluidos en un grupo se comportan de forma similar al resto de sus semejantes, mostrando una mayor variabilidad y magnitud en la elipticidad los besugos más grandes (grupo 1) seguidos por los cabrachos (grupo 3) y siendo el grupo de besugos más pequeños (grupo 2) el que muestra valores más similares entre ellos así como menor magnitud de la elipticidad (en torno a 1) a lo largo de todas las medidas, que podría considerarse dentro del error de medida.

Podemos intuir de las gráficas que la elipticidad varía de un valor mínimo a un valor máximo con giros de 90° , de manera que describen una gráfica con la forma siguiente:

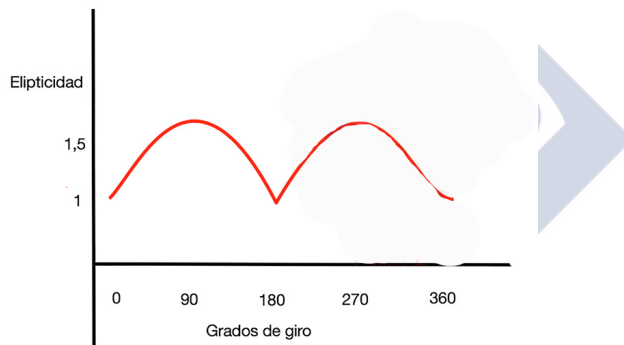


Figura 4.15. Representación de la elipticidad frente a los grados de giro.

No obstante, pequeños movimientos y rotaciones del cristalino al manipular la arandela hacen que no siempre la rotación del cristalino sea la misma que el ángulo de giro de la arandela. En base a esto analizamos los valores máximos y mínimos de elipticidad para ilustrar mejor este cambio (figura 4.16). Lo que hemos observado es que cuando el cristalino se posiciona como en el globo ocular, con el plano ecuatorial perpendicular a la trayectoria de la luz, presenta menores elipticidades que en otras posiciones

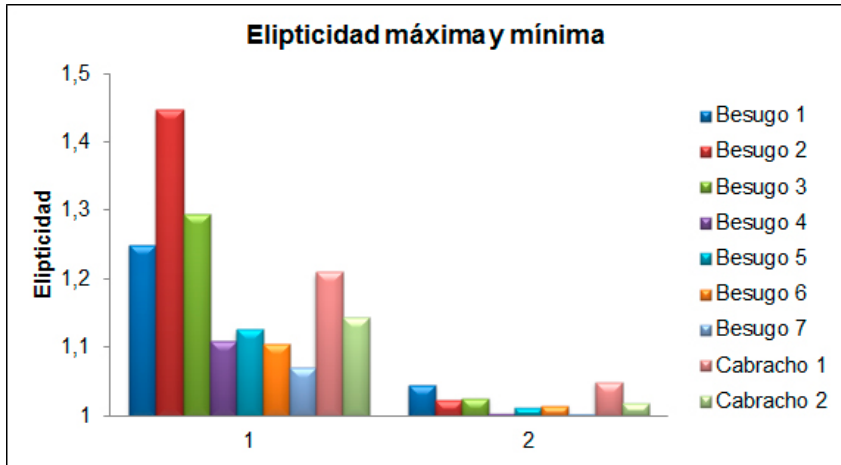


Figura 4.16. Representación de los valores máximo (1) y mínimo (2) de elipticidad para cada cristalino.

Los resultados parecen indicar que los cristalinicos de menor tamaño son más simétricos que los cristalinicos más grandes, lo cual podría ser debido a que en los cristalinicos grandes la mayor cantidad de fibras acumuladas hacia la superficie acentúa pequeñas deformidades o bien que la forma de disposición de las fibras en relación con la sutura provoque una disposición más laxa en una dirección que en otra.

Conforme aumenta la elipticidad, las focales están más separadas entre sí, y por tanto la diferencia $\epsilon_x - \epsilon_y$ se hace más positiva. Hemos observado que en todos los casos ϵ_x apenas varía para las distintas rotaciones y ϵ_y se hace más pequeña. Teniendo en cuenta que ϵ_x es la distancia de la lámina a la línea focal vertical y ϵ_y la distancia de la lámina a la línea focal horizontal, se deduce que a medida que se rota, el radio de curvatura vertical del frente de onda se hace más grande, y por tanto el cristalino se aplanar en esta dirección. Esto quiere decir que todos los cristalinicos estudiados estaban localmente más aplanados en el eje vertical que en el horizontal y, además, se hace más plano conforme nos separamos de la posición en la que se encuentra el cristalino en el globo ocular.

4.4 ESTUDIO DE LA FOCALIDAD DE LOS CRISTALINOS NO MULTIFOCALES DE PECES TELEÓSTEOS

Como hemos comentado anteriormente, la configuración histológica del cristalino, basada en capas de fibras celulares concéntricas, le confiere un gradiente de índice de refracción cuya distribución proporciona diferentes zonas focales. De hecho, se ha descrito en la literatura que ciertas especies de peces presentan cristalinos esféricos multifocales (Kröger R. , Campbell, Fernald, & Wagner, 1999) (Karpestam, Gustafsson, Shashar, Katzir, & Kröger, 2007) (Gagnon, Söderberg, & Kröger, 2008). Con el IDO hemos observado zonas de diferente focalidad en el interferograma completo de besugos (apartado 4.2). Sin embargo, nosotros hemos encontrado que no todas las especies presentan cristalinos con esta forma de focalización.

Por este motivo, proponemos un método diferente de análisis. Se basa en la evaluación local de las curvaturas del frente de onda y en la determinación de las superficies cáusticas (Stavroudis, 2006), entendidas como el lugar geométrico de los principales centros de curvatura de un frente de onda. Las cáusticas se han empleado para analizar espejos, para calcular el círculo de mínima confusión o para optimizar los sistemas ópticos, entre otras muchas aplicaciones. Se han estudiado desde diferentes perspectivas, Por ejemplo, Stavroudis (Stavroudis, 2006) desarrolló una integral general de la ecuación de la eikonal en el caso particular de un medio óptico homogéneo y Burkhard y Shealy (Burkhard & Shealy, 1982) han calculado las superficies cáusticas como el lugar geométrico de las singularidades de la densidad de flujo de la radiación que emana.

Este abordaje nos ofrece mucha información sobre la formación de imagen de elementos ópticos altamente aberrados o con mucho ruido, como los cristalinos de peces. En nuestro caso, realizamos un análisis de los interferogramas de pequeñas regiones del cristalino que nos permita determinar donde focalizan localmente y reconstruir la superficie cáustica correspondiente. A continuación comentaremos los detalles de este enfoque.

4.4.1 TEORÍA

Llamaremos $\Phi(x, y, z)$ a la fase de un frente de onda que se propaga en un medio homogéneo. Para una dirección de propagación determinada, que llamaremos z , y en un entorno de un punto (x_0, y_0) de un plano perpendicular a la dirección de propagación, que denominaremos $z=0$, la fase del haz puede aproximarse por la expansión de segundo orden en serie de Taylor:

$$\begin{aligned} \Phi(x, y) \approx & \frac{\partial \Phi}{\partial x} \Big|_{x_0, y_0} (x - x_0) + \frac{\partial \Phi}{\partial y} \Big|_{x_0, y_0} (y - y_0) + \frac{1}{2} \left[\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} \Big|_{x_0, y_0} (x - x_0)^2 \right. \\ & \left. + 2 \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x \partial y} \Big|_{x_0, y_0} (y - x_0)(x - y_0) + \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \Big|_{x_0, y_0} (y - y_0)^2 \right] \end{aligned} \quad (4.6)$$

Para un haz no paraxial $\frac{\partial \Phi}{\partial x} \Big|_{x_0, y_0} = \sin \alpha_0$ y $\frac{\partial \Phi}{\partial y} \Big|_{x_0, y_0} = \sin \beta_0$ representan los cosenos directores de los rayos en el punto elegido. Las derivadas segundas de los cosenos directores proporcionan la matriz Hessiana de $\Phi(x, y)$ que se expresa de la siguiente manera:

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} \Big|_{x_0, y_0} & \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x \partial y} \Big|_{x_0, y_0} \\ \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x \partial y} \Big|_{x_0, y_0} & \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \Big|_{x_0, y_0} \end{pmatrix} \quad (4.7)$$

La expresión anterior representa las curvaturas de la fase en el punto (x_0, y_0) (Campbell C. , 2006).

Para un frente de onda rotacionalmente simétrico podemos estudiar las propiedades ópticas en un plano tangencial ($x=0$) y la ecuación de la fase (ecuación 4.6) se reduce a:

$$\Phi(x, y) \approx \left. \frac{\partial \Phi}{\partial y} \right|_{x_0, y_0} (y - y_0) + \frac{1}{2} \left[\left. \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} \right|_{x_0, y_0} x^2 + \left. \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right|_{x_0, y_0} (y - y_0)^2 \right] \quad (4.8)$$

Para haces no paraxiales, cuando la dirección de los rayos no se puede aproximar por sus ángulos o sus tangentes, la ecuación anterior (ecuación 4.8) representa la fase de un frente de onda astigmático que puede reescribirse como:

$$\Phi(x, y) \approx \frac{2\pi}{\lambda} \sin \alpha_0 (y - y_0) + \frac{\pi}{\lambda} \left[\frac{x^2}{R_x} + \frac{\cos^2 \alpha_0 (y - y_0)^2}{R_y} \right] \quad (4.9)$$

Así R_x y R_y proporcionan la distancia desde (x_0, y_0) a las líneas focales sagital y tangencial, respectivamente, a lo largo del rayo que pasa por (x_0, y_0) con la dirección dada por $\sin \alpha_0 = \left. \frac{\partial \Phi}{\partial y} \right|_{x_0, y_0}$. Desde el punto de vista

de la óptica geométrica, podemos representar esta onda astigmática como un lápiz estrecho de rayos, como muestra la figura 4.17. Como podemos observar, el ángulo α_0 tiene en cuenta la incidencia oblicua del rayo.

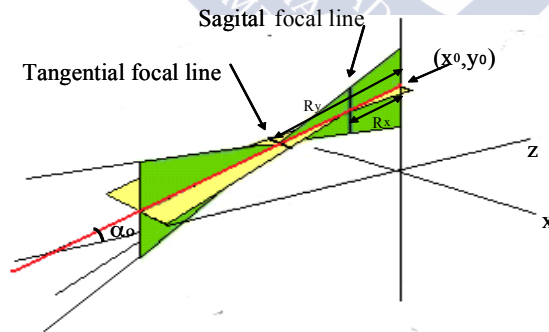


Figura 4.17. Trazado de rayos equivalente.

En el límite, cuando el tamaño de la región alrededor de (x_0, y_0) tiende a cero, las líneas focales se convierten en dos puntos focales. Haciendo esto para el entorno de cada punto del plano (x, y) podemos construir las superficies cóusticas del frente de onda como el lugar que ocupan todos esos puntos. Las llamaremos *superficies cóusticas aproximadas*.

4.4.2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

La configuración del IDO que utilizamos y el procedimiento de extracción y colocación del cristalino fue el mismo que empleamos para el análisis de la esfericidad del cristalino de peces, explicada en el apartado 4.3. Moviendo lámina a lo largo del eje z desde el foco del cristalino hacia la pantalla de observación, obtuvimos interferogramas que nos permiten ver unas pocas franjas elípticas concéntricas dentro de una región pequeña (centrada alrededor de un punto (x_0, y_0)).

Para frentes de onda rotacionalmente simétricos, podemos obtener toda la información en 3 dimensiones fijando la posición del orificio del IDO en $x_p=0$ y variando sólo y_p . En este caso, la interferencia en torno a un punto del plano de observación $(0, y_0)$ corresponde a la interferencia de la aproximación local de segundo orden de la onda de referencia generada por el orificio:

$$\begin{aligned} \Phi_{ref}(x, y) &= \frac{2\pi}{\lambda} \left((x - x_p)^2 + (y - y_p)^2 + (D)^2 \right)^{1/2} \approx \\ & \frac{2\pi}{\lambda} \sin \alpha_0 (y - y_0 - y_p) + \frac{\pi}{\lambda} \left[\frac{x^2}{\sqrt{D^2 + (y_0 - y_p)^2}} + \frac{D^2 (y - (y_0 - y_p))^2}{\sqrt{(D^2 + (y_0 - y_p)^2)^3}} \right] \end{aligned} \quad (4.10)$$

y la onda bajo test:

$$\Phi(x, y) \approx \frac{2\pi}{\lambda} \sin \alpha_0 (y - y_0) + \frac{\pi}{\lambda} \left[\frac{x^2}{R_x} + \frac{\cos^2 \alpha_0 (y - y_0)^2}{R_y} \right] \quad (4.11)$$

La línea que une el centro del interferograma $(0, y_0)$ y la posición del orificio $(0, y_p)$ proporciona la derivada primera de la fase o el coseno director

$$\sin \alpha_0 = \frac{(y_0 - y_p)}{\sqrt{D^2 + (y_0 - y_p)^2}} \quad (4.12)$$

y es común para ambos frentes de onda.

En la práctica, controlando la posición del orificio y_p y la distancia al plano de observación D podemos calcular $\sin \alpha_0$. De la medida del radio mayor y del radio menor de la elipse que forma el primer anillo oscuro, podemos calcular directamente R_x y R_y , como se explicó en el apartado 4.3.3.

En definitiva, con el IDO podemos realizar un barrido del haz en el plano de observación, que nos proporciona la primera y la segunda derivada del frente de onda como en la ecuación (4.8), o, lo que es lo mismo, las pendientes locales α_0 , y las curvaturas R_x y R_y (ecuación 4.9). Con ello podemos calcular cada punto de la superficie cáustica, como veremos en el apartado siguiente.

4.4.3 PRECISIÓN DEL MÉTODO

Para ilustrar la precisión del método, lo aplicaremos al cálculo de las cáusticas producidas por una lente plano convexa iluminada con un frente de onda plano en eje.

En primer lugar, calcularemos la posición teórica de las cáusticas mediante el trazado de rayos propuesto por Bosch (Bosch, 2011). Nos referiremos a éstas como cáusticas exactas.

A continuación, mediante el mismo método de trazado de rayos, calculamos el camino óptico de los rayos en el plano de observación. Ajustamos estos valores hasta un polinomio de grado 8 en la coordenada radial. De este ajuste procedemos a calcular las derivadas parciales locales

de primer y segundo orden del camino óptico para obtener los valores numéricos de α_0 , R_x y R_y respectivamente y calcular lo que llamaremos *cáusticas aproximadas*.

Para obtener lo que denominaremos *cáustica experimental*, empleamos el IDO y realizamos un barrido a lo largo del eje y . Ajustamos el primer anillo oscuro de los interferogramas obtenidos a una elipse, como comentamos en el apartado 4.3.3, para obtener R_x y R_y a partir de los ejes principales de la misma. Con la altura del orificio, el centro de la elipse, y_0 , y la distancia de la lámina al plano de observación calculamos α_0 . Debido a la simetría de la lente, el barrido se realiza sólo para valores positivos de y . En la figura 4.18 se ilustra la relación entre la posición del orificio, el centro de las elipses obtenidas y el coseno director del rayo, seno (α_0).

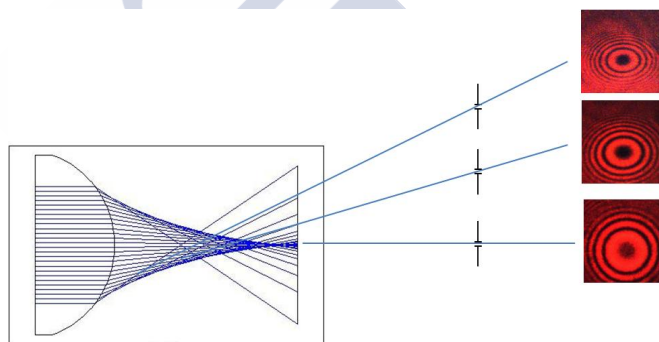


Figura 4.18. Escaneado de la fase en el plano de observación mediante movimientos transversales de la lamina con el orificio.

La figura 4.19 resume los resultados obtenidos. Podemos observar que la aproximación de segundo orden, tanto para la determinación numérica como para la experimental, presentan una buena correspondencia con la posición de las superficies cáusticas exactas. Como cabe esperar, a mayor altura del rayo la precisión de esta aproximación disminuye. No obstante, esta precisión es suficiente para calcular las superficies cáusticas de los cristalinos, como veremos en el siguiente apartado.

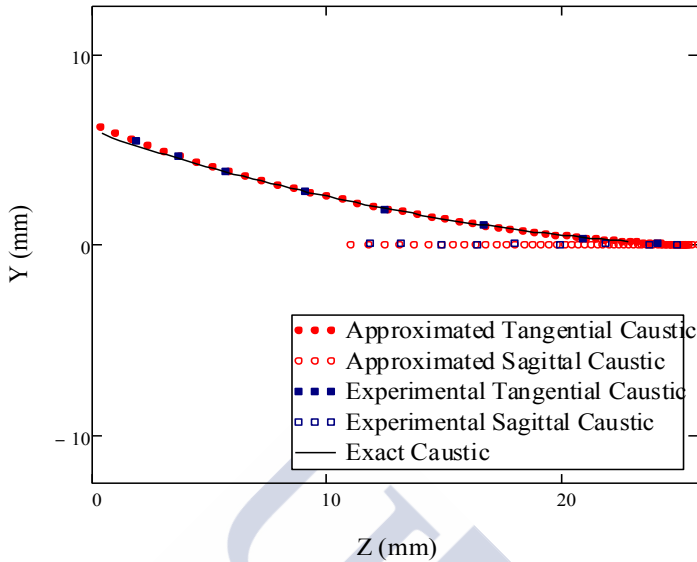


Figura 4.19 Precisión de la determinación de la posición de la caustica. Aproximada: calculada mediante evaluación numérica de la primera y segunda derivadas de la fase. Experimental: obtenida de los valores medidos del semieje de las elipses de los interferogramas. Exacta: obtenida por trazado de rayos como se describe en (Bosch, 2011).

4.4.4 DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE CRISTALINOS DE PECES

Colocamos los cristalinicos de diferentes peces en la cubeta, como describimos anteriormente, y lo situamos en el IDO. En este caso el tamaño del orificio empleado es de 14 micrómetros para permitir un mayor rango dinámico, es decir, conseguir franjas bien contrastadas en una zona pequeña.

La figura 4.20 muestra las franjas en el plano de observación y en detalle la imagen usada para el ajuste de la primera franja oscura a una elipse. Se puede observar que las franjas presentan mayor ruido que las

que se obtenían con la lente plano-convexa, aunque presentan un contraste aceptable.

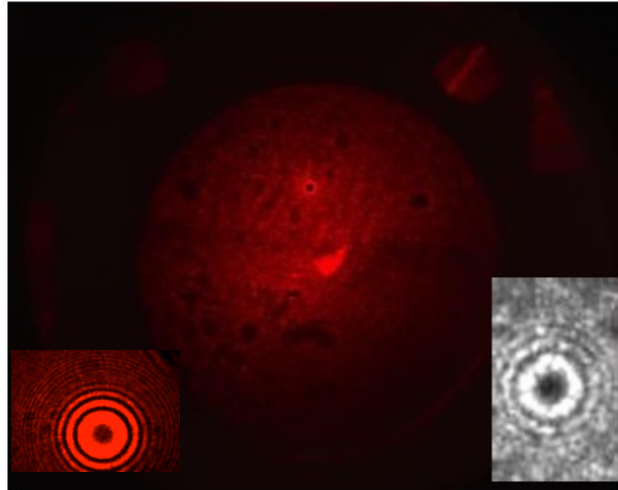


Figura 4.20 Interferograma ruidoso en una zona pequeña central de un cristalino de pez. A la derecha de la imagen se observa la ampliación del interferograma, en la parte izquierda hemos introducido un interferograma de una lente oftálmica donde no se observa tanto ruido.

Realizamos el mismo procedimiento que con la lente del apartado anterior. Pero, en este caso, realizamos el barrido en ambos sentidos moviendo el orificio hacia arriba y hacia abajo, por lo que y_p adquiere valores positivos y negativos. Con estos datos podemos evaluar la simetría de ambas ramas de la cáustica tangencial, la superior y la inferior. La figura 4.21 muestra los resultados obtenidos para las cáusticas tangencial y sagital de un cristalino de pez escorpión (*Scorpaena Scrofa*).

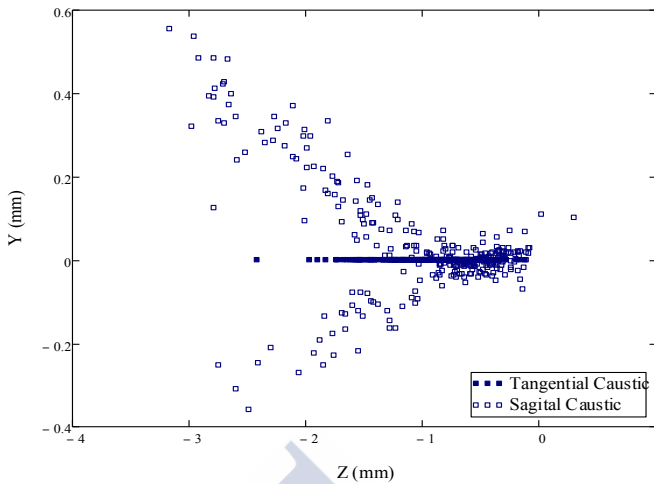


Figura 4.21. Cáusticas tangencial y sagital de un cristalino de pez.

Podemos observar que la posición de estas superficies cáusticas no es suave como en el caso de la lente plano-convexa. No obstante, la presencia de aberración esférica es notable. La simetría no es perfecta pero no hay variaciones dramáticas entre la parte superior e inferior de la superficie cáustica.

La cáustica tangencial proporciona la aberración esférica longitudinal. Teniendo en cuenta que los datos experimentales de la cáustica sagital están muy próximos a la tangencial en prácticamente la mitad del valor de la misma se puede pensar que la multifocalidad en este caso se transforma en un aumento de profundidad de foco mediante aberración esférica. Para todos los cristalinos analizados hemos observado este tipo de comportamiento.

Ajustando los datos experimentales a una curva suave se podría describir la aberración principal y cuantificar el ruido de estos tejidos biológicos. También sería posible evaluar directamente el comportamiento óptico para diferentes longitudes de onda.

En resumen, con el método propuesto podemos mapear frentes de onda ruidosos y obtener las superficies cáusticas empleando el IDO. Hemos demostrado que es de gran utilidad cuando tenemos frentes de onda muy ruidosos donde el ruido puede destruir la coherencia o inducir

dislocaciones de la fase en los interferogramas y, de esta manera, invalida las medidas como ocurre con los cristalinicos de peces teleósteos.

En siguiente capítulo discutiremos los resultados de este capítulo y el anterior, para establecer como los diferentes patrones de suturas pueden afectar a las aberraciones y cómo el IDO se presenta como una técnica muy útil para valorarlo.





CAPÍTULO 5

LA INFLUENCIA DE LAS SUTURAS DEL CRISTALINO EN SU CALIDAD ÓPTICA

5.1 INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el primer capítulo, donde describimos sus características ópticas y biológicas, el cristalino es uno de los elementos refractivos más importante en el ojo de los vertebrados. Resaltamos entonces que su compleja estructura histológica, en forma de células alargadas distribuidas ordenadamente en capas concéntricas, es la responsable de su transparencia (Bassnet, Shi, & Vrensen, 2011). Los extremos de estas fibras al unirse con otras fibras adyacentes, en la cara anterior y posterior, dan lugar a variados patrones de suturas en función de la especie y el desarrollo del cristalino (Kuszak, Zoltoski, & Tiedemann, 2004). Además, esta configuración en forma de capas le proporciona un gradiente de índice de refracción, muy importante desde el punto de vista óptico (Borja, et al., 2008).

Debido a la relevancia de su configuración histológica para mantener las características ópticas mencionadas, cabe pensar que las suturas jueguen un papel importante en la calidad de imagen del cristalino. En las últimas décadas, se ha despertado el interés en este tema y son diversos los estudios que intentan buscar un origen histológico de las aberraciones cristalinianas empleando técnicas diferentes, desde trazado de rayos láser a tomografía de coherencia óptica (Sivak & Drovat, 1983) (Sivak, 1982) (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991) (Kuszak, Peterson, Sivak, & Herbert, 1994) (Roorda & Glasser, 2004) (Gagnon, Söderberg, & Kröger, 2008) (Kröger, Fritsches, & Warrant, 2009) (Ortiz, Perez-Merino, Gamba, De Castro, & Marcos, 2012) (Sun, Birkenfeld, De Castro, Ortiz, & Marcos, 2014).

Como hemos comentado en el capítulo 1, las técnicas empleadas no son del todo precisas a la hora de mostrar la relación entre suturas y aberraciones. Con el IDO, cuyas bases teóricas y funcionamiento básico se han detallado en este trabajo, podemos solventar estos inconvenientes. Además, permite obtener un mapa continuo de las diferencias de fase entre la onda aberrada proveniente del cristalino y una onda esférica de referencia. Esto es útil para una sencilla interpretación de los resultados. A continuación discutiremos la metodología empleada y los resultados obtenidos en los capítulos anteriores.

5.2 CONSIDERACIONES PREVIAS

La manera en la que las aberraciones de la córnea y el cristalino contribuyen a la calidad final de la imagen retiniana es un tema ampliamente estudiado en el campo de la óptica fisiológica. Las aberraciones oculares se producen por la forma de las superficies, ubicación, alineación relativa, y la distribución de índices de refracción de los medios oculares. Se ha visto que en humanos existe una correlación entre el ojo izquierdo y el derecho de un mismo sujeto, sin embargo hay mucha variabilidad interindividual en el patrón de aberraciones monocromáticas (Thibos, Hong, Bradley, & Gheng, 2002). Nosotros hemos analizado cristalinios de ojos izquierdos y derechos de peces, cerdos, ovejas y vacas y no hemos encontrados diferencias significativas entre ellos.

Es ampliamente aceptado que la óptica ocular se deteriora con el envejecimiento, aunque las causas subyacentes del aumento de aberraciones relacionado con la edad siguen siendo indeterminadas. Con los años el cristalino cambia su forma y los índices de refracción efectivos, y por consiguiente, sus aberraciones. Al menos en humanos, se han visto cambios de signo y magnitud en la aberración esférica durante el periodo de vida (Guirao, Redondo, & Artal, 2000) (Navarro, Rozema, & Tassignon, 2013). La cantidad de aberraciones monocromáticas del ojo completo también se incrementa de forma lineal con la edad (Artal, Berrio, & Guirao, 2002). Las edades de los animales analizados en este trabajo era siempre la misma para los que presentan suturas en Y, para los

peces separamos las medidas por especies y tamaños – edad (ya que estas dos magnitudes están asociadas) (De Roos, Boukal, & Persson, 2006).

5.3 INFLUENCIA DEL TIPO DE SUTURA EN LAS ABERRACIONES DEL CRISTALINO

5.3.1 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS UMBILICALES: ANÁLISIS DE CRISTALINOS DE PECES TELEÓSTEOS

Desde el punto de vista evolutivo, los animales que provienen de los saurios son los menos evolucionados. Estos animales, que son las aves y los reptiles, presentan cristalinios con suturas umbilicales. Es decir, sus fibras secundarias se alargan en elipses alrededor del núcleo y confluyen en el eje anteroposterior formando capas concéntricas. Esto da lugar a una línea a lo largo de este eje si consideramos todo el espesor del cristalino. Los peces también presentan esta configuración histológica, pero en ellos el cristalino adquiere mayor relevancia al perder la córnea su poder refractivo. Además, presentan otras características que los hacen especialmente interesantes como elementos ópticos y por ello los hemos analizado en el capítulo 4.

A diferencia de las aves y reptiles, que presentan potentes mecanismos acomodativos, en los peces el cristalino no cambia su curvatura para focalizar a diferentes distancias sino que se desplaza. Esto supone una ventaja a la hora de realizar estudios *in vitro* de cristalinios aislados, ya que su forma no se modifica con respecto a como se encuentra dentro del globo ocular.

En nuestro caso, la facilidad a la hora de conseguir pescado fresco nos llevó a decidirnos por estos animales para analizar las aberraciones de cristalinios con sutura umbilical.

En general se asume que los cristalinios de peces teleósteos son esféricos. Sin embargo, al evaluar esta simetría con el IDO hemos comprobado que no es exactamente así. En el capítulo 4, apartado 4.2, mostramos los datos de elipticidad al rotar alrededor del eje vertical los cristalinios de una serie de peces variando el ángulo del plano ecuatorial con respecto a la incidencia del haz de luz que lo atraviesa. Los datos que

obtuvimos indican que sólo cuando el plano ecuatorial es perpendicular al de propagación del láser , y en una zona próxima a la sutura, se puede considerar que el cristalino mantiene la simetría de revolución. A medida que giramos el plano aumenta la elipticidad en la zona central, aunque no de forma progresiva, siendo este aumento más pronunciado cuanto mayor es el tamaño del cristalino.

Este hallazgo podría deberse a que, en los cristalinos más grandes, la mayor cantidad de fibras acumuladas hacia la superficie acentúa pequeñas deformidades, o bien, que la propia sutura ejerza tensiones que provoquen que las fibras se dispongan de un modo más laxo en una dirección que en otra e incluso tensiones producidas por las inserciones de los músculos del sistema acomodativo (figura 5.1).

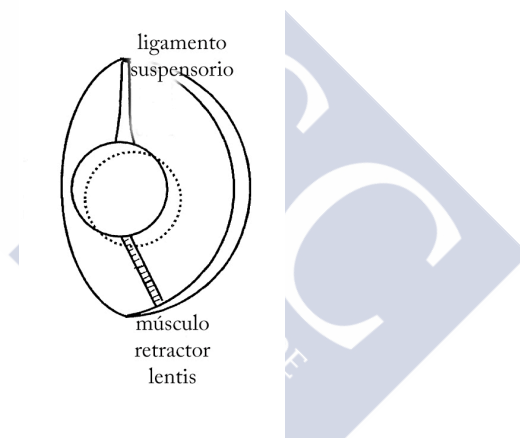


Figura 5.1. Sistema acomodativo de un pez teleosteo, las inserciones superior e inferior del ligamento y el músculo responsables de la acomodación podrían ser la responsables de un mayor aplanamiento en el meridiano vertical que observamos en nuestros resultados.

Otro dato importante es que la diferencia entre las líneas focales del cristalino, $\epsilon_x - \epsilon_y$, siempre es positiva. Teniendo en cuenta que ϵ_x es la distancia de la lámina a la focal proporcionada por el radio de curvatura horizontal y ϵ_y la distancia de la lámina a la focal de la curvatura vertical, se deduce que la focal perteneciente al meridiano horizontal está más cerca del cristalino y por lo tanto es más curva que la vertical. Esto quiere

decir que todos los cristalinios estudiados estaban ligeramente más aplanados en el eje vertical que en el horizontal. A continuación mostramos las imágenes que tomamos para cuantificar la desviación de la simetría esférica de los cristalinios (figura 5.2) en una pequeña zona central.

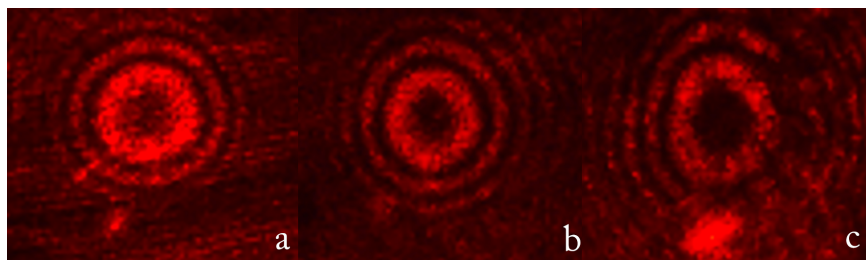
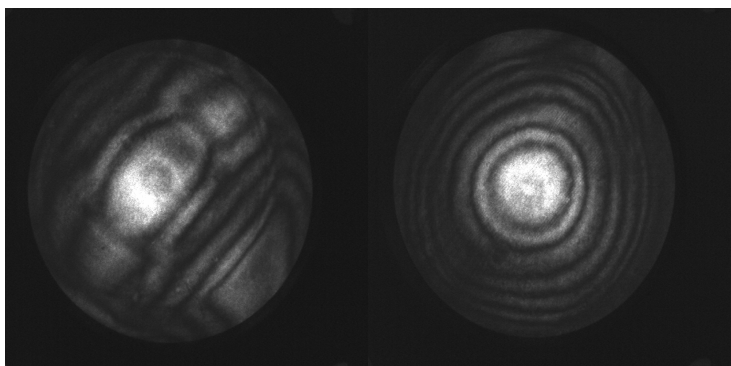


Figura 5.2. Interferogramas centrales pertenecientes un cristalino de cabracho en diferentes posiciones.

Este cambio de elipticidad con la rotación sugiere que los cristalinios de estos peces no son rotacionalmente simétricos. Por ello, el posicionamiento del cristalino aislado es importante en el estudio de su calidad óptica, para no introducir aberraciones no simétricas como el astigmatismo (figura 5.3.a), ya que cuando está bien colocado con el eje ecuatorial perpendicular a la dirección del haz que lo atraviesa se puede considerar prácticamente esférico (figura 5.3.b). Cuando posicionamos así el cristalino, la línea de sutura coincide con el eje anteroposterior. Observamos que la región central mantiene una buena simetría esférica en la zona central en comparación con la periferia. Este hecho nos hace pensar que la sutura actúa manteniendo las fibras para conseguir una mejor visión en esa zona. La falta de suturas que rompan la continuidad de las franjas en el resto del cristalino nos proporciona interferogramas mas simétricos que los de las otras especies estudiadas. No obstante, debido al gradiente de índice que hay en su interior, presenta menos aberración esférica de la que correspondería a una lente prácticamente esférica con un índice de refracción homogéneo.



(a)

(b)

Figura 5.3. Interferograma de besugo.

5.3.2 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS LINEALES: CRISTALINOS DE CONEJOS Y ANFIBIOS

Los primeros trabajos que apuntaban a las suturas como origen de las aberraciones fueron realizados en conejos, los cuales presentan suturas lineales como los anfibios. Mediante trazado de rayos láser estudiaban el efecto que tenían las suturas en la longitud focal del cristalino. Los cambios de focalidad observados al pasar el láser por estas zonas sugerían que las suturas debían ejercer influencia en las características ópticas (Kuszak, Sivak, & Weerheimt, 1991). Estos indicios de que las suturas jugaban un papel importante en la calidad óptica del cristalino condujeron a más investigaciones sobre el origen histológico de las aberraciones cristalinianas.

En nuestro caso, la dificultad para conseguir ojos de conejo o de anfibio nos ha limitado a la hora de estudiar el papel de la sutura lineal en las aberraciones. Realizamos alguna prueba con cristalinos de conejo (comprados en un mercado) pero la rápida degradación de éstos no nos permitió analizarlos cuantitativamente. Sin embargo, podemos intuir que esta configuración histológica proporciona una mayor predominancia de *tetrafoil*, como se muestra en el interferograma de la figura 5.4. Hemos realizado una simulación con el software Atmosfringe donde reproducimos un interferograma con *tretafoil* y desenfoque (figura 5.5), al

comparar la figura 5.4b con la figura 5.5 vemos que tensiones o pliegues asociados a las suturas deforman las franjas del interferograma experimental, que en su ausencia tendría un aspecto muy parecido al presentado en la figura 5.5

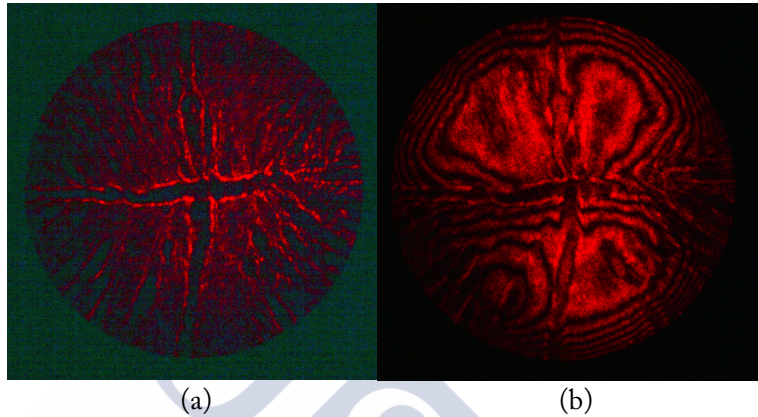


Figura 5.4. Cristalino de conejo visto con el IDO, a la derecha se observan las suturas (a) y a la izquierda el interferograma obtenido (b).

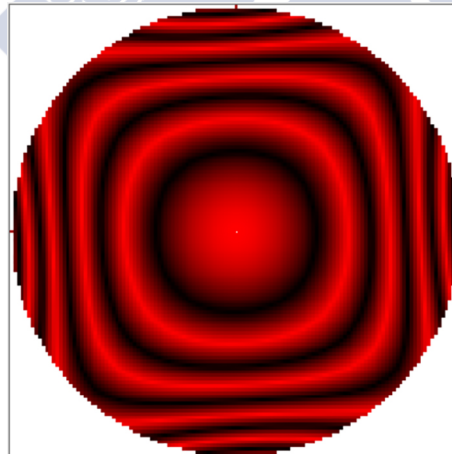


Figura 5.5. Simulación con Atmosfringe de un interferograma con *tetrafoil* y desenfoque.

5.3.3 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS EN Y: ANÁLISIS DE CRISTALINOS DE VACAS, CERDOS Y OVEJAS

En el capítulo 3 mostramos los resultados obtenidos con el IDO de las aberraciones de 30 cristalininos de 3 especies diferentes con patrón de suturas en Y (cerdos, ovejas y vacas). Los cristalininos se marcaron durante su extracción dejando los procesos ciliares de la parte superior para poder analizar todos los cristalininos con el mismo sistema de referencia, en este caso la sutura vertical.

Se ha descrito que, en el caso de las suturas en Y, las aberraciones dominantes son la aberración esférica, el astigmatismo primario, el coma primario y el *trefoil*. Mientras para el mismo patrón de suturas las principales aberraciones son las mismas, se ha observado que su magnitud varía con el tamaño del cristalino, revelando que a mayor tamaño mayor cantidad de aberraciones (Roorda & Glasser, 2004) (Acosta, Bueno, Schwartz, & Artal, 2010). Esto está en concordancia con los resultados que obtuvimos en nuestro estudio, donde encontramos en todos ellos cantidades significativas de astigmatismo primario, aberración esférica, coma primario, *trefoil* y astigmatismo y coma secundarios (figura 5.6). En los cristalininos más grandes, de vacas y ovejas, las principales aberraciones son el astigmatismo y el *trefoil*, pero para los de cerdo encontramos mayor incidencia de aberración esférica que de *trefoil*. Obtener valores más bajos de aberración esférica puede ser debido al uso de la arandela en las toma de medidas en comparación con otros estudios, ya que, según nuestros resultados posicionar el cristalino sobre ésta la reduce drásticamente frente a apoyarlo sobre el fondo de la cubeta.

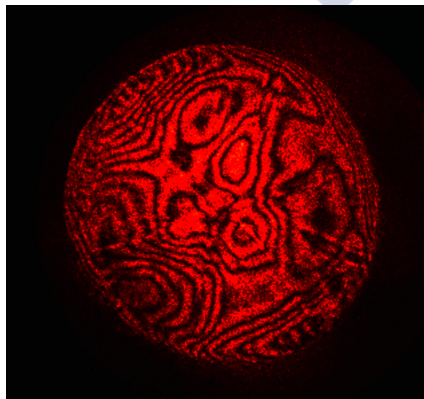


Figura 5.6 Interferograma de un cristalino de vaca

Observamos que la correspondencia entre la posición de los planos de sutura y el eje de las aberraciones no simétricas es una consecuencia del arreglo de las fibras. En la literatura encontramos imágenes de microscopía electrónica de un cristalino de vaca que muestra la forma en que las fibras convergen en las suturas (figura 5.7) (Sivak, Herbert, Peterson, & Kuszak, 1994). Este arreglo se asemeja a la apariencia de las franjas de isofase de un interferograma de *trefoil*. Con el IDO podemos ver que las suturas se sitúan cerca del centro de los lóbulos del *trefoil*, lo que confirma experimentalmente que las suturas en Y son responsables de este tipo de aberración, como predecían estos y otros autores al ver la disposición de las fibras (Sivak & Drovat, 1983) (Roorda & Glasser, 2004).

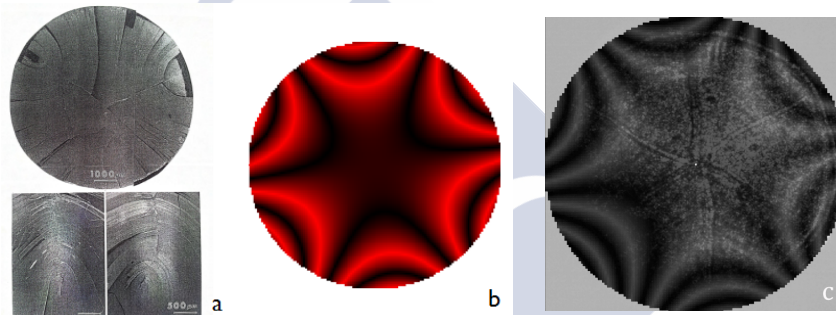


Figura 5.8 Disposición de las fibras en las suturas en Y relación entre el arreglo de las fibras cristalinas y el *trefoil*. En (a) se observa una imagen de microscopio electrónico de la disposición de las fibras en cristalino completo con sutura en Y (arriba) y en detalle en las suturas (abajo) (Sivak, Herbert, Peterson, & Kuszak, 1994), en (b) se observa la representación del *trefoil* a partir de un interferograma obtenido con el IDO. En la imagen (c) hemos realizado una superposición de la imagen real de las suturas con el *trefoil* obtenido con Atmosfringe 3.3.

Por otro lado, dada la naturaleza biológica del cristalino, los planos de sutura ni están exactamente a 60° uno del otro ni la manera en la que las fibras se unen tiene que ser igual en todas ellas. Pensamos que esta ligera pérdida de simetría en los planos de suturas es la responsable de que aparezcan otras aberraciones no simétricas de orden azimutal diferente a 3. Hemos encontrado una correlación muy buena entre eje de las principales aberraciones no simétricas y una de las suturas, sin embargo, nuestros resultados ponen de manifiesto que no siempre es la misma sutura la responsable de todas estas aberraciones. Además, la sutura que

acompaña al eje de una aberración determinada varía entre individuos. Esto clarifica las dudas respecto a que fuese siempre el mismo plano de sutura, por ejemplo el vertical, el que acompañase al astigmatismo, como manifestaron otros estudios previos en los que no al no orientarse el cristalino no podía demostrarse (E. Acosta, 2010) .

5.3.4 INFLUENCIA DE LAS SUTURAS EN ESTRELLA: CRISTALINOS DE PRIMATES Y HUMANOS

En los primates y humanos, las suturas, que inicialmente son en Y en el embrión, se van complicando con las años hasta formar una “estrella compleja”. En la figura 5.8 podemos observar la compleja distribución de las fibras en un cristalino de mono.

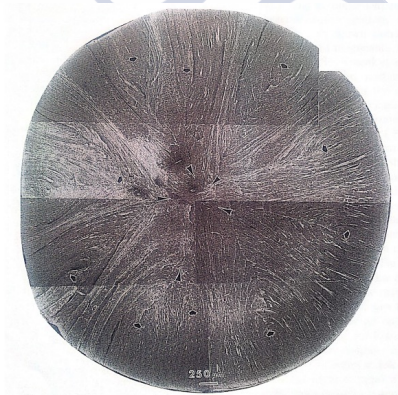


Figura 5.8. Disposición de las fibras en el cristalino de primate. Imagen tomada de referencia (Kuszak, Peterson, Sivak, & Herbert, 1994)

Los estudios de las características ópticas de cristalinios, parecen indicar que cuanto más complejo es el patrón de suturas menor es el efecto en la calidad de imagen porque los planos son de menor superficie y muchos no están alineados a lo largo del eje visual (Kuszak, Peterson, Sivak, & Herbert, 1994) (Roorda & Glasser, 2004).

Esta disposición en forma de planos discontinuos favorece además el cambio de curvatura del cristalino con la acomodación. Mediante técnicas de acomodación *ex vivo*, que permiten observar como los segmentos terminales se enlazan unos con otros, se ha visto que las terminaciones de las fibras con alto rango acomodativo, como las de suturas en estrella, son planas y suaves, mientras que las de segmentos de cristalinos con pequeño rango acomodativo, cristalinos con sutura en Y, son largas e irregulares, sugiriendo que estas últimas no están destinadas a coordinar cambios en el cristalino necesarios para acomodar (Kuszak, Zoltoski, & Tiedemann, 2004).

En este trabajo no pudimos disponer de cristalinos con este tipo de sutura para analizar con el IDO. No obstante, mediante colaboraciones con otros grupos de investigación obtuvimos algunas medidas de cristalinos de donantes humanos. Con el IDO se observan las suturas en estrella de una manera más difusa que en los cristalinos con sutura en Y (figura 5.9) . Cuando la lámina se sitúa cerca del foco paraxial del cristalino se observa un interferograma con menos franjas de interferencia que los estudiados en este trabajo, lo que nos revela una menor cantidad de aberraciones (figura 5.10). En el análisis cuantitativo se corrobora lo observado visualmente, las aberraciones no simétricas contribuyen en pequeña cantidad, siendo los términos dominantes los astigmatismos de primer y segundo orden y el coma. El *trefoil* y el *tetrafoil* son necesarios para un ajuste preciso pero tienen un impacto pequeño y el *pentafoil* no resulta significativo (Acosta, Schwarz, Bueno, Marin, & Artal, 2011). Sin embargo, en ese trabajo aún no se conocía la influencia del sistema de sujeción del cristalino y fueron analizados apoyándolos sobre el fondo de la cubeta. Creemos que pueden presentar incluso valores más bajos de aberraciones simétricas y no simétricas si se depositan sobre una arandela, lo que resultaría en un cristalino con una calidad óptica mejor.

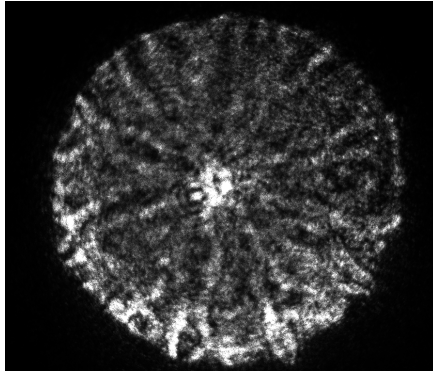


Figura 5.9. Imagen de las suturas de un cristalino humano

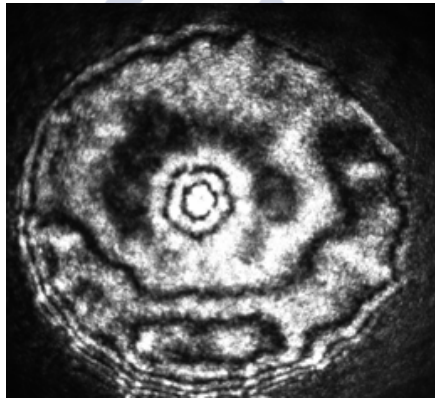


Figura 5.10. Interferograma de un cristalino humano

En resumen, los diferentes tipos de sutura que presentan los cristalinios de los vertebrados ejercen una influencia medible en sus aberraciones ópticas. A mayor complejidad de este patrón histológico, menor es el efecto de disrupción de las suturas sobre la calidad óptica (figura 5.11).

Se ha sugerido que las aberraciones corneales puedan ser compensadas por las del cristalino, aunque en este tema existe controversia. Estudios en humanos mostraron que la aberración esférica y el coma de la córnea tienden a ser mayores que en el ojo completo. Esto sugiere que haya una compensación por parte del cristalino. La incorporación de todos los

datos experimentales del ojo vivo en modelado óptico avanzado permite una mejor comprensión del mecanismo de la compensación de aberraciones (Tabernero, Benito, Alcon, & Artal, 2007). Sin embargo, la comprobación por nuestra parte de que no siempre es la misma sutura la que acompaña al eje de las aberraciones no simétricas nos hace pensar que, al menos en los animales estudiados, no existe un mecanismo anatómico que lleve a esta compensación.

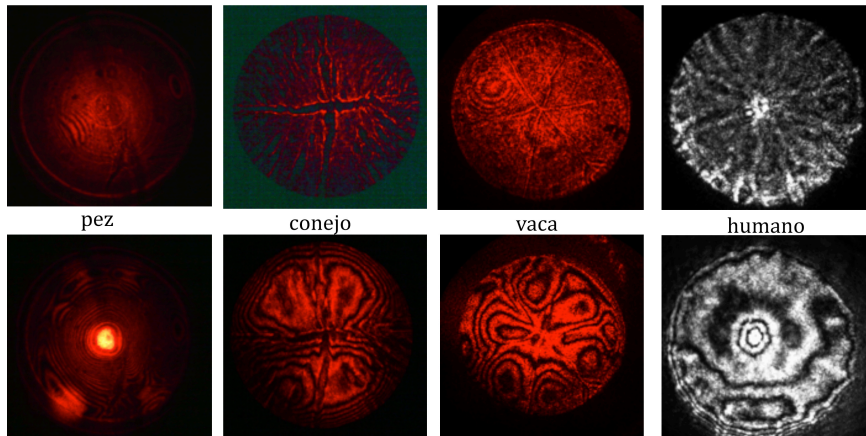


Figura 5.11. Relación de los diferentes patrones de suturas (arriba) y sus interferogramas (abajo) para las especies estudiadas en este trabajo.



CONCLUSIONES





CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que pueden extraerse de este trabajo son las siguientes:

1. Se demostró que el interferómetro de difracción por orificio permite analizar interferogramas de zonas amplias del cristalino. Este interferómetro tiene la ventaja sobre otras técnicas de permitir ver las suturas y defectos al mismo tiempo que proporciona un mapa continuo de la fase. Además, es posible realizar el análisis de zonas pequeñas de la fase que nos permiten cuantificar propiedades ópticas locales.
2. En los peces teleósteos, cuando se iluminan los cristalinos en la dirección de la sutura (a lo largo del eje anteroposterior) presentan fundamentalmente aberración esférica de bajo y alto orden. En algunas especies de peces la fase es continua pero no derivable en regiones anulares concéntricas, lo que se conoce como multifocalidad. En otras especies, la multifocalidad se consigue con fases más suaves, o equivalentemente presencia de aberración esférica de órdenes bajos.
3. El IDO permite cuantificar la desviación de la simetría esférica comúnmente asumida para peces teleósteos. La sutura ejerce una influencia para que, al menos en la zona alrededor de ella, se mantenga la esfericidad.
4. El mapeado de la fase y el análisis mediante causticas propuesto en este trabajo ha resultado ser muy útil en el estudio de frentes de onda ruidosos que destruyen la coherencia o inducen dislocaciones de la fase en los interferogramas, como ocurre en los cristalinos de peces.
5. El IDO nos permite deducir que las suturas lineales en cristalinos de conejos producen cantidades significativas de *tetrafoil*.

6. En los cristalinos de vaca, cerdo y oveja hay una gran correlación entre la posición las suturas y los ejes de las aberraciones no simétricas, aunque no existe una sutura predominante que produzca todas estas aberraciones. Esta forma en Y del patrón de suturas produce que una de las principales aberraciones sea el *trefoil*, cuya forma recuerda al arreglo de las fibras alrededor de la sutura.
7. El método de sujeción del cristalino es muy importante para no introducir cantidades significativas de aberración esférica.
8. A mayor tamaño del cristalino con sutura en Y es preciso mayor número de Zernikes para reducir el error de RMS.
9. El cristalino humano, con sutura en estrella, no presenta una clara disposición de los planos de suturas. La complicación del patrón de suturas produce menor interrupción en las franjas de interferencia y una mejor calidad óptica, al presentar menos aberraciones que otras especies.
10. Finalmente, podemos afirmar que las suturas del cristalino producen una influencia medible en sus aberraciones, que varían con el patrón histológico que presenten.

BIBLIOGRAFÍA





BIBLIOGRAFÍA

Acosta, E., Bueno, J., Schwarz, C., & Artal, P. (2010). Relationship between wave aberrations and histological features in ex vivo porcine crystalline lenses. *J. Biom. Opt.* , 15 (5), 055001.

Acosta, E., Chamadoira, S., & Blendowske, R. (2006). Modified point diffraction interferometer for inspection and evaluation of ophthalmic components. *J. Opt. Soc. Am. A* , 23, 632-637.

Acosta, E., Schwarz, C., Bueno, J., Marin, J., & Artal, P. (2011). Interferometric measurements of aberrations in isolated human crystalline lenses. *IOVS*, 52, 813.

Acosta, E., Vazquez, D., & Rodriguez Castillo, L. (2009). Analysis of the optical properties of crystalline lenses by point-diffraction interferometry. *Ophthalm. Physiol. Opt.* , 29, 235-246.

Al-khudari, S., Donohue, S., Al-Ghoul, W., & Al-Ghoul, K. (2007). Age-related compaction of lens fibers affects the structure and optical properties of rabbit lenses. *BMC Ophthalmology* , 7 (19).

Artal, A., Guirao, A., Berrio, E., & Willians, D. (2001). Compensation of corneal aberrations by the internal optics in the human eye . *J. Vision* , 1, 1-8.

Artal, P., & Tabernero, J. (2008). The eye's aplanatic answer. *Nature Photonics* , 2, 586-589.

Artal, P., Berrio, E., & Guirao, A. (2002). Contribution of the cornea and internal surfaces to the change of ocular aberrations with age. *J. Opt. Soc. Am. A* , 19 (1), 137-143.

Atmos-Software. Obtenido de <http://www.atmos-software.it/AtmosFringe.html>

Augusteyn, R., Rosen, A., Borja, D., Ziebarth, N., & Parel, J. (2006). Biometry of primate lenses during immersion in preservation media. *Mol. Vis.* , 12, 740-747.

- Barbero, S., Marcos, S., & Jimenez-Alfaro, I. (2003). Optical aberrations of intraocular lenses measured in vivo and in vitro . *J. Opt. Soc. Am. A* , 20 (10), 1841-1851.
- Bassnet, S., Shi, Y., & Vrensen, G. (2011). Biological glass: structural determinants of eye lens transparency. *Phil. Trans. R. Soc. B.* , 366, 1250-1264.
- Beebe, D. (2004). Cristalino. En P. Kaufman, & A. Alm, *ADLER: Fisiología del ojo* (págs. 116-160). Madrid: Elsevier.
- Birkenfeld, J., De Castro, A., & Marcos, S. (2014). Contribution of Shape and Gradient Refractive Index to the Spherical Aberration of Isolated Human Lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* , 55, 2599-2607.
- Bito, L., Kaufman, P., Deroousseau, C., & Koretz, J. (1987). Presbyopia: An Animal Model and Experimental Approaches for the Study of the Mechanism of Accommodation and Ocular Ageing. *Eye* , 1, 222-230.
- Borja, D., Manns, F., Hoc, A., Ziebarth, N., Rosena, A. M., Jain, R., y otros. (2008). Optical power of the isolated crystalline lens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* , 49 (6), 2541-2548.
- Bosch, S. (2011). Ray tracing and scalar diffraction calculations of wavefronts, caustics and complex amplitudes in optical systems. *J. Mod. Optics* , 58, 146-153.
- Burkhard, D., & Shealy, D. (1982). Formula for the density of tangent rays over a caustic surface. *Appl. Opt.* , 21, 3299-3306.
- Campbell, C. (2003). A new method for describing aberrations of the eye using Zernike polynomials. *Optom. Vis. Sci.* , 80, 79-83.
- Campbell, C. (2006). Generalized Coddington equations found via operator method. *JOSA A* , 23 (7), 1691-1697.
- Chamadoira, S. (2012). Interferómetro de difracción por orificio, IDO, para la inspección y caracterización de lentes progresivas. *Tesis doctoral* . Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela.
- Childs, W. (1926). The Fabry and Perot parallel plate Étalon. *J. Sci. Instrum.* , 3, 97.

- Dörband, B., Gross, H., & Müller, H. (2012). Metrology of optical components and systems. En B. Dörband, H. Gross, & H. Müller, *Handbook of optical systems* (Vol. 5, págs. 67-71). Oberkochen, Germany: Wiley-VCH.
- De Roos, A., Boukal, D., & Persson, L. (2006). Evolutionary regime shifts in age and size at maturation of exploited fish stocks. *Proc. R. Soc. B*, *273*, 1873-1880.
- Fizeau, H. (1851). Sur les hypothèses relatives à l'éther lumineux, et sur une expérience qui paraît démontrer que le mouvement des corps change la vitesse avec laquelle la lumière se propage dans leur intérieur. *C. R. Acad. Sci.*, *33*, 349-354.
- Gagnon, Y., Söderberg, B., & Kröger, R. (2008). Effect of the peripheral layers on the optical properties of spherical fish lenses. *JOSA A*, *25* (10), 2468-2475.
- Gagnon, Y., Soderberg, B., & Kröger, R. (s.f.). Optical advantages and function of multifocal spherical lenses.
- Geary, J. (1995). Chapter 4: Direct wavefront sensing: $W(x,y)$. En J. Geary, *Introduction to wavefront sensors* (págs. 53-65). Bellingham, Washington: SPIE Press.
- Geary, J. (1995). *Introduction to wavefront sensors*. (2ª ed.). SPIE Optical Engineering Press.
- Glückstad, J., & Mogensen, P. (2001). Optimal phase contrast in common-path interferometry. *Applied Optics*, *40* (2), 268-272.
- Glasser, A., & Campbell, M. (1999). Biometric, optical and physical changes in the isolated human crystalline lens with age in relation to presbyopia. *Vision Research*, *39*, 1991-2015.
- Glasser, A., & Campbell, M. (1998). Presbyopia and the Optical Changes in the Human Crystalline Lens with Age. *Vis. Res.*, *38* (2), 209-229.
- Glasser, A., & Howland, H. (1995). In vitro changes in back vertex distance of chick and pigeon lenses: Species differences and the effects of aging. *Vision Research*, *35*, 1813-1824.

- Gong, Q., & Geary, J. (1996). Modelling point diffraction interferometers. *Opt. Eng.* , 35, 351-356.
- Guirao, A., & Artal, P. (1998). Contributions of the cornea and the lens to the aberrations of the human eye. *Opt. Lett.* , 23, 1713-1715.
- Guirao, A., Redondo, M., & Artal, P. (2000). Optical aberrations of the human cornea as a function of age. *17* (10), 1697-1702.
- Gullstrand, A. (1909). The optical system of the eye. Appendix 11.3. En H. Helmholtz, *Physiological Optics* (Vol. 1, págs. 350-358). Hamburg, Voss: 3ªEd.
- Gustafsson, O., Collin, S., & Kröger, R. (2008). Early evolution of multifocal optics for well-focused colour vision in vertebrates. *J. Exp. Biol.* , 211, 1559-1564.
- Hanke, F., Dehnhardt, G., Schaeffel, F., & Hanke, W. (2006). Corneal topography, refractive state, and accommodation in harbor seals (*Phoca vitulina*). *Vis. Res.* , 46, 837-847.
- Hecht, E. (1998). *Óptica* (3ª ed.). Addison Wesley.
- Helmholtz, H. (1885). The recent progress of the teory of vision. En *Popular lectures on scientific subject* (Vol. 3, págs. 197-316). New York: D. Appleton and Company.
- Huang, D., Swanson, E., Lin, C., Schuman, J., Stinson, W., Chang, W., y otros. (1991). Optical coherence tomography. *Science* , 254 (5035), 1178-81.
- Jagger, W. (1992). The optics of the spherical fish lens. *Vis. Res.* , 32, 1271-1284.
- Jagger, W., & Sands, P. (1996). A Wide-angle Gradient Index Optical Model of the Crystalline Lens and Eye of the Rainbow Trout. *Vision Res.* , 36, 2623-2639.
- Karpestam, B., Gustafsson, J., Shashar, N., Katzir, G., & Kröger, R. (2007). Multifocal lenses in coral reef fishes. *J. Exp. Biol.* , 210, 2923-2931.

- Khorramshahi, O., Schartau, J., & Kröger, R. (2008). A complex system of ligaments and a muscle keep the crystalline lens in place in the eyes of bony fishes (teleosts). *Vision Res.* , 48, 1503-1508.
- Koliopoulos, C., Kwon, O., Shagam, R., Wyant, J., & Hayslett, C. (1978). Infrared point diffraction interferometer. *Opt. Lett.* , 3, 118-120.
- Kröger, R., & Campbell, M. (1996). Dispersion and longitudinal chromatic aberration of the crystalline lens of the african cichlid fish *Haplochromis burtoni*. *J. Opt. Soc. Am. A* , 13 (12), 2341-2347.
- Kröger, R., Campbell, M., Fernald, R., & Wagner, H. (1999). Multifocal lenses compensate for chromatic defocus in vertebrate eye. *J. Comp. Physiol. A* , 184, 361-369.
- Kröger, R., Campbell, M., Munger, R., & Fernald, R. (1994). Refractive index distribution and spherical aberration in the crystalline lens of the African cichlid fish *haplochromis burtoni*. *Vision Research* , 34 (14), 1815-1822.
- Kröger, R., Fritsches, K., & Warrant, E. (2009). Lens optical properties in the eyes of large marine predatory teleosts. *J. Comp. Physiol. A* , 195, 175-182.
- Kuszak, J., & Costello, M. (2004). The structure of the vertebrate lens. En F. Lovicu, & M. Robinson, *Development of the ocular lens* (págs. 71-118). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Kuszak, J., Peterson, K., Sivak, J., & Herbert, K. (1994). The interrelationship of lens anatomy and optical quality II. Primate lenses. *Exp. Eye Res.* , 59 (5), 505-520.
- Kuszak, J., Sivak, J., & Weerheimt, J. (1991). Lens optical quality is a direct function of lens sutural architecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* , 32 (7), 2119-2129.
- Kuszak, J., Zoltoski, R., & Sivertson, C. (2004). Fiber cell organization in crystalline lenses. *Experiment. Eye Res.* , 78, 673-687.
- Kuszak, J., Zoltoski, R., & Tiedemann, C. (2004). Development of lens sutures. *Int. J. Dev. Biol.* , 48, 889-902.
- Land, M. (2012). The evolution of lenses. *Ophthalmic Physiol. Opt.* , 32, 449-460.

- Le Grand, Y. (1956). *Optique Physiologique* (Vol. 1). Paris: Masson.
- Linikk, W. (1933). Simple interferometer for the investigation of optical systems. *C.R. Acad. Sci. USSR* , 1, 208-210.
- Mach, L. (1892). Ueber einen Interferenzrefraktor. *Zeitschrift für Instrumentenkunde* , 12, 89-93.
- Malkki, P., & Kröger, R. (2005). Visualization of chromatic correction of fish lenses by multiple focal lengths . *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* , 7, 691-700.
- Manns, F., Parel, J., Denham, D., Billotte, C., Ziebarth, N., Borja, D., y otros. (2007). Optomechanical Response of Human and Monkey Lenses in a Lens Stretcher. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* , 48, 3260-3268.
- Marcos, S. (2006). Aberrometry: Basic science and clinical applications. *Bull. Soc. Belge Ophthalmol.* , 302, 197-213.
- McAlinden, C., McCartney, M., & Moore, J. (1998). Mathematics of Zernike polynomials: a review. *Clin. Exp. Ophthalmol.* , 39, 820-827.
- Michelson, A., & Morley, E. (1887). On the relative motion of the Earth and the luminiferous ether. *Am. J. Sci.* , 34 (3), 333-345.
- Millerd, J., Brock, N., Hayes, J., & Wyant, J. (2004). Instantaneous phase-shift, point diffraction interferometer. *interferometry XII: Techniques and analysis*. 5531, págs. 264-272. Denver: Proc. of SPIE.
- Millodot, M., & Sivak, J. (1979). Contribution of the cornea and lens to the spherical aberration of the eye. *Vision Research* , 19, 685-687.
- Naulleau, P., Goldberg, K., Gullikson, E., & Bokor, J. (2000). At-wavelength system-level flare characterization of extreme-ultraviolet optical systems. *Applied Optics.* , 39 (17), 2941-2947.
- Navarro, R.; Rozema, J.J.; Tassignon, M.J.; (2013). Orientation Changes of the Main Corneal Axes as a Function of Age. *Opt. Vis. Sci.* , 90 (1), 23-30.
- Noll, R. (1976). Zernike polynomials and atmospheric turbulence. *JOSA* , 66 (3), 207-211.

- Numata, D., & Ohtani, K. (2012). Application of a point diffraction interferometer to unsteady shock wave phenomena. *Proceedings of SFV15*. Minks, Belarus.
- Ortiz, S., Perez-Merino, P., Gamba, E., De Castro, A., & Marcos, S. (2012). In vivo human crystalline lens topography. *Biomed. Opt. Express* , 3 (10), 2471-88.
- Press, W. (1992). Modeling of data. En *Numerical recipes in C: the art of scientific computing* (págs. 656-706). Cambridge: Cambridge University Press.
- Roorda, A., & Glasser, A. (2004). Wave aberrations of the isolated crystalline lens. *Journal of vision* , 4 (4), 250-261.
- Roorda, A., & Glasser, A. (2004). Wave aberrations of the isolated crystalline lens. *Journal of vision* , 4 (4), 250-261.
- Ruggeri, M., Uhlhorn, S., De Freitas, C., Ho, A., Manns, F., & Parel, J. (2012). Imaging and full-length biometry of the eye during accommodation using spectral domain OCT with an optical switch. *Biomed. Opt. Express* , 3 (7), 1506-20.
- Sagnac, G. (1913). L'éther lumineux démontré par l'effet du vent relatif d'éther dans un interféromètre en rotation uniforme. *C. R. Acad. Sci.* , 95, 708-710.
- Saroux, H., Lemasson, C., Offret, H., & Renard, G. (1985). Capítulo 12. Cristalino y zónula. En H. Saroux, *Anatomía e histología del ojo* (págs. 157-166). Masson.
- Schachar, R. (2004). Qualitative Effect of Zonular Tension on Freshly Extracted Intact Human Crystalline Lenses: Implications for the Mechanism of Accommodation. *IOVS* , 45 (8), 2691-2695.
- Schaeffel, F., Farkas, L., & Howland, H. (1987). Infrared photoretinoscope. *Appl. Opt.* , 26 (8), 1505-1509.
- Sivak, J. (1982). Optical properties of a cephalopod eye (the short finned squid, *Illex illecebrosus*). *J. Comp. Physiol.* , 147, 323-327.
- Sivak, J. (1982). The contribution of the crystalline lens to chromatic and spherical aberrations of the eye. *Canadian Journal of Optometry* , 44, 89-91.

- Sivak, J., & Drovat, A. (1983). Aging and optical quality of the rat crystalline lens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* , 24, 1162-1166.
- Sivak, J., Herbert, K., Peterson, K., & Kuszak, J. (1994). The interrelationship of lens anatomy and optical quality I. Non-primate lenses. *Exp. Eye Res.* , 59 (5), 505-520.
- Smart, R., & Steel, W. (1975). Theory and application of the point-diffraction interferometers. *Japan J. Appl. Phys.* , 14 (Suppl.), 14-1.
- Smith, G. (2003). The optical properties of the crystalline lens and their significance. *Clin. Exp. Optom.* , 86, 3-18.
- Stavroudis, O. (2006). *The mathematics of geometrical and physical optics, the K-function and its ramifications*. Wiley-VCH.
- Sun, M., Birkenfeld, J., De Castro, A., Ortiz, S., & Marcos, S. (2014). OCT 3-D surface topography of isolated human crystalline lenses. *Biomed. Opt. Express* , 5 (10), 3547-3561.
- Tabernerero, J., Benito, A., Alcon, E., & Artal, P. (2007). Mechanism of compensation of aberrations in the human eye. *J. Opt. Soc. Am. A.* , 24 (10).
- Thibos, L.N.; Hong, X.; Bradley, A.; Gheng, X. (2002). Statistical variation of aberration structure and image quality in a normal population of healthy eyes. *J. Opt. Soc. Am. A.* , 19 (12), 2329-2348.
- Trokel, S. (1962). The physical basis for transparency of the crystalline lens. *Invest. Ophthalmol.* , 4 (1), 493-501.
- Vazquez, D., Acosta, E., Smith, G., & Garner, L. (2006). Tomographic method for measurement of the gradient refractive index of the crystalline lens. II. The rotationally symmetrical lens. *J. Opt. Soc. Am. A. Opt. Image Sci. Vis.* , 23, 2551-2565.
- Vazquez, D., Prado, P., Flores, R., Chamadoira, S., Bara, S., Arines, J., y otros. (2006). Nuevos desarrollos en metodología y tecnología de componentes y sistemas para aberrometría ocular. *Opt. Pura Apl.* , 39 (3), 247-253.
- Wyant, J., & Creath, K. (1992). Basic wavefront aberration theory for optical metrology. En J. Wyant, & R. Shannon, *Applied Optics and Optical Engineering* (págs. 2-53). New York.

Young, T. (1801). The Bakerian lecture on the mechanism of the eye. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.* , 91, 23-88.

Young, T. (1804). The Bakerian Lecture: Experiments and Calculations Relative to Physical Optics. *Phil. Trans. R. Soc.* , 94 (2), 1-16.

Zehnder, L. (1891). Ein neuer Interferenzrefraktor. *Zeitschrift für Instrumentenkunde* , 11, 275-285.

