



UNIVERSIDAD
DE CANTABRIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

TESIS DOCTORAL

**FOTÓNICA Y TÉCNICAS DE INTERPRETACIÓN
APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS
CARDIOVASCULARES Y DERMATOLÓGICAS**

Autor: **EUSEBIO REAL PEÑA**
Directora: **OLGA MARÍA CONDE PORTILLA**

SANTANDER, 2017

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA ELECTRÓNICA,
INGENIERÍA DE SISTEMAS Y AUTOMÁTICA

TESIS DOCTORAL

Presentada por: Eusebio Real Peña
Ingeniero de Telecomunicación

Para acceder al título de: Doctor por la Universidad de Cantabria

Dirigida por: Olga María Conde Portilla
Doctora Ingeniera de Telecomunicación

Santander, 2017

Tesis Doctoral: **Fotónica y técnicas de interpretación aplicadas al diagnóstico de patologías cardiovasculares y dermatológicas**

Autor: **Eusebio Real Peña**
Aspirante a Doctor Ingeniero de Telecomunicación

Directora: **Olga María Conde Portilla**
Profesora Titular de Universidad
Universidad de Cantabria

Tribunal que juzgó la Tesis Doctoral:

Presidente:

.....

Vocal 1:

.....

Vocal 2:

.....

Vocal 3:

.....

Secretario:

.....

El tribunal acuerda otorgarle la calificación de:.....

Santander, a de de 2017

Reconocimientos

El trabajo desarrollado en esta tesis doctoral ha sido financiado gracias a diferentes proyectos:

- Ciencias y tecnologías para sensores fotónicos (SEFO).
- Diagnóstico de aneurismas de aorta mediante nuevas técnicas ópticas de imagen (DA2TOI), FIS2010-19860.
- Tecnologías para sensores de fibra óptica II (TFS), TEC2010-20224-C02-02.
- Sensores de fibra óptica para Seguridad y Protección I (FOS4), TEC2013-47264-C2-1-R.
- Sensores fotónicos para seguridad y protección (SENSA), TEC2016-76021-C2-2-R.
- Fusión de tecnologías fotónicas para el diagnóstico dermatológico (FUSIODERM), DTS15/00238.
- Centro de Investigación Biomédica en Red, Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) cofinanciado por fondos FEDER.

Agradecimientos

El proceso para la realización de este documento y el trabajo previo no se concibe sin la ayuda y apoyo de un grupo de trabajo.

Quiero agradecer a Olga que confiase en mí desde el principio y su apoyo durante estos cuatro largos años. Gracias Olga por tu esfuerzo.

Agradezco al Grupo de Ingeniería Fotónica y a José Miguel la confianza depositada en mí y los recursos puestos a mi disposición.

Agradezco la posibilidad de haber trabajado con José Manuel Revuelta y Fernando Val Bernal. Es para mí un placer haber podido aprender con dos grandes de la investigación en Medicina. Igualmente, agradezco a Alejandro Pontón, Marta Calvo y Marta Mayorga su aporte sin el cual no se podrían haber realizado las medidas en tejidos humanos.

Gracias a Rubén, Luis, María, José, Javi, Roberto, Pedro, Antonio, Gaspar, Arturo, Alma por ayudarme tantas y tantas veces.

Gracias a Mauro por ofrecerme parte de esos conocimientos, algunos de los cuales nunca llegaré a comprender.

A Rafa, Iñaki, Alberto, Ismail, Rosana, José Ramón, David, Asier, Hany, Fran Anabitarte, Adolfo, Marina, Fran Madruga, Chus, Marian, por ser grandes compañeros y prestar ayuda siempre que se necesita.

Gracias a Daniel, Nieves, Jhoe, Miguel Ángel y Vanesa porque he aprendido cosas de vosotros.

Gracias a Laura, a mis padres, Maite y Eusebio y a mi hermano Marcos por el soporte y apoyo estos años. Un doctorado no es sólo ciencia.

Gracias a todos los mencionados ya que lo son porque lo merecen. Los que no están, se debe a mi mala cabeza.

Resumen

Gran parte de la investigación en medicina se centra en descubrir los fenómenos físicos y bioquímicos que, o bien son patológicos en sí mismos o son sintomáticos de estos. Una vez descubiertos, se desarrollan técnicas capaces de aprovechar la información obtenida mediante la interacción con estos fenómenos para inferir información de relevancia diagnóstica basándose en las diferencias que presentan dichos fenómenos en tejido sano y enfermo.

El trabajo presentado en este documento de tesis se centra en la aplicación de la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT, del inglés *Optical Coherence Tomography*) en el ámbito cardiovascular y dermatológico y en el análisis de los datos obtenidos de cara al diagnóstico automatizado de diferentes patologías. En el área cardiovascular, esta tesis se focaliza en la caracterización de la pared de la arteria aorta y de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral humana como primera aproximación al estudio de dos elementos vitales en el sistema cardiovascular: el corazón y los vasos sanguíneos. Igualmente, se aplica OCT en el ámbito dermatológico en combinación con dermatoscopia como primera aproximación al estudio de lesiones en la piel con el objetivo de caracterización y diagnóstico de melanoma.

El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de Estados Unidos (NIST, *National Institute of Standards and Technology*) ha publicado un documento en el que presentan los principales retos de la tomografía de coherencia óptica y otras tecnologías de cara al diagnóstico. En este documento se identifican tres grandes retos para OCT: el desarrollo de fuentes de barrido en longitud de onda, la falta de bases de datos de propiedades ópticas de los tejidos y el escaso conocimiento de los cambios producidos en los tejidos tras la interacción con la radiación electromagnética. Este documento de tesis se centra de lleno en los dos últimos aspectos, generando conocimiento sobre tres áreas poco estudiadas según se refleja en el estudio bibliográfico realizado al respecto:

- Aneurisma de aorta

Se ha aplicado por primera vez la tomografía de coherencia óptica para caracterizar y cuantificar la degradación de la pared arterial en aorta humana. Este método permite producir suficiente información, cuya exactitud y validez diagnóstica se ha comparado satisfactoriamente con las técnicas histológicas convencionales. Su rapidez de adquisición, la facilidad de medida sin realizar cortes histológicos o tinciones y su sencillez de interpretación hacen de esta técnica una herramienta con un gran potencial de ser utilizada para la caracterización de tejidos en condiciones de tiempo real en el ámbito intraoperatorio.

Además, la rápida y sencilla aplicación de esta técnica, permite visualizar múltiples cortes sobre el tejido en diferentes regiones de una muestra, obteniendo un mapeo tridimensional completo del tejido. Esto ha permitido la caracterización de multitud de muestras en gran detalle y su análisis demuestra que la degradación en la pared arterial no es uniforme, ni longitudinalmente, ni transversalmente en el vaso. Se ha comprobado cómo la cuantificación histológica de la degradación es útil, pero no infalible, puesto que la degradación de la pared arterial es un fenómeno que ocurre en todo el vaso de forma discontinua. Según se recoge del análisis de las muestras, tanto mediante OCT como mediante técnicas histológicas, ni siquiera la patología de la válvula aórtica bicúspide implica una degradación total de la pared.

- Estudio de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral

Se ha aplicado por primera vez la tomografía de coherencia óptica, y su variable sensible a la polarización, para la caracterización de las cuerdas tendinosas humanas. Estas cuerdas son esenciales para el correcto funcionamiento de las válvulas mitral y tricúspide, y su caracterización mediante OCT aporta conocimiento de un componente esencial para el correcto funcionamiento del corazón. La tomografía de coherencia óptica permite ver tanto la parte externa como el núcleo de estas cuerdas tendinosas. Esto permite, en primer lugar, comprobar la salud estructural de las cuerdas y, en segundo lugar, calcular el parámetro de birrefringencia obtenido mediante la técnica sensible a la polarización. La birrefringencia está asociada a la estimación de la densidad de las cuerdas y permite conocer con precisión las zonas de localización de los haces de colágeno. La disminución del factor de birrefringencia producido por la desalineación y degeneración de las cuerdas de colágeno es indicativa de la patología de la cuerda. La carencia absoluta de colágeno en algunas regiones de las cuerdas implica una pérdida de propiedades que debe ser valoradas por el cirujano.

- Estudio de lesiones cutáneas

La detección precoz del melanoma es una tarea compleja dada la variabilidad de síntomas que pueden presentar, o peor aún, no presentar dichos tumores. La combinación de diferentes técnicas permite una caracterización más exhaustiva de las propiedades del tejido (absorción, dispersión, estructura, forma y color, etc.) que ayudan a conocer el tumor bajo análisis antes de la realización de una biopsia. En este trabajo se ha utilizado la dermatoscopia con luz polarizada y la tomografía de coherencia óptica para la caracterización de lesiones cutáneas. La dermatoscopia aporta información de forma, color y textura de gran utilidad diagnóstica y la automatización de su análisis ayuda a consensuar criterios, evitar subjetividad y facilitar la teleasistencia. La aplicación de la tomografía de coherencia óptica permite diferenciar dermis y epidermis e incluso regiones con alto contenido en melanocitos gracias a las diferencias de atenuación en los diferentes tejidos.

La aplicación de nuevas técnicas de diagnóstico en el ámbito médico es un proceso laborioso que comienza por una prueba de viabilidad de la técnica para la caracterización de las propiedades que permitan discernir tejidos sanos y enfermos. Las técnicas empleadas en este documento son inocuas para el organismo humano y no requieren la preparación específica de las muestras para su caracterización y diagnóstico. El proceso que va desde el laboratorio hasta el ámbito clínico, o el quirófano, no es posible a no ser que se pruebe la viabilidad, seguridad y, en cualquier caso, comodidad y facilidad de uso del médico especialista en su uso diario. En esta tesis se han aplicado diferentes tecnologías para la caracterización de tejidos, comprobando la viabilidad de todas ellas de forma positiva. El trabajo desarrollado abarca desde la comprensión y estudio de la interacción radiación-tejido, hasta el diagnóstico automatizado de las patologías pasando por la correcta interpretación de las medidas fotónicas en función de la instrumentación elegida, la optimización de las medidas para liberarlas del ruido y artefactos inherentes a las técnicas y el desarrollo de técnicas específicas para realzar la presencia de degradación en los tejidos. Los resultados obtenidos se han publicado en revistas científicas internacionales de reconocido prestigio y defendido en congresos nacionales e internacionales.

Abstract

Most of nowadays medical research is focused on discovering the physical and biochemical phenomena that are either pathological or are symptomatic of pathology. Once these phenomena are discovered, different techniques are developed to take advantage of the information obtained through the interaction with these phenomena to infer relevant diagnostic information based on the differences that these phenomena present in healthy and diseased tissue.

This thesis focuses on the application of Optical Coherence Tomography (OCT) to the cardiovascular and dermatological fields and on the analysis of the data obtained for the diagnosis of different pathologies. In the cardiovascular area, the thesis focuses on the characterization of the wall of the aorta artery and tendinous cords of the mitral valve as the first approach to the study of two vital elements in the cardiovascular system: the heart and the blood vessels. OCT is also applied to the dermatological field, in combination with dermoscopy, as the first approach to the study of skin lesions aimed to characterization and diagnosis of melanoma.

The National Institute of Standards and Technology (NIST) has published a document outlining the major challenges of Optical Coherence Tomography and other diagnostic technologies. The report identifies three major challenges for OCT: the development of swept wavelength sources, the lack of databases of tissue optical properties and the poor knowledge of changes in tissue after interaction with electromagnetic radiation. This thesis is mainly focused on the last two aspects, generating knowledge on three poorly studied areas according to the performed bibliographic study:

- Aortic aneurysm

Optical Coherence Tomography has been applied for the first time to characterize and quantify the degradation of the arterial wall in the human aorta. This method produces sufficient diagnostic information, whose accuracy and diagnostic ability has been compared satisfactorily with conventional histological techniques. Its speed of acquisition, the ease of measurement without making histological cuts or stains, and its simplicity of interpretation make this technique a tool with a great potential to be used for the characterization of tissues in practically real time in intraoperative conditions.

In addition, the quick and simple application of this technique allows visualizing multiple cuts on the tissue in different regions of a sample, obtaining a complete three-dimensional mapping of the tissue. This has allowed the characterization of many samples in great detail, whose analysis shows that the degradation in the arterial wall is not uniform neither longitudinally, nor transversally, in the vessel. It has been shown how the histological quantification of degradation is useful but not infallible since the degradation of the arterial wall is a phenomenon that occurs throughout the vessel at different levels in a discontinuous way. As collected from the analysis of the samples, both by OCT and by histological techniques, not even the pathology of the bicuspid aortic valve implies a total degradation of the wall.

- Study of the tendinous cords of the mitral valve

Optical Coherence Tomography and its polarization sensitive version have been applied for the first time for the characterization of human *chordae tendineae*. These tendinous cords are essential for the correct functioning of the mitral and tricuspid valves, and their characterization through OCT provides knowledge of an essential component for the

correct performance of the heart. Optical Coherence Tomography allows imaging both, the outer and the core of these tendinous cords. This allows, firstly, to check the structural health of the strings and secondly, to calculate the birefringence parameter obtained by the polarization sensitive OCT technique. Tissue birefringence is associated to the density estimation of the tendinous cords and allows identifying the accurate location of their collagen bundles. The decrease in the birefringence factor produced by the misalignment of the collagen strings is indicative of the pathology of the cord. The absolute lack of collagen in some regions of the strings implies a loss of properties that must be valued by the surgeon.

- Study of skin lesions

Early detection of melanoma is a complex task given the variability of symptoms that such tumors may exhibit, or worse, not exhibit. The fusion of multiple modalities allows the characterization of more tissue properties (absorption, dispersion, structure, shape and color, etc.) providing predictive knowledge about the tumor under analysis before performing a biopsy. In this work, dermoscopy with polarized light and Optical Coherence Tomography were used for the characterization of cutaneous lesions. Dermoscopy provides information of surface shape, color and texture of great diagnostic utility and the automation of this analysis may help defining a consensus, to avoid subjectivity and to facilitate teleassistance. The application of Optical Coherence Tomography allows differentiation of dermis and epidermis and even regions with a high content of melanocytes thanks to differences in attenuation in different tissue types.

The application of new diagnostic techniques in the medical field is a laborious process that begins with a viability test of the techniques for the characterization of optical properties that allow discrimination between healthy and diseased tissue. The techniques employed in this thesis are harmless to the human organism and do not require the specific preparation of the biological samples for their characterization. The process that goes from the laboratory to the clinical or operating room is not possible unless the viability, safety and, in any case, comfort and ease of use of the specialist doctor in their daily use becomes tested. In this document, different technologies have been applied for the characterization of tissues, verifying the viability of all of them in a positive way. The developed work covers from the understanding and the study of the radiation-tissue interaction, to the automatic diagnosis of the pathologies going through the correct interpretation of the photonic measurements, the measurement optimization taking into account the possible noise and artifacts inherent to the techniques and the development of specific techniques to enhance the presence of tissue degradation. The results obtained have been published in recognized international scientific journals and defended in national and international conferences.

Índice general

Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Diagnóstico médico mediante técnicas de imagen	1
1.2 Tomografía de coherencia óptica.....	3
1.3 Motivación	4
1.4 Objetivos.....	7
1.5 Estructura del documento	9
Bibliografía.....	10
Capítulo 2. Fenómenos físicos e imagen médica	13
2.1 Principales técnicas de imagen médica	14
2.1.1 Técnicas no ópticas	15
2.1.2 Técnicas ópticas	16
2.1.3 Técnicas ópticas híbridas	17
2.2 Propiedades ópticas de los tejidos	17
2.2.1 Índice de refracción	18
2.2.2 Absorción.....	19
2.2.3 Dispersión.....	20
2.2.3.1 Dispersión simple.....	20
2.2.3.2 Dispersión múltiple	23
2.2.4 Polarización.....	25
2.2.5 Propagación de luz en tejidos biológicos.....	26
Bibliografía.....	29
Capítulo 3. Anatomía y patología	31
3.1 Arteria aorta y aneurisma	31
3.1.1 Anatomía e histología de la aorta.....	31
3.1.2 Patologías de la arteria aorta: aneurisma de aorta torácica	33
3.1.3 Herramientas de diagnóstico	35
4.1.2.1 Criterios de decisión	35
4.1.2.2 Técnicas de diagnóstico	37
4.1.2.3 Técnicas histológicas	39
3.1.4 Tratamiento	41
3.2 Válvula mitral degenerativa	42
3.2.1 Anatomía e histología de la válvula y las cuerdas mitrales	42
3.2.2 Patología de la válvula mitral: válvula degenerativa.....	45
3.2.3 Diagnóstico y tratamiento	47
3.3 Piel y el melanoma.....	49
3.3.1 Anatomía de la piel	49

3.3.2 Melanoma y otros cánceres de piel.....	50
3.3.3 Diagnóstico y tratamiento del melanoma.....	52
Bibliografía	54

Capítulo 4. Imagen diagnóstica mediante OCT..... 57

4.1 Tomografía de coherencia óptica.....	58
4.1.1 Interferometría de baja coherencia.....	58
4.1.2 Fundamentos de tomografía de coherencia óptica.....	60
4.1.2.1 Tomografía de coherencia óptica en el dominio de Fourier.....	64
4.1.2.2 Tomografía de coherencia óptica sensible a la polarización.....	67
4.1.2.2 Equipo SS-OCT del Grupo de Ingeniería Fotónica.....	68
4.2 Imagen OCT y procesado.....	69
4.2.1 Formación de imagen OCT.....	70
4.2.1.1 Características generales de imagen OCT.....	71
4.2.1.2 Artefactos de medida en OCT.....	72
4.2.1.3 Efecto del índice de refracción en el camino óptico.....	73
4.2.1.4 Dispersión de punto y pérdida de sensibilidad.....	74
4.2.1.5 Caracterización de la atenuación de la muestra.....	76
4.2.2 Técnicas de pre procesado.....	76
4.2.2.1 Conversión de mapa de color.....	77
4.2.2.2 Reducción de ruido.....	77
4.2.2.3 Corrección de artefactos de medida.....	78
4.2.2.4 Realce de bordes.....	79
4.2.2.3 Segmentación.....	81
4.2.3 Extracción de características.....	84
4.2.3.1 Métodos de análisis de histograma.....	85
4.2.3.2 Métodos de gradiente.....	86
4.2.3.3 Métodos del Laplaciano.....	87
4.2.3.4 Métodos texturales.....	93
Bibliografía	94

Capítulo 5. OCT aplicado a la aorta torácica..... 97

5.1 Protocolo de adquisición y manipulación de muestras.....	98
5.2 Análisis de los perfiles de atenuación.....	99
5.3 Análisis textural.....	101
5.4 Anomalías en la composición arterial.....	105
5.4.1 Delineación de anomalías en función del histograma de imagen...	105
5.4.2 Delineación de anomalías mediante realce de bordes.....	107
5.4.3 Delineación de anomalías mediante diferenciación de imagen.....	111
5.5 Conclusiones.....	117
Bibliografía	118

Capítulo 6. OCT aplicado a las cuerdas tendinosas..... 121

6.1 Protocolo de adquisición y manipulación de muestras.....	121
6.2 Interpretación de imágenes OCT de las cuerdas tendinosas.....	122
6.3 Análisis del índice de refracción y parámetro de birrefringencia.....	123
6.4 Comparativa entre muestras sanas y patológicas.....	125

6.5 Co-registro con tomografía axial computarizada.....	128
6.6 Conclusiones.....	129
Bibliografía.....	130
Capítulo 7. OCT y dermatoscopia en lesiones cutáneas.....	131
7.1 Procesado de imagen por dermatoscopia	131
7.1.1 Eliminación de pelo	132
7.1.2 Detección de color.....	134
7.1.3 Segmentación de lesiones	135
7.2 Procesado de imagen OCT.....	139
7.3 Conclusiones.....	141
Bibliografía.....	142
Capítulo 8. Conclusiones y líneas futuras	143
8.1 Conclusiones	143
8.2 Líneas futuras.....	144
8.2.1 Ámbito cardiovascular	144
8.2.2 Ámbito dermatológico	145
Listado de publicaciones.....	147

Capítulo 1

Introducción

<i>1.1 Diagnóstico médico mediante técnicas de imagen</i>	1
<i>1.2 Tomografía de coherencia óptica</i>	3
<i>1.3 Motivación</i>	4
<i>1.4 Objetivos</i>	7
<i>1.5 Estructura del documento</i>	9
<i>Bibliografía</i>	10

1.1 Diagnóstico médico mediante técnicas de imagen

Cuando se da una condición patológica en el cuerpo esta evoluciona hasta llegar expresarse a modo de anomalías en el tejido, haciéndose detectable a través de diferentes fenómenos físicos y químicos basados en propiedades mecánicas, eléctricas, ópticas, magnéticas u otras. Tradicionalmente, la forma de detectar estas anomalías es mediante la biopsia y análisis histológico de muestras de tejido. La evolución y mejora de las técnicas de microscopía, imagen digital y tratamiento de imagen han permitido avances en la aplicación y diagnóstico de las técnicas histológicas convencionales.

Gran parte de la investigación en medicina se centra en descubrir los fenómenos físicos y bioquímicos que, o bien son patológicos en sí mismos o son sintomáticos de estos. Una vez descubiertos, se desarrollan técnicas capaces de aprovechar la información obtenida mediante la interacción con estos fenómenos para inferir información de relevancia diagnóstica basándose en las diferencias que presentan dichos fenómenos en tejido sano y enfermo. Es importante en estos casos tanto conocer de forma precisa el fenómeno, como el procesado y representación de los datos orientados al diagnóstico. La familia de las técnicas fotónicas está compuesta de diferentes herramientas y técnicas que se basan en la interacción entre la luz y los tejidos biológicos para producir información diagnóstica o terapéutica. La aplicación de las tecnologías fotónicas al campo de la medicina y los tejidos biológicos sigue el mismo camino que han seguido anteriormente otras técnicas ya consolidadas [1]. En este escenario, la evolución del desarrollo de las tecnologías fotónicas ambiciona tanto mejorar las técnicas de diagnóstico como aportar nuevos métodos, no invasivos, de aplicación in vivo, más rápidos, más fiables, sencillos de utilizar etc. que permitan mejorar el diagnóstico y tratamiento de diferentes patologías.

El trabajo presentado en este documento de tesis se basa principalmente en la tomografía de coherencia óptica (OCT, del inglés *Optical Coherence Tomography*) y su aplicación como herramienta de diagnóstico de patologías en el sistema cardiovascular y dermatológico, enfocado hacia la visualización de tejido patológico y su diferenciación del tejido sano. La tomografía de coherencia óptica fue demostrada en 1991 por el equipo de James G. Fujimoto [2] concebida y enfocada hacia la visualización de la retina in vivo de forma no invasiva. Se demostró su utilidad en oftalmología y hoy en día es una herramienta ampliamente utilizada en dicho campo. El globo

ocular es un medio transparente y representa el ámbito de trabajo ideal para una técnica óptica. Los tejidos opacos presentan una atenuación mayor y una alta dispersión, pero aun así pueden ser observados con esta técnica al igual que la retina. En la misma publicación se demuestra la primera aplicación en el campo cardiovascular, tomando una medida en de una arteria coronaria (Figura 1.1 a). En el año 1994 se aplicó OCT para la visualización de la una aorta de rata, observando las capas media y adventicia (Figura 1.1 b) [3]. También en 1994 se dio la primera aplicación para la visualización del tejido subcutáneo [4].

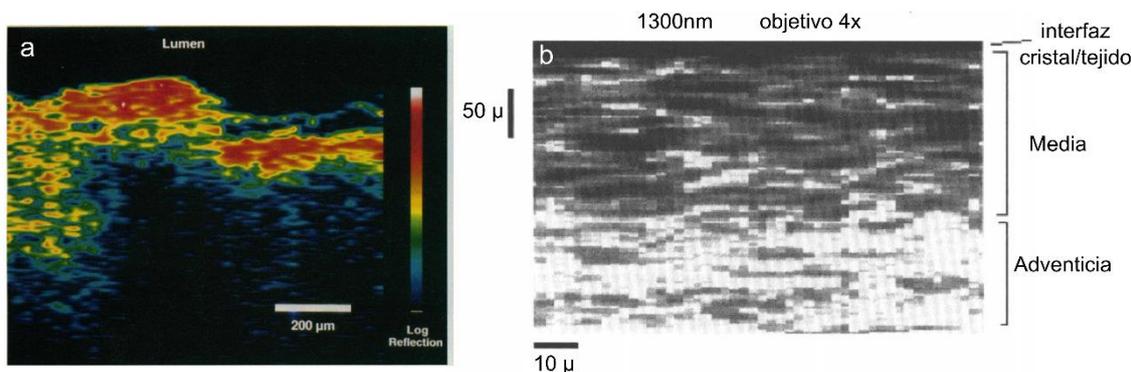


Figura 1.1. Primeras imágenes publicadas de aplicación cardiovascular de tomografía de coherencia óptica, en arteria coronaria humana [2] (a) y la pared de aorta de rata [3](b).

Desde las primeras publicaciones, la tomografía de coherencia óptica ha crecido principalmente en la rama de la oftalmología, pero también en otras muchas ramas sobre las que destaca la cardiovascular. Según el servicio *Web of Science* [5], hay 41.888 publicaciones que contienen las palabras “optical coherence tomography” desde la primera en 1991. De estas, 25.912 (61%) son en el campo de la oftalmología, 8.569 (20%) en cardiovascular y 1.271 (3%) en dermatología (Figura 1.2).

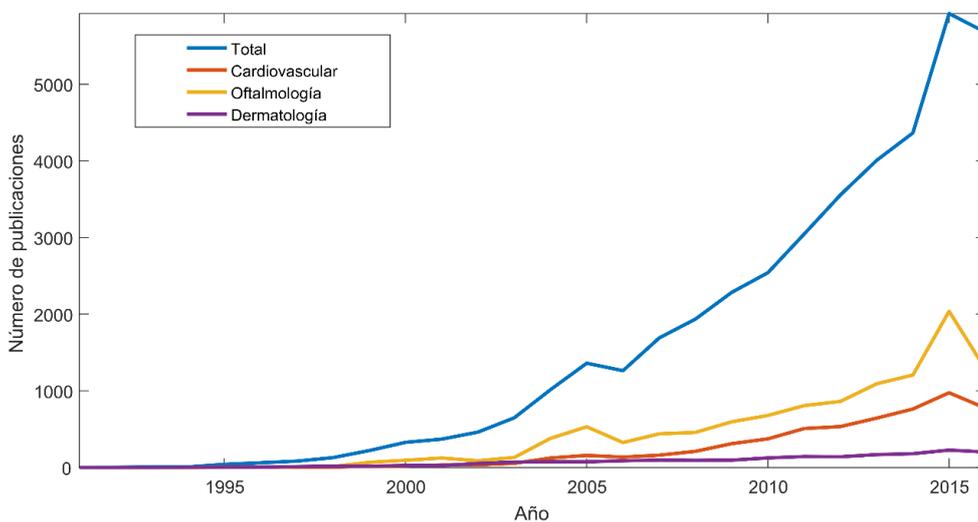


Figura 1.2. Número de publicaciones en *Web of Science* [5] por año en ámbitos clínicos cardiovascular, oftalmología y dermatología desde 1991 hasta 2016 (datos consultados el 26 de febrero de 2017. El descenso de publicaciones en 2016 se debe a que la web aún no ha computado todas las publicaciones de dicho año).

1.2 Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica tiene múltiples aplicaciones en imagen médica. La más extendida es la visualización del interior del globo ocular, aunque también se aplica en cardiovascular, gastroenterología y dermatología. En endoscopia se utiliza para la visualización de mucosas y la detección de cáncer oral en cavidad bucal [4] o deterioro de dientes [6] al igual que el esófago de Barrett [7], estómago [8] o la laringe y vías aéreas [9], colon [9], uretra [10] u otras zonas tan dispares como tumor cerebral [11]. Lejos de la oftalmología, OCT se utiliza ampliamente en mucosas ya que permite ver el estado del epitelio y crecimientos anómalos de tipo displasia, calcificaciones, etc. Por cateterismo se aplica en la caracterización de la pared arterial para la detección de ateromas o comprobar la implantación de endoprótesis vasculares o *stents* coronarios, aportando una resolución mayor que la técnica IVUS [12]. En la actualidad el uso de OCT está ampliamente extendido e implantado en multitud de aplicaciones, existiendo equipos comerciales de aplicación en los diferentes ámbitos clínicos. En oftalmología hay equipos específicos para catarata, glaucoma e inspección de retina [13], [14], [15]. En cardiovascular, OCT se aplica por cateterismo e incluso combinado con angiografía a modo de guiado [16] o como propio elemento angiográfico en retina (OCTA) [17], [14]. En dermatología se combina OCT con imagen clínica y dermatoscopia [18]. También hay multitud de fabricantes dedicados al desarrollo de componentes y sistemas OCT de uso general para imagen OCT [19], [20], [21]. El portal web *OCTnews* [22] recoge multitud de información acerca de la técnica, estado a nivel de investigación, publicaciones, fabricantes, etc.

En general, OCT permite obtener información relevante de tejido que presente modificaciones en su composición, estructura, u otras características que se vean reflejadas en un cambio de morfología, bien presentando variaciones de índice de refracción o del coeficiente de atenuación, siendo predominante la componente de dispersión. La tomografía de coherencia óptica tiene como principal ventaja su facilidad de aplicación en vivo, de forma rápida y no invasiva. Se consigue una penetración típica de 1 a 3 mm y una resolución micrométrica tanto lateral como axial. Estas características de penetración y resolución lo colocan a medio camino entre la microscopía confocal y los ultrasonidos. La primera es difícil de utilizar en vivo, produciendo alta resolución de imagen por debajo de la micra y poca penetración. La segunda, ultrasonidos, se aplica en vivo con una resolución de cientos de micras y una elevada penetración [1].

Si bien OCT es ya una técnica utilizada en los servicios de oftalmología de hospitales en todo el mundo, en otros ámbitos se sigue investigando para su traslación al entorno clínico. El esfuerzo se hace tanto en el desarrollo y mejora de la propia técnica como para su aplicación a otros tejidos y la adecuación e integración de los sistemas en los diferentes entornos clínicos. El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de Estados Unidos (NIST por sus siglas en inglés, *National Institute of Standards and Technology*) publicó en 2007 un documento en el que presentaba los principales retos de la tomografía de coherencia óptica y otras tecnologías (microarrays, microscopía óptica y citometría de flujo) de cara al diagnóstico [1]. En este documento se identifican tres grandes retos para OCT: el desarrollo de fuentes de barrido en longitud de onda, la falta de bases de datos de propiedades ópticas de los tejidos y el escaso conocimiento de los cambios producidos en los tejidos tras la interacción con la radiación electromagnética.

El primer reto para la visualización en tiempo real se ha sobrepasado [23]. Ya en 2012 se conseguía video en 4D, produciendo medidas a 41 volúmenes/segundo para imágenes tridimensionales de 256 (axial) \times 128×128 (lateral) vóxeles [24]. La mejora de las fuentes se centra en la mejora de la sensibilidad y aumento de la relación señal a ruido. En cuanto a la construcción de una base de datos, es necesario caracterizar el índice de refracción complejo y otros parámetros ópticos de multitud de tejidos que presentan una alta variabilidad. Cada tipo de

tejido es altamente heterogéneo, con elementos que varían en índice de refracción, birrefringencia, anisotropía, tamaño, forma, proporciones y concentración de compuestos, etc. La composición exacta es variable ya no sólo entre tejidos sino también entre pacientes, dependiendo de factores como edad, sexo, y patologías. Además, los parámetros ópticos son dependientes de la longitud de onda, siendo necesaria la caracterización de estos parámetros en amplias regiones espectrales, típicamente desde la región ultravioleta al infrarrojo cercano. Esto va ligado con el tercer punto a desarrollar: conocer la estructura de tejidos y su respuesta a estímulos electromagnéticos que permitirá desarrollar y aplicar modelos precisos de tejidos sanos y enfermos que faciliten la búsqueda y el conocimiento de propiedades de cara al desarrollo de herramientas de diagnóstico y terapia en base.

Hoy en día, OCT aporta ciertas ventajas frente al resto de técnicas. Permite realizar medidas en tiempo real, incluso volumétricas (4D). La aplicación sin contacto permite su adaptación y combinación con técnicas de microscopía o endoscopia. Esto hace que sea aplicable en el ámbito intraoperatorio, como elemento de monitorización de patologías y de tratamientos. Su alta resolución puede utilizarse para monitorización de tejidos con resolución celular, tanto de su morfología como de desplazamientos sub-micrométricos.

La técnica *OCT convencional* se basa en la medida de intensidad de dispersión reflejada en el tejido mediante una medida interferométrica. A su vez, hay otros métodos basados en los mismos principios pero que presentan modificaciones, dando versatilidad a la técnica [25]. La técnica *OCT Doppler* se basa en el efecto del mismo nombre, por el cual el desplazamiento de partículas altera la frecuencia de la señal OCT. La medida de este desplazamiento permite caracterizar la velocidad de desplazamiento del flujo sanguíneo [26]. *OCT sensible a la polarización* permite medir la birrefringencia de tejidos mediante el uso de dos canales de trabajo con radiación que presenta diferentes polarizaciones [27]. Los tejidos con índices de refracción diferentes para cada uno de sus ejes exhibirán respuestas distintas según sea la polarización de la luz incidente. Esto es útil en tejidos que ven modificada su birrefringencia como quemaduras, cartílagos, tendones, dentina, edema macular, etc. [25]. La *elastografía de coherencia óptica*, permite medir la deformación producida en la muestra al someterla a una presión [28], que se ve afectada por cambios como fibrosis, edema, calcificación o displasia. La *espectroscopia OCT* se basa en las diferencias de absorción a las longitudes de onda que conforman el ancho de banda emitido por la fuente OCT en el tejido [29] permitiendo ver cambios en la oxigenación de la sangre u otros fluidos. Por último, la *OCT molecular* se sirve de marcadores que actúan como cromóforos que permiten realzar el contraste, intensificando la respuesta en casos como oxigenación de sangre o displasia [30].

1.3 Motivación

La técnica de OCT presenta múltiples aplicaciones, a lo que se añade un gran potencial en diferentes tejidos. Como se ha expuesto en la sección anterior, el NIST expone que se deben desarrollar tres puntos clave para su extensión a diferentes ámbitos: desarrollo de fuentes y componentes, creación de bases de datos de propiedades ópticas de tejidos y la generación de conocimiento acerca de la interacción de la luz con estos tejidos. Este documento de tesis se centra de lleno en los dos últimos aspectos. Como se ha visto en la sección 1.1, la tomografía de coherencia óptica ha experimentado un crecimiento en cuanto al número de publicaciones en investigación y se ha extendido a la práctica clínica. Sin embargo, la aplicación de OCT en los temas aquí investigados, en concreto para el estudio de la pared de la arteria aorta, el estudio de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral y el estudio de la morfología del melanoma es todavía

escasa. Dentro del ámbito cardiovascular, y centrándonos en las temáticas de esta tesis, se encuentran 168 publicaciones en *Web of Science* [5] con la palabra “aorta” aunque ninguna relacionada con la aorta humana. De ellas, tan sólo 3 están estrictamente ligadas a la arteria aorta analizando placas de lípidos o ateromas en aorta de cerdo [31], rata [32] y conejo [33]. La palabra “mitral” aparece en 15 publicaciones siendo 3 de un único autor relacionadas específicamente con la válvula mitral y su patología estudiando las venas pulmonares [34], [35], [36]. A su vez se hallan 311 para la palabra “melanoma”. Las cifras anteriores sólo reflejan los datos recogidos por *Web of Science*, pero son útiles a modo de visualización global del campo de trabajo y evolución de la tecnología OCT en los ámbitos clínicos concretos en los que se ha trabajado en esta tesis. Esta tesis responde por lo tanto a las demandas segunda y tercera expuestas por el NIST para el desarrollo de la tecnología [1], extendiendo los conocimientos de tejidos en la banda de 1.300nm para unos tejidos como la aorta, las cuerdas tendinosas y el estudio de lesiones cutáneas que han sido poco estudiados en esta u otra bandas espectrales mediante OCT. Se enfoca tanto en la caracterización de las propiedades ópticas (índice de refracción, coeficiente de atenuación y birrefringencia) como en estudio morfológico y funcional de estos tejidos mediante técnicas ópticas y la respuesta de estos ante el estímulo óptico del sistema de medida.

La elección de las patologías a estudiar no es casual. Las enfermedades del sistema cardiovascular son la primera causa de muerte en España. En el año 2014 se produjo un total de 395.830 defunciones, de las cuales 117.393 (29%) fueron a causa de fallos del sistema circulatorio y 110.278 (27%) por diferentes tipos de tumores (Figura 1.3) [37].

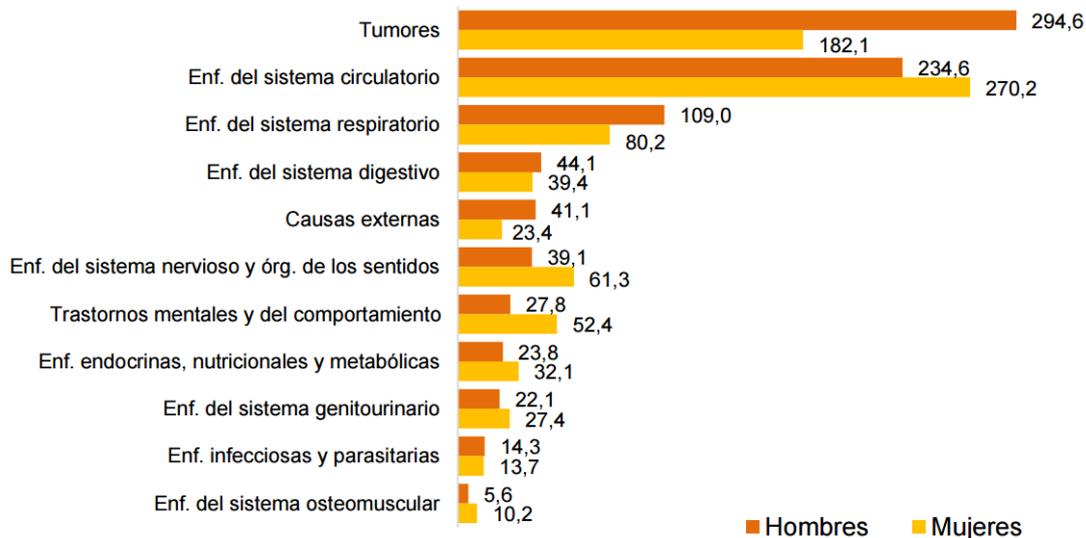


Figura 1.3. Tasas brutas de mortalidad por 100.000 habitantes según causa de muerte y sexo. Año 2014 [37].

En esta tesis se abordan tres problemáticas relacionadas con tres patologías diferenciadas:

- Aneurisma de aorta

El aneurisma de aorta tiene una incidencia en la población de entre el 0,1% en la región torácica y el 9% en la región abdominal, con unas tasas de mortalidad de un 12% y hasta un 50% respectivamente [3]. Las estadísticas varían enormemente en función del sexo, edad y región de la arteria afectada. El diagnóstico precoz es crucial, pero no siempre se diagnostica antes de la rotura del vaso, lo que puede conllevar una mortalidad de hasta el 68% en mujeres y 40% en hombres que sufran una rotura de aneurisma abdominal [38].

La morbilidad durante la intervención y en los días posteriores es elevada, alcanzando tasas de un 17% durante la intervención y un 37% en el mes posterior [38].

La caracterización de la pared aórtica adquiere su relevancia a la hora de realizar una intervención de reparación quirúrgica de aneurisma de aorta. En la actualidad, estas intervenciones se realizan en base a un diagnóstico de aneurisma con herramientas macroscópicas como la resonancia magnética o la tomografía computarizada. Durante la intervención, se coloca bien una endoprótesis vascular (comúnmente llamada por su forma en inglés, *stent*) vía cateterismo o una prótesis vascular (en inglés *graft*) vía cirugía abierta. En el segundo caso, se retira al completo el tejido degradado, sustituyéndolo por la prótesis de material biocompatible. El hecho de no retirar todo el tejido deteriorado producirá complicaciones corto y medio plazo que conlleven la re-intervención del paciente. Por otro lado, la escisión de demasiado tejido implica una intervención más compleja, un tiempo de recuperación más largo y limitaciones funcionales posteriores. Por lo tanto, un diagnóstico preciso de la extensión de la degradación de la pared es crítico para mejorar el estado postoperatorio del paciente.

- Degradación de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral

La patología de la válvula mitral afecta a la función cardiaca de forma considerable. El fallo de esta válvula implica un bombeo insuficiente del corazón, forzando a este a un sobreesfuerzo prolongado que puede llegar a ocasionar la muerte del paciente. La intervención quirúrgica es necesaria cuando el paciente no puede soportar el esfuerzo, suponiendo una tasa de mortalidad del 20% cuando la intervención se realiza de urgencia, pero que se reduce al 5% si se diagnostica y se aplica la cirugía a tiempo [39]. La tasa de re-intervención ronda el 24% en media a los 8 años, con una tasa de mortalidad de hasta un 30% si se interviene de urgencia y un 40% si hay una tercera re-intervención.

La intervención quirúrgica es compleja ya que se debe asegurar que se retira todo el tejido dañado para evitar complicaciones. A su vez, como reflejan las estadísticas, la intervención y los días posteriores son determinantes de cara a la supervivencia del paciente y su vuelta a quirófano en un plazo de 5 a 10 años. La totalidad de la intervención recae en la experiencia del equipo médico a la hora de prever la salud estructural de las cuerdas de la válvula mitral afectadas y sus adyacentes. Muchas veces los clínicos no son capaces de distinguir la presencia de patologías en las cuerdas ya que su apariencia visual puede ser totalmente normal pudiendo estar degradadas en su parte interna. La extensión de la cirugía con un margen de seguridad por una parte retarda una posible re-intervención pero, como contrapartida, retirar más tejido del estrictamente necesario implica una intervención más laboriosa y produce sintomatología y limitaciones funcionales que afectarán al estilo de vida del paciente y sus capacidades físicas.

- Cáncer de piel y el melanoma

El cáncer de piel y el melanoma no suponen un número tan elevado de fallecimientos, contando en España 1.059 fallecidos (0,2% del total de fallecimientos) en 2014 por melanoma y 1.382 fallecidos (0,3%) por el resto de tumores malignos de la piel y de los tejidos blandos [37]. Sin embargo, se dan al año unos 2 a 3 millones de nuevos casos de cáncer de piel en el mundo [40]. El diagnóstico temprano en el caso específico del melanoma es esencial, suponiendo una la tasa de mortalidad a 5 años de un 80% en el estadio IV, pero que se puede reducir a un 3% si se diagnostica en el estadio I [41]. El cáncer de piel se divide en cáncer de células basales, cáncer de células escamosas y

melanoma cutáneo (cáncer de melanocitos), tomando sus nombres de las células que se ven afectadas en cada caso. El melanoma es de los tres el menos común, con un 5% de incidencia, pero sin embargo, es el más agresivo en cuanto a expansión y metástasis, causando una tasa de mortalidad superior al resto [40]. El diagnóstico se compone de dos pasos: el primero es la inspección visual y en caso de sospechar que pueda ser un melanoma, se toma una biopsia para su estudio histológico. Dada la agresividad del melanoma, ante la menor duda se deriva a patología, produciendo un elevado número de falsos positivos en la inspección visual. La biopsia es laboriosa y altamente invasiva, más aun considerando los elevados márgenes de seguridad.

1.4 Objetivos

Las ventajas de OCT frente a otras técnicas convencionales residen en la fiabilidad y repetibilidad de las medidas, la rapidez y el hecho de que es un método de medida no invasivo. No hay restricciones de uso en diferentes tejidos más allá de la resolución o penetración requerida, lo que proporciona a esta técnica un gran campo de aplicación potencial y altamente traslacional ya que favorece la aplicación en cualquier tipo de tejido y en combinación con otras tecnologías sin interferir en su uso. OCT proporciona parámetros no sólo cualitativos, sino también cuantitativos, lo que favorece el diagnóstico mediante la evaluación de los niveles esperados. Su inocuidad y rapidez permiten además la monitorización de tejidos en casos de prevención y en casos de terapia mediante otras tecnologías.

Esta tesis se centra en la aplicación de la tomografía de coherencia óptica en el ámbito cardiovascular y dermatológico y el análisis de los datos obtenidos de cara al diagnóstico de diferentes patologías. En el área cardiovascular se centra en la caracterización de la pared de la arteria aorta y las cuerdas tendinosas de la válvula mitral como primera aproximación al estudio de dos elementos vitales en el sistema cardiovascular: el corazón y los vasos sanguíneos. Igualmente, se aplica OCT en el ámbito dermatológico en combinación con dermatoscopia como primera aproximación al estudio de lesiones en la piel con el objetivo de caracterización y diagnóstico de melanoma. Por lo tanto, el objetivo general de la tesis se desglosa en tres objetivos específicos de cara a la creación de conocimiento sobre la aplicación de OCT a estos tejidos:

- Aneurisma de aorta

En este trabajo se aplica la tomografía de coherencia óptica para la caracterización de muestras de aorta ex vivo procedentes de donantes cardíacos y pacientes que han sido intervenidos para la reparación de un aneurisma de aorta torácico. Puesto que las características de la pared arterial no son iguales en toda su extensión, se ha centrado el estudio en la región torácica ascendente de dicha arteria para homogeneizar los datos y poder comparar los valores de forma fiable. Las variaciones producidas en la pared arterial hacen de OCT la técnica idónea para la cuantificación de anomalías producidas en la composición, que se hacen medibles gracias a variaciones del índice de refracción y del coeficiente de atenuación en los tejidos patológicos. Esto permitirá cuantificar la degradación estructural en el acto y en múltiples regiones de la pared, lo que proporcionará al cirujano información diagnóstica relevante durante la misma intervención quirúrgica, ayudando a la delimitación de la degradación.

- Degradación de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral

Las cuerdas tendinosas son vitales en la función de la válvula mitral. Cuando se produce deterioro en dichas cuerdas se pueden tomar diferentes medidas clínicas que van desde la reparación de las cuerdas al remplazo de estas o de la válvula completa por una prótesis mecánica. Es necesario conocer el estado de degradación de las cuerdas, puesto que al igual que en el aneurisma, es necesario reparar completamente el complejo valvular, pero a su vez, retirar más tejido del necesario complica considerablemente la intervención y la recuperación. En esta tesis se ha trabajado con cuerdas humanas ex vivo, procedentes de patología degenerativa, reumática y no patológicas o funcionales. OCT permite ver la cuerda al completo, tanto el núcleo como la parte externa de estas. La información morfológica producida se complementa además con la información de birrefringencia, que ofrece información acerca de la densidad de fibras de colágeno y su organización, lo que puede ayudar a prever la viabilidad funcional de todas las cuerdas de la válvula durante la cirugía.

- Cáncer de piel y el melanoma

El melanoma se caracteriza por el crecimiento anómalo de un tipo de células presentes en la epidermis, los melanocitos, extendiéndose con la evolución de la patología más allá de la membrana que separa la epidermis de la dermis llegando incluso al tejido subcutáneo. La diferencia entre un melanoma y una lesión benigna de tipo nevus es la asimetría y crecimiento descontrolado del primero. La morfología puede ser examinada en ambos casos mediante OCT, cuya resolución permite diferenciar las capas dermis y epidermis y encontrar anomalías en la profundidad del tejido. Estas medidas además han de ser co-registradas con imagen en color por dermatoscopia, que permite ver la distribución de melanocitos gracias a su color marrón oscuro, lo cual proporciona información acerca de la absorción que complementa la atenuación medida por OCT.

La evolución del melanoma se clasifica en estadios en función de la extensión de la enfermedad, en cuanto a la penetración de la lesión y su posible difusión a los ganglios linfáticos. Según la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC), el mejor indicador pronóstico es el grosor de Breslow, que mide el espesor del tumor en cuanto a su penetración desde la superficie hacia el interior de la piel [41]. Ante un indicio de lesión de tipo maligno se realiza una biopsia del tejido tomando unos márgenes de seguridad elevados, tanto en profundidad como de tejido adyacente para asegurar que se toman márgenes libres de lesión y se elimina la totalidad de células cancerosas.

En el caso del estudio del melanoma, OCT permite ver la estructura de la lesión y obtener el grosor de Breslow e identificar los márgenes sin necesidad de biopsia [42], lo que puede reducir considerablemente el número de biopsias y la carga de trabajo de los servicios de dermatología. OCT produce información morfológica, al igual que la histología, sin embargo, no es invasivo y permite visualizar la región y delimitar su extensión antes de realizar una posible biopsia. La longitud de onda, 1300 nm, es determinante ya que a longitudes de onda inferiores la penetración se reduce considerablemente [40].

En los tres casos, las intervenciones clínicas que se realizan actualmente se llevan a cabo sin información precisa del estado de degradación del tejido a nivel microscópico, lo que implica que bien el dermatólogo o el cirujano han de basarse su experiencia con pacientes previos y aplicar unos márgenes altamente conservadores. Este trabajo se ha centrado en el análisis de muestras ex

vivo de cara a demostrar la viabilidad de la técnica, basándose en la hipótesis de que OCT permite en todos los casos caracterizar de forma precisa la morfología interna, proporcionando así información relevante de cara a una potencial aplicación en el ámbito intraoperatorio.

1.5 Estructura del documento

Este documento se ha concebido como una herramienta auto contenida tanto de la información necesaria acerca de la estructura, fisiología y patología de los órganos medidos, como de las técnicas y fenómenos ópticos empleados para la caracterización de dichos órganos, al igual que las técnicas utilizadas para procesar los datos y elaborar información diagnóstica relevante.

<i>Introducción</i>	Capítulo 1. Introducción
<i>Fundamentos</i>	Capítulo 2. Fenómenos físicos e imagen médica
	Capítulo 3 Anatomía y patología
<i>Contribuciones</i>	Capítulo 4. Imagen diagnóstica mediante OCT
	Capítulo 5. OCT aplicado a la aorta torácica
	Capítulo 6. OCT aplicado a las cuerdas tendinosas
	Capítulo 7. OCT y dermatoscopia aplicado a lesiones cutáneas
<i>Conclusiones</i>	Capítulo 8. Conclusiones y líneas futuras

Tabla 1.1. Estructura del documento de tesis.

Este primer capítulo pretende reflejar los comienzos y capacidades de la tomografía de coherencia óptica, lo cual refuerza la viabilidad de aplicación de esta técnica para las tareas a desarrollar de cara al diagnóstico de las patologías mencionadas en aorta, cuerda mitral y melanoma.

En el capítulo 2 se hace una recopilación básica de las técnicas más utilizadas en el ámbito de la imagen médica, concebida como una de las ramas de lo que se conoce como ingeniería biomédica. Asimismo se hace un breve recorrido por la familia de las herramientas fotónicas de imagen para ofrecer una visión de otras tecnologías de diagnóstico en relación con la tomografía de coherencia óptica y sus propiedades. Se tratarán algunos fenómenos ópticos relevantes para la aplicación de OCT y sus prestaciones en comparación con otras técnicas.

El capítulo 3 recoge las principales características de los tejidos analizados: la arteria aorta, las cuerdas mitrales y la piel. Este capítulo está dedicado a conocer la morfología y funciones de los tejidos para poder analizar la información obtenida. El objetivo es que la información diagnóstica generada por OCT se corresponda con magnitudes físicas contrastables con la histología, u otros métodos, y aumentar la utilidad diagnóstica del sistema y las medidas realizadas.

El capítulo 4 recoge los principales fenómenos ópticos que tienen lugar cuando se produce la interacción de la luz con los tejidos ópticos para los sistemas utilizados. Estos son la causa o afectan a las medidas que se obtienen de las muestras analizadas y por tanto es necesario

conocerlos para entender la respuesta. La captura y representación de estos fenómenos es lo que permite, en unos casos obtener información relevante de las muestras, y en otros, perjudica la adquisición. Se explican las técnicas utilizadas para la extracción de información, representación de los datos y reducción de efectos no deseados en las medidas.

Los capítulos 5, 6 y 7 recogen los resultados obtenidos para cada uno de los elementos analizados, respectivamente pared de la arteria aorta, cuerdas tendinosas de la válvula mitral y estudio del melanoma y lesiones cutáneas. Finalmente se exponen las conclusiones globales de este trabajo y las líneas futuras más inmediatas. Se enumeran además las publicaciones que se han producido en el contexto de la elaboración de este documento.

Bibliografía

- [1] M. Brownstein *et al.*, «Biophotonic Tools in Cell and Tissue Diagnostics», *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, vol. 112, n.º 3, pp. 139-152, 2007.
- [2] D. Huang *et al.*, «Optical Coherence Tomography HHS Public Access», *Sci. Novemb.*, vol. 22, n.º 2545035, pp. 1178-1181, 1991.
- [3] J. M. Schmitt, a Knüttel, M. Yadlowsky, y M. a Eckhaus, «Optical-coherence tomography of a dense tissue: statistics of attenuation and backscattering.», *Phys. Med. Biol.*, vol. 39, n.º 10, pp. 1705-1720, 1994.
- [4] A. Sergeev *et al.*, «In Vivo Optical Coherence Tomography of Human Skin Microstructure», en *Proceedings of the SPIE*, 1994, vol. 2328, pp. 144-150.
- [5] «Web of Science». [En línea]. Disponible en: <https://webofknowledge.com/>. [Accedido en enero de 2017]
- [6] H. C. Meghana, G. V. Pramod, y A. Lingappa, «International Poster Journal of Dentistry and Oral Medicine», en *Optical Coherence Tomography: A New Era in Dental Imaging*, 2012, p. poster 613.
- [7] P. B. Garcia-Allende, I. Amygdalos, H. Dhanapala, R. D. Goldin, G. B. Hanna, y D. S. Elson, «Morphological analysis of optical coherence tomography images for automated classification of gastrointestinal tissues», *Biomed. Opt. Express*, vol. 2, n.º 10, p. 2821, 2011.
- [8] B. Bouma y G. Tearney, «High-resolution imaging of the human esophagus and stomach in vivo using optical coherence tomography», *Gastrointest. Endosc.*, vol. 51, n.º 4, pp. 467-474, 2000.
- [9] P. Herz *et al.*, «Ultrahigh resolution optical biopsy with endoscopic optical coherence tomography.», *Opt. Express*, vol. 12, n.º 15, pp. 3532-42, 2004.
- [10] G. J. Tearney, M. E. Brezinski, J. F. Southern, B. E. Bouma, S. A. Boppart, y J. G. Fujimoto, «Optical biopsy in human urologic tissue using optical coherence tomography», *J. Urol.*, vol. 157, n.º 5, pp. 1915-1919, 1997.
- [11] H. J. Böhringer, E. Lankenau, F. Stellmacher, E. Reusche, G. Hüttmann, y A. Giese, «Imaging of human brain tumor tissue by near-infrared laser coherence tomography», *Acta Neurochir. (Wien)*, vol. 151, n.º 5, pp. 507-517, 2009.
- [12] E. Regar, T. G. van Leeuwen, y P. W. Serruys, Eds., *Optical Coherence Tomography in Cardiovascular Research*, 1 st. Abingdon: informa healthcare, 2007.
- [13] «ZEISS Global», 2017. [En línea]. Disponible en: <https://www.zeiss.com/meditec/int/products/product-finder.html>.
- [14] «Optovue», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.optovue.com>.
- [15] «TOPCON», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.topconmedical.com/>.
- [16] «Intravascular Diagnostics and Imaging System (FFR & OCT)», 2016. [En línea]. Disponible en: <http://www.sjmglobal.com/en-int/professionals/featured-products/vascular/intravascular-diagnostics-imaging/intravascular-diagnostics-imaging-system-ffr-oct>.

- [17] Heidelberg Engineering, «OCT Angiography Module», 2017. [En línea]. Disponible en: <https://business-lounge.heidelbergengineering.com/int/products/spectralis/oct-angiography-module/>.
- [18] «Derma Lumics». [En línea]. Disponible en: <http://www.dermalumics.com>.
- [19] Axsun, «Optical Coherence Tomography». [En línea]. Disponible en: <http://www.axsun.com/medical-imaging/>.
- [20] «HAMAMATSU», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.hamamatsu.com/eu/en/index.html>.
- [21] Thorlabs, «OCT Imaging», 2017. [En línea]. Disponible en: https://www.thorlabs.com/navigation.cfm?guide_id=2039.
- [22] «OCT News», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.octnews.org>.
- [23] M. W. Jenkins *et al.*, «4D embryonic cardiography using gated optical coherence tomography.», *Opt. Express*, vol. 14, n.º 2, pp. 736-48, 2006.
- [24] D. Choi, H. Hiro-Oka, K. Shimizu, y K. Ohbayashi, «Spectral domain optical coherence tomography of multi-MHz A-scan rates at 1310 nm range and real-time 4D-display up to 41 volumes/second», *Biomed. Opt. Express*, vol. 3, n.º 12, pp. 3067-86, 2012.
- [25] J. Kim, W. Brown, J. R. Maher, H. Levinson, y A. Wax, «Functional Optical Coherence Tomography: Principles and Progress», *Phys. Med. Biol.*, vol. 22, n.º 2, pp. 134-139, 2015.
- [26] V. X. D. Yang *et al.*, «High speed, wide velocity dynamic range Doppler optical coherence tomography (Part I): System design, signal processing, and performance», *Opt. Express*, vol. 11, n.º 7, pp. 794-809, 2003.
- [27] J. F. de Boer, T. E. Milner, y J. S. Nelson, «Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography», *Opt. Lett.*, vol. 22, n.º 12, pp. 934-936, 1997.
- [28] J. Schmitt, «OCT elastography: imaging microscopic deformation and strain of tissue.», *Opt. Express*, vol. 3, n.º 6, pp. 199-211, 1998.
- [29] U. Morgner *et al.*, «Spectroscopic optical coherence tomography», *Opt. Lett.*, vol. 25, n.º 2, pp. 111-113, 2000.
- [30] B. E. Applegate y J. A. Izatt, «Molecular imaging of endogenous and exogenous chromophores using ground state recovery pump-probe optical coherence tomography», *Opt. Express*, vol. 14, n.º 20, pp. 9142-9155, 2006.
- [31] M. G. Ghosn, E. Carbajal, N. Befruj, V. V Tuchin, y K. V Larin, «Quantifying permeability of glucose in normal and atherosclerotic pig aorta in vitro using optical coherence tomography», en *Coherence Domain Optical Methods and Optical Coherence Tomography in Biomedicine XII*, 2008, vol. 6847, p. 68471E-1.
- [32] S. Tahara *et al.*, «Atherosclerosis and Inflammation in Murine Aorta», *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 32, n.º 5, pp. 1150-1157, 2014.
- [33] J. Kim *et al.*, «Intravascular magnetomotive optical coherence tomography of targeted early-stage atherosclerotic changes in ex vivo hyperlipidemic rabbit aortas», *J. Biophotonics*, vol. 9, n.º 1-2, pp. 109-116, 2016.
- [34] E. Jorge, H. Faria, C. Silva, y M. Pan, «Optical coherence tomography on the right side: Pulmonary vascular disease in mitral stenosis», *Heart Asia*, vol. 5, n.º 1, p. 85, 2013.
- [35] E. Jorge, J. Calisto, y H. Faria, «Pulmonary Hypertension in Mitral Stenosis: An Optical Coherence Tomography Study», *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)*, vol. 67, n.º 3, p. 224, 2014.
- [36] E. Jorge *et al.*, «Pulmonary vascular remodeling in mitral valve disease: An optical coherence tomography study», *Int. J. Cardiol.*, vol. 203, pp. 576-578, 2016.
- [37] «Instituto Nacional de Estadística». [En línea]. Disponible en: www.ine.es [Accedido enero 2017].
- [38] A. A. Noel *et al.*, «Ruptured abdominal aortic aneurysms: The excessive mortality rate of conventional repair», *J. Vasc. Surg.*, vol. 34, n.º 1, pp. 41-46, 2001.
- [39] J. M. Revuelta, «Mitral valve repair between 2 shores», *Cirugía Cardiovasc.*, vol. 22, n.º 1, pp. 5-9, 2015.
- [40] M. C. F. Simões, J. J. S. Sousa, y A. A. C. C. Pais, «Skin cancer and new treatment perspectives: A review», *Cancer Lett.*, vol. 357, n.º 1, pp. 8-42, 2015.

- [41] A. E. C. el Cáncer, «Factores pronósticos», *Asociación Española Contra el Cáncer*. [En línea]. Disponible en: www.aecc.es. [Accedido: 21-mar-2017].
- [42] A. Varkentin *et al.*, «Comparative study of presurgical skin infiltration depth measurements of melanocytic lesions with OCT and high frequency ultrasound», *J. Biophotonics*, vol. 8, n.º 2016, pp. 1-8, 2016.

Capítulo 2

Fenómenos físicos e imagen médica

2.1 Principales técnicas de imagen médica	14
2.1.1 Técnicas no ópticas	15
2.1.2 Técnicas ópticas	16
2.1.3 Técnicas ópticas híbridas	17
2.2 Propiedades ópticas de los tejidos	17
2.2.1 Índice de refracción	18
2.2.2 Absorción	19
2.2.3 Dispersión	20
2.2.3.1 Dispersión simple	20
2.2.3.2 Dispersión múltiple.....	23
2.2.4 Polarización	25
2.2.5 Propagación de luz en tejidos biológicos	26
Bibliografía	29

La disciplina de la ingeniería biomédica engloba múltiples ramas de aplicación en las que participan diferentes ciencias e ingenierías al servicio de la salud, dando soporte a la medicina, farmacia, biología y bioquímica, a partir de ciencias como la física, informática, electricidad, mecánica o fotónica. No hay una clasificación sencilla de las diferentes ramas aplicación, pero algunos autores proponen el siguiente esbozo [1]:

- *Fenómenos de transporte*: monitorización, medida y modelado de procesos bioquímicos.
- *Biomecánica*: estudios de mecánica estática y de fluidos asociados con los sistemas fisiológicos.
- *Biomateriales*: diseño y desarrollo de materiales bioimplantables.
- *Biosensores*: detección de eventos biológicos y su conversión en señales eléctricas.
- *Modelado fisiológico, simulación y control*: uso de simulaciones en ordenador para el desarrollo y comprensión de las relaciones fisiológicas.
- *Instrumentación biomédica*: monitorización y medida de eventos fisiológicos.
- *Análisis médico y biológico*: detección, clasificación y análisis de señales bioeléctricas.
- *Ingeniería de rehabilitación*: diseño y desarrollo de dispositivos y procedimientos terapéuticos y de rehabilitación.
- *Dispositivos protésicos y órganos artificiales*: diseño y desarrollo de dispositivos para el remplazo o aumento de las funciones corporales.
- *Informática médica*: interpretación de datos relacionados con el paciente, asistencia clínica en toma de decisiones.
- *Imagen médica*: suministro de representaciones gráficas de detalles anatómicos y funciones fisiológicas.

- *Biotecnología*: creación o modificación de materiales biológicos.
- *Ingeniería clínica*: diseño y desarrollo de instalaciones, dispositivos, sistemas y procedimientos clínicos.
- *Efectos biológicos de los campos electromagnéticos*: en tejidos.

El trabajo desarrollado en esta tesis se centra principalmente en la rama de la *imagen médica* ya que se centra en el análisis de viabilidad de aplicación de técnicas de imagen para diferentes patologías. También incide en *informática médica* ya que se desarrollan técnicas de análisis de las imágenes médicas para generar un diagnóstico automatizado de las diferentes patologías y asistir al personal clínico en la toma de decisiones.

2.1 Principales técnicas de imagen médica

Las técnicas de imagen utilizadas por las ciencias médicas son muy variadas. La simple inspección visual o el uso de lentes proporciona información diagnóstica de gran relevancia. La inspección visual del paciente permite en múltiples ocasiones el diagnóstico en base a síntomas observables a simple vista como son afecciones en piel, mucosas expuestas, hemorragias superficiales, etc. La microscopía supuso en su momento un gran avance, ya que permite ver elementos de dimensión celular e inferior, permitiendo de esta forma el estudio y caracterización de los elementos intrínsecos del organismo y de aquellos elementos externos, incluyendo la cuantificación por conteo en análisis sanguíneos. Las técnicas endoscópicas han permitido obtener imágenes del interior del cuerpo a través de los diferentes orificios (esofagoscopia, colonoscopia, etc.) o de pequeñas incisiones (laparoscopia, toracoscopia, etc.) permitiendo ver lo que sucede en el interior del cuerpo en tiempo real y servir de guía para realizar intervenciones quirúrgicas, como por ejemplo la cauterización y eliminación de pólipos en el intestino por colonoscopia o la intervención de la articulación de la rodilla por artroscopia.

Paulatinamente se han descubierto nuevos mecanismos de interacción de la luz con los tejidos biológicos más allá de la simple visión por reflexión o transmisión, desarrollando nuevas herramientas que permiten obtener mejores resoluciones o penetraciones. En la Figura 2.1 se representan algunas de las principales técnicas de imagen médica junto con sus prestaciones en cuanto a penetración y resolución. Se muestra en la parte superior una escala mostrando las dimensiones físicas y ejemplos de elementos del cuerpo humano para dichas dimensiones. Para cada técnica se indica su máxima resolución en la parte izquierda y su máxima penetración en la parte derecha de la escala, ya que ambos parámetros suponen un compromiso y se miden en la misma magnitud. Se ha clasificado las técnicas en tres regiones en función de su penetración en técnicas microscópicas, mesoscópicas y macroscópicas.

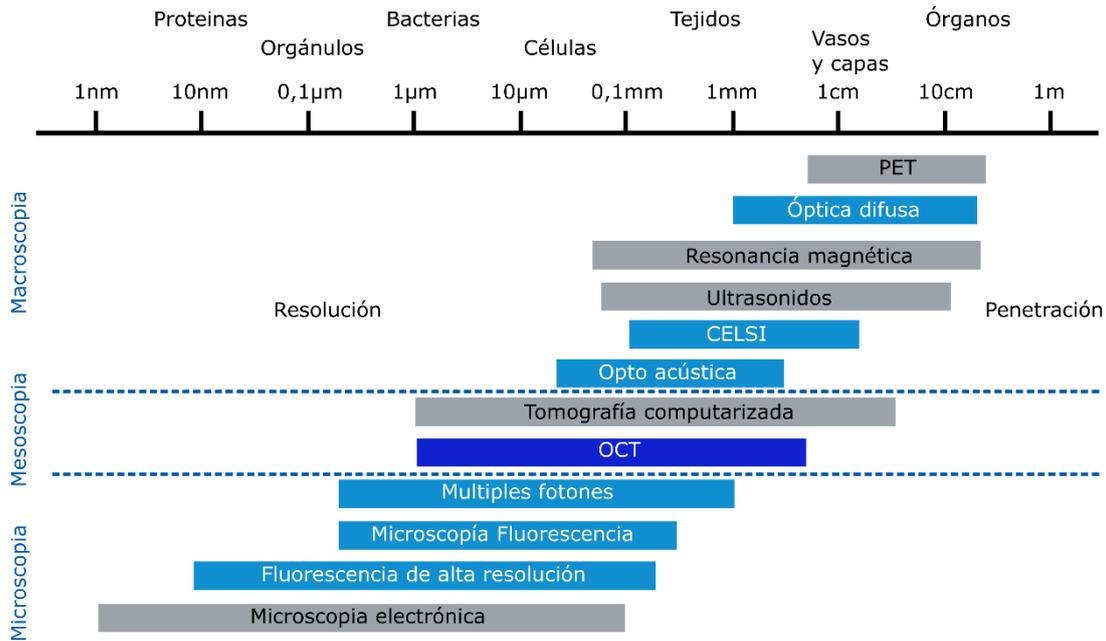


Figura 2.1. Comparativa de resolución y penetración de diferentes técnicas de imagen médica. En la parte superior se muestra el eje de unidades de longitud y un ejemplo de elementos del cuerpo humano que presentan dichas dimensiones. La gráfica muestra las técnicas abarcando desde la mejor resolución alcanzable hasta la máxima penetración posible. En azul se muestran las técnicas ópticas, indicando las regiones microscópica, mesoscópica y macroscópica [2], [3], [4], [5], [6]. CELSI es la abreviatura de *Cherenkov-Excited Luminescence Scanned Imaging*, PET es la abreviatura de *Positron Emission Tomography*.

El camino libre en el medio (MFP, del inglés *Mean Free Path*) describe la distancia media entre dos eventos dispersivos. En tejidos, esta distancia suele ser del orden de las 100 micras, para técnicas ópticas, pero puede ser de decenas de centímetros para rayos X. Esta es la razón por la cual los cortes histológicos para visión por microscopía se preparan en láminas de unas 10 o 20 micras de grosor evitando así la dispersión de la luz [6]. A la región que se extiende a una profundidad inferior a la región libre de esparcimiento se le llama típicamente la región microscópica (Figura 2.1 región inferior), donde la propagación de fotones es balística y el tamaño de las partículas es similar a la longitud de onda. La longitud de transporte o camino de transporte libre medio (TMFP, del inglés *Transport Mean Free Path*) define la distancia a la cual la dispersión de los fotones sigue una dirección aleatoria, que en imagen óptica de tejidos es típicamente entre 0,5 mm y 1 mm. Cuando la penetración en el tejido se produce a una profundidad entre aproximadamente 1 TMFP y 10 TMFP, que coincide con unas distancias semejantes a la longitud de onda de trabajo, se considera región mesoscópica (Figura 2.1 región intermedia). En tejidos esta región se extiende aproximadamente entre 0,5 mm y 1 cm para las técnicas ópticas, donde la propagación de fotones es difusa. Más allá de 10 TMFP, se puede considerar región macroscópica (Figura 2.1 región superior) [6].

2.1.1 Técnicas no ópticas

En una aproximación desde las técnicas macroscópicas hacia las microscópicas, se encuentran en primer lugar las técnicas tomográficas que permiten obtener imágenes volumétricas del cuerpo humano, o de sus órganos, con una gran penetración en tejidos. Las técnicas de tomografía por emisión de positrones (PET, del inglés *Positron Emission Tomography*), imagen por resonancia

magnética (IRM) y los ultrasonidos (US) permiten obtener imagen del interior del cuerpo humano a nivel de órgano, con resoluciones por debajo del centímetro. Los rayos X, y dentro de estos la tomografía computarizada (TC), son capaces de atravesar el cuerpo por completo con una resolución mayor que los anteriores, pudiendo llegar al orden de la micra [2].

Cuando no se necesita obtener una gran penetración, sino resoluciones nanométricas, se utiliza la microscopía electrónica, que utiliza electrones para la creación de imagen. Este método puede conseguir resoluciones atómicas, llegando incluso por debajo de 50 pm [7]. La aplicación a tejidos conlleva una preparación laboriosa y un baño metálico que facilite la transmisión de electrones.

2.1.2 Técnicas ópticas

Entre la alta penetración de las técnicas tomográficas y la alta resolución de la microscopía electrónica se encuentran las técnicas ópticas. Ya que los tejidos producen una elevada dispersión, las técnicas ópticas se pueden dividir según si utilizan luz difusa o balística. La tomografía óptica o imagen de óptica difusa (DOT, del inglés *Diffuse Optical Tomography*) se basa en la difusión de la luz en un tejido. Este método coloca varios emisores y receptores de luz a nivel superficial para capturar la luz que atraviesa el tejido en múltiples direcciones [8]. Se consiguen penetraciones de varios milímetros o centímetros, pero la resolución es baja debido a la enorme dispersión de los tejidos que modifica la trayectoria de la luz. Esta técnica es muy utilizada para la caracterización de la actividad cerebral o difusión sanguínea en general, ya que la sangre en sus estados oxigenado o desoxigenado produce una absorción específica en los tejidos [9].

Las técnicas balísticas se basan en la propagación directa de la luz. Debido a la heterogeneidad y alta dispersión de los tejidos, la penetración está limitada a órdenes inferiores al milímetro. El efecto que permite obtener imagen en las técnicas de óptica difusa es bien la transmisión a través de la muestra, o bien la reflexión en diferentes ángulos. Las técnicas balísticas requieren transmisión directa o dispersión en un único ángulo. La tomografía de coherencia óptica se sirve de la dispersión simple hacia atrás, siendo utilizada para producir una señal de interferencia que proporciona una localización precisa del elemento dispersivo. La recepción de fotones que provengan de múltiples regiones del tejido es posible, pero dado que la dispersión de un fotón en múltiples elementos del tejido tiene una probabilidad de volver hacia atrás menor, su potencia también es menos relevante que la dispersión simple [10]. Esta técnica proporciona una resolución típica entre 1 y 15 micras y una penetración de 1 a 3 mm, lo que la coloca en un lugar de compromiso entre la alta resolución y la alta penetración.

Para obtener una resolución a nivel celular o inferior, por debajo de la micra, se utilizan técnicas basadas en microscopía de fluorescencia. La principal técnica de fluorescencia es la microscopía confocal, con una penetración de unas 200 micras, una resolución axial del orden de la micra pero menor resolución lateral, del orden de los cientos de nanómetros. Variantes de esta técnica como son las técnicas de absorción de dos o más fotones (MPM, del inglés *Multi Photon Microscopy*) permite mejorar la penetración de la microscopía por fluorescencia hasta el milímetro aproximadamente. Se han desarrollado multitud de técnicas que permiten mejorar las prestaciones de la imagen por fluorescencia entre las que se encuentran la fluorescencia excitada por dos fotones (2PEF, del inglés *two-Photon Excited Fluorescence*), generación del segundo armónico (SHG, del inglés *Second-Harmonic Generation*), fluorescencia excitada por tres fotones (3PEF, del inglés *three-Photon Excited Fluorescence*) y la generación del tercer armónico (THG, del inglés *Third-Harmonic Generation*) [3]. Otras variantes han permitido sobrepasar el límite de difracción en microscopía de los 200 nm, obteniendo resoluciones del orden de varios nanómetros: la fluorescencia de una sola molécula (en inglés *Single-Molecule Microscopy*) y la

microscopía de emisión por depleción estimulada (STED, del inglés *Stimulated Emission Depletion Microscopy*), por las que se otorgó el premio Nobel de Química en 2014 a William E. Moerner, Eric Betzig y Stefan Hell [11]. La resolución de este tipo de técnicas es elevada con la contrapartida de una baja penetración.

2.1.3 Técnicas ópticas híbridas

En tejidos biológicos la penetración viene limitada por el fenómeno de dispersión, ya que la absorción en la ventana de trabajo del suele ser menor. Este fenómeno se produce con cualquier radiación, pero su efecto en tejidos es más limitante en la región visible y ultravioleta debido al tamaño de las partículas, limitando la penetración a unos pocos milímetros en el caso de OCT y decenas de micras en los casos de fluorescencia y confocal. La microscopía convencional y la microscopía confocal trabajan en la región microscópica ya que están limitadas a la propagación balística. La tomografía de coherencia óptica trabaja en la región mesoscópica y las técnicas que pueblan la región macroscópica son típicamente no ópticas: la tomografía computarizada y la resonancia magnética. Sin embargo, se han desarrollado técnicas que permiten aprovechar fenómenos híbridos que no son puramente ópticos, como son el fenómeno llamado optoacústico o fotoacústico y el fenómeno de luminiscencia de Cherenkov.

El efecto optoacústico se produce cuando se irradia la muestra con un haz laser pulsado a un periodo de nanosegundos. Este calienta el tejido y produce una onda acústica de entre 1 y 100 MHz, que será dependiente de la absorción del tejido a la longitud de onda del láser, la duración del pulso y la potencia [12]. La detección se hace mediante un detector de ultrasonidos, que será el elemento limitante de la resolución. Además, la resolución empeora con la penetración debido a la atenuación de la onda de ultrasonidos. Las resoluciones de estos sistemas rondan las 10-20 μm con una penetración en torno a 1 mm [6]. Las últimas investigaciones intentan superar este límite de penetración habiéndose demostrado hasta 5 cm [13].

En el caso de la técnica CELSI (del inglés *Cherenkov-Excited-Luminescence Sheet Imaging*) se utiliza el efecto Cherenkov, según el cual, al irradiar el tejido con una radiación ionizante, el propio tejido que recibe la radiación produce una luminiscencia. Esta se captura con una cámara que presenta gran sensibilidad, para reconstruir a continuación la información en profundidad de forma similar a rayos X. En 2014 se utilizó en mama [14] y en 2015 se ha tomado una medida completa del cuerpo de un ratón [15]. En humanos está en fase de desarrollo, enfocado a su aplicación en oncología [5].

2.2 Propiedades ópticas de los tejidos

Los tejidos biológicos se consideran en general medios turbios que producen una elevada dispersión o esparcimiento (en inglés *scattering*) de la luz, salvo algunos tejidos como puede ser el humor vítreo en el ojo. La elevada dispersión de los tejidos biológicos se debe a su composición mediante la agregación de elementos como células, orgánulos celulares, fibras de colágeno, proteínas, membranas, etc. (Figura 2.2). La composición, índice de refracción, forma y tamaño de cada uno de los elementos, así como la concentración de estos en el tejido produce diferentes efectos la luz, principalmente dispersión y absorción de los fotones. Ambos efectos dependen tanto de las características de los elementos en el tejido como de la energía o longitud de onda de la radiación incidente.

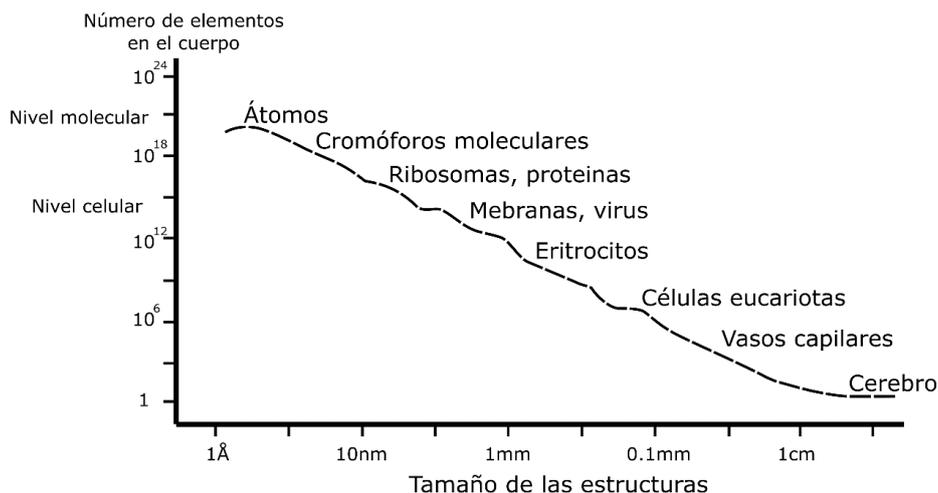


Figura 2.2. Tamaño de principales elementos que componen el cuerpo humano [16].

Los medios biológicos están mayormente compuestos por células y partículas de forma esférica o elipsoidal. En el caso del tejido conectivo y muscular se suelen formar fibras de forma elongada, ya sea debido al colágeno o a las fibras musculares. El número de células en una muestra de tejido es elevado, por lo que como norma general no es eficiente caracterizar cada uno de los elementos presentes en la muestra. Típicamente se considera una concentración de los diferentes elementos que forman parte del tejido a analizar, caracterizando el tejido completo y considerando las concentraciones y dimensiones de los elementos cuya presencia es conocida en dicho tejido de cara a la interpretación o simulación de sus propiedades.

Los tamaños de las células y tejidos varían desde nanómetros hasta cientos de micras. Las plaquetas de la sangre tienen unas dimensiones de 2 a 4 μm , frente a las hasta 22 μm de los leucocitos. Los eritrocitos o células rojas miden entre 7 y 9 μm , no siendo esféricos sino en forma de disco [17]. Las células de grasa pueden variar su tamaño entre 50 y 75 μm , llegando a las 200 μm en casos anómalos. La mayor parte de las células presentan tamaños entre los casos descritos. A su vez, las células están compuestas de un núcleo (si lo hay) menor a las 10 μm y orgánulos de dimensiones de unos pocos a unos cientos de nanómetros. El epitelio que recubre multitud de órganos está formado por una capa de células de entre 10 y 25 μm . Las fibras presentes en los tejidos conectivos y músculos presentan una forma alargada, de entre 10 y 100 nm de sección y de entre 25 μm y unos pocos milímetros de longitud [17]. En el caso del colágeno los haces presentan secciones de 1 a 12 μm y las fibras elásticas de 2 a 3 μm .

2.2.1 Índice de refracción

Cada tipo de partícula y medio presenta un índice de refracción diferente. El índice de refracción complejo de un material se define como [16]:

$$\bar{n}(\lambda) = n(\lambda) - i\alpha(\lambda) \quad (2.1)$$

donde $n(\lambda)$ es el índice de refracción y $\alpha(\lambda)$ la atenuación debida a la absorción y dispersión. Ambos dependen de la longitud de onda de trabajo. La velocidad de la luz en un medio será función del índice de refracción de este [16]:

$$v(\lambda) = \frac{c}{n(\lambda)} \quad (2.2)$$

siendo c la velocidad de la luz en el vacío, $2,998 \cdot 10^8$ m/s. Cuando la luz se encuentra con un cambio del medio 1 al 2 se produce un efecto de reflexión, por el cual una parte de la potencia es reflejada en el mismo ángulo respecto a la superficie, siguiendo la ley de Snell. Otra parte de potencia es refractada, penetrando en el nuevo medio y modificando su ángulo y velocidad de propagación o longitud de onda:

$$\frac{\text{sen}\theta_2}{\text{sen}\theta_1} = \frac{n_1}{n_2} \tag{2.3}$$

La potencia que penetra en el material será la totalidad salvo aquella reflejada, R_F , según las ecuaciones de Fresnell para campo eléctrico polarizado de forma paralela y transversal a la superficie de la muestra, que por lo tanto dependen del ángulo de incidencia. En el caso de incidencia perpendicular a la superficie, como es el caso de tomografía de coherencia óptica, se simplifica dando potencia transmitida hacia el interior del nuevo medio [17], [16]:

$$T = 1 - R_F = 1 - \left[\frac{(n_1 - n_2)^2}{(n_1 + n_2)^2} \right] = \frac{4n_1 n_2}{(n_1 + n_2)^2} \tag{2.4}$$

2.2.2 Absorción

Cada fotón del espectro electromagnético lleva una energía determinada para su longitud de onda. Esta energía es absorbida por el medio, en el caso de las moléculas, por los enlaces de las moléculas para excitar estados de energéticos superiores. En el caso de tejidos biológicos, cada tipo de radiación lleva asociadas diferentes técnicas de diagnóstico o tratamiento. Las técnicas fotónicas se centran en las bandas ultravioleta, donde ocurre el efecto de fluorescencia visible, y el espectro visible a infrarrojo cercano, en las cuales la absorción se produce a nivel electrónico y vibraciones a nivel de enlace molecular.

<i>Región espectral</i>	<i>Longitud de onda (cm)</i>	<i>Energía (kcal mol⁻¹)</i>	<i>Técnicas</i>	<i>Propiedades</i>
<i>Rayos γ</i>	10^{-11}	$3 \cdot 10^8$	Mössbauer	Propiedades del núcleo
<i>Rayos X</i>	10^{-8}	$3 \cdot 10^5$	Difracción/dispersión por rayos X	Estructura molecular
<i>Ultra violeta</i>	10^{-5}	$3 \cdot 10^2$	Absorción UV	Estados electrónicos
<i>Visible</i>	$6 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^3$	Absorción visible Luminiscencia	Estados electrónicos
<i>Infrarrojo</i>	10^{-3}	$3 \cdot 10^0$	Absorción IR Emisión IR	Vibraciones moleculares Estados electrónicos
<i>Microondas</i>	10^{-1}	$3 \cdot 10^{-2}$	Microondas	Rotación de moléculas
	10^0	10^{-3}	Resonancia paramagnética electrónica	Spin nuclear
<i>Radio frecuencia</i>	10	$3 \cdot 10^{-4}$	Resonancia magnética nuclear	Spin nuclear

Tabla 2.1. Técnicas espectroscópicas para aplicaciones biológicas y biomédicas. Valores aproximados [16].

La absorción de un material se puede expresar en base a la sección eficaz de absorción (en inglés *absorption cross section*), σ_a , y de la concentración de elementos absorbentes en el material, ρ :

$$\mu_a = \rho\sigma_a \quad (2.5)$$

La absorción en un medio sigue la ley de Beer-Lambert, que supone una pérdida de intensidad óptica que sigue una curva exponencial con la penetración. La intensidad óptica depende por tanto de la profundidad z como :

$$I(z) = I_0 e^{-\mu_a z} \quad (2.6)$$

Entre los principales medios absorbentes en tejidos biológicos se encuentran la melanina, la sangre y el agua, siendo el resto de elementos en general altamente dispersivos. La absorción producida por el agua es elevada desde el ultravioleta hasta el infrarrojo, con la salvedad de la región visible. En esta región espectral la sangre presenta una absorción elevada para longitudes de onda bajas, limitando la zona de baja absorción a la región entre 600 y 1.400nm (Figura 2.3). A esta región del espectro se le llama la ventana terapéutica o diagnóstica ya que permite una penetración mayor en el tejido. El resto de tejidos como la epidermis o las paredes arteriales experimentan igualmente un descenso de la absorción a partir de los 600 a 650 nm. Además, a partir de los 1.000 nm se reduce el número de elementos absorbentes en el tejido biológico, aunque no así el agua. En estas regiones, el principalmente componente de atenuación es la dispersión[16], [17].

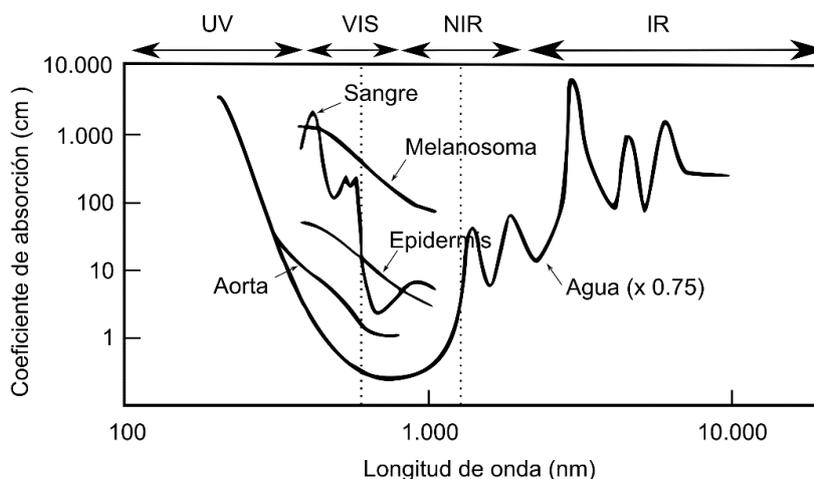


Figura 2.3. Ventana terapéutica o diagnóstica (líneas punteadas) en tejidos de aproximadamente 600 a 1.400 nm. Se muestran los principales elementos absorbentes en dicho rango (los melanosomas son los orgánulos que almacenan melanina en la piel) [16].

2.2.3 Dispersión

2.2.3.1 Dispersión simple

Al entrar la luz en contacto con un nuevo medio que presenta un índice de refracción diferente y de dimensiones físicas cercanas a la longitud de onda, el efecto producido no es la simple reflexión y transmisión, sino que se produce una dispersión de la luz en diferentes direcciones. La dispersión produce en la intensidad óptica un efecto de atenuación similar al producido por la

absorción, con un perfil exponencial que sigue la ley de Beer-Lambert. La sección eficaz de dispersión (en inglés *scattering cross section*), σ_s , es el área que se ve afectada por el esparcimiento al encontrarse con la partícula en cuestión de igual forma que con la sección eficaz de absorción. Esa sección depende de la forma de la partícula, pero se asume generalmente partículas esféricas [16]. Esta sección produce una reducción de la potencia que continua tras la colisión con la partícula, dispersando la potencia que llega a la sección eficaz en múltiples direcciones (isotrópica) o una dirección principal. Un fotón que lleva una dirección \hat{s} hacia la partícula pasará por la sección eficaz de dispersión (Figura 2.4). Al colisionar con la partícula, se verá redirigido en una dirección \hat{s}' . La sección eficaz, σ_s , se ve redirigida en un ángulo θ a una nueva región Ω tras colisionar, definiendo la sección eficaz diferencial, $d\sigma_s/d\Omega$ como la distribución angular de la radiación dispersada, función de las direcciones de entrada \hat{s} para cada salida \hat{s}' .

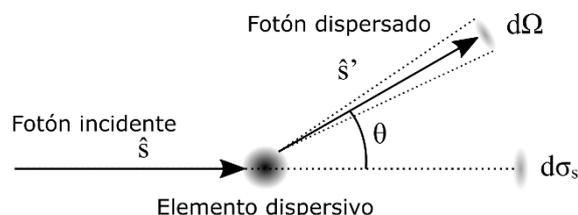


Figura 2.4. Esquema de un evento dispersivo en una partícula, produciendo un desvío de la trayectoria del fotón incidente [16], [17].

En un medio con una contribución homogénea de elementos dispersivos el coeficiente de esparcimiento viene dado por la sección eficaz de un elemento dispersivo, σ_s , y por el número de elementos dispersivos, ρ :

$$\mu_s = \rho\sigma_s \quad (2.7)$$

Cuando hay varios tipos diferentes de elementos dispersivos la sección eficaz de dispersión se suma de forma lineal, igual que ocurre también con los elementos absorbentes. Sin embargo, si la concentración de partículas es elevada se pueden formar agregaciones, reduciendo la sección de dispersión y con ella la atenuación producida por este efecto. Es lo que se llama efecto de dispersión cooperativa [17].

En el caso de la dispersión hay un factor de dirección que no está presente en el caso de la absorción. El factor de anisotropía de dispersión g se define como el coseno del ángulo de esparcimiento, θ , estando comprendido entre los casos anisotrópicos extremos: -1 , dispersión de la luz hacia el origen y $+1$, completamente hacia delante. En tejidos biológicos suele estar comprendido entre $0,69$ y $0,99$, lo que se traduce en una dirección hacia adelante con un ángulo de desviación entre aproximadamente unos 2° y unos 45° [18]. Cuando $g=0$ la difusión es isotrópica, lo que sucede en el caso de dispersión de Rayleigh. A partir del factor de anisotropía se obtiene el coeficiente de dispersión reducido, μ_s' , que expresa la componente que es retroesparcida en la dirección del haz incidente [17]:

$$\mu_s' = \mu_s(1 - g) \quad (2.8)$$

El espectro electromagnético en la región UV-VIS-NIR presenta unas longitudes de onda de unos 120 a 350 nm en el ultravioleta, de unos 350 nm a unos 750 nm en el espectro visible y de unos 750 nm a $2,5$ μm en el infrarrojo cercano. La relación de estas longitudes de onda frente al tamaño de las partículas rige el tipo de esparcimiento que se produce al durante la interacción.

Cuando el cambio de medio se produce para dimensiones muy superiores a la longitud de onda de la radiación se aplica la óptica geométrica. Cuando las partículas presentan un tamaño considerablemente menor que la longitud de onda de la luz incidente, típicamente menor que $1/10$, se produce dispersión de Rayleigh. Para las longitudes de onda de trabajo, este tipo de dispersión se produce para elementos como los orgánulos celulares y las fibras de colágeno. Este tipo de dispersión produce en general una distribución omnidireccional de la radiación (Figura 2.5). Para cada ángulo θ respecto a la dirección incidente, la distribución del esparcimiento de Rayleigh queda [16]:

$$\frac{d\sigma_s}{d\Omega}(\theta) = 8\pi^4 n_m^4 \left(\frac{n_s^2 - n_m^2}{n_s^2 + n_m^2} \right) \frac{a^6}{\lambda^4} (1 + \cos^2\theta) \quad (2.9)$$

Esta ecuación es dependiente de la longitud de onda, afectando fuertemente a bajas longitudes de onda. Para partículas de dimensiones de un orden de magnitud similar a la longitud de onda se aplica el régimen de dispersión de Mie (Figura 2.5). Este esparcimiento representa el caso general, partiendo del efecto de la partícula como un elemento dieléctrico que modifica el campo eléctrico y magnético de la radiación [19], [20], [21]. La dispersión en la región de Mie no depende tanto de la longitud de onda como en el caso particular de Rayleigh. El parámetro más relevante es el tamaño de partícula, que produce una sección efectiva de dispersión que sigue una función de Bessel. Esto implica que para partículas grandes la respuesta se estabiliza, llegando al caso se la óptica geométrica cuando esas son de un tamaño considerablemente mayor que la longitud de onda.

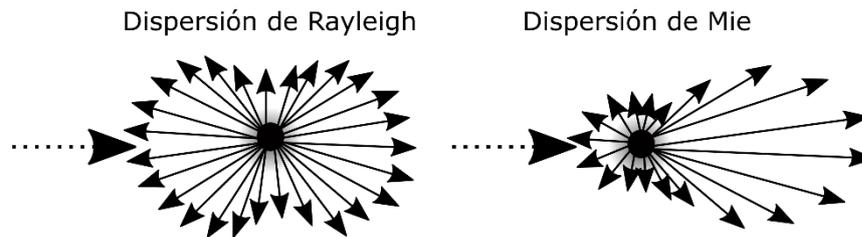


Figura 2.5. Esquema de dispersión (líneas oscuras) de Rayleigh y de Mie frente a un haz de luz incidente (línea punteada).

Junto con la dispersión elástica descrita por las expresiones de Rayleigh y Mie (Figura 2.6), en los tejidos también se producen dispersiones inelásticas o no lineales, que implican un cambio de longitud de onda, como sucede con la fluorescencia y el efecto Raman. La fluorescencia consiste en la absorción y posterior emisión a una longitud de onda de menor energía. El efecto Raman produce dos bandas espectrales a mayor y menor longitud de onda. Esto implica que el tejido absorbe radiación en diferentes estados vibracionales, absorbiendo parte de la energía en unos casos (Stokes) y entregando energía en otros (anti-Stokes). Este tipo de esparcimiento produce unos 10^6 fotones menos que el caso de Rayleigh, siendo necesarias altas potencias para estimular dicho efecto.

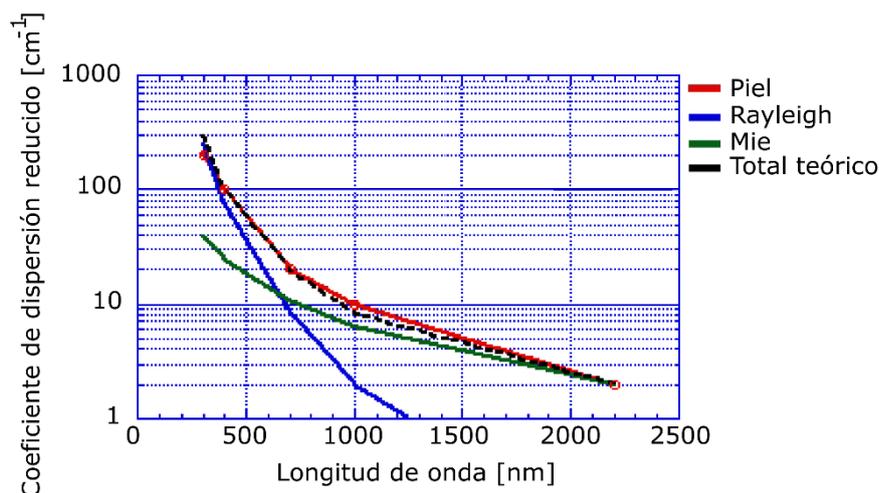


Figura 2.6. Coeficiente reducido de dispersión de la dermis medido (rojo). Se muestra el modelo aplicando la región de Mie debido a los haces de colágeno (verde) y la región de Rayleigh debido a las fibras de colágeno. La suma da la dispersión total (negro) [22].

La dispersión en tejidos tiene otro efecto indeseado que es la aparición de ruido moteado (en inglés *speckle*). Este ruido se debe a la interferencia de la radiación coherente producida al ser esta dispersada por los múltiples elementos dispersivos en el tejido. Cada elemento dispersivo produce un nuevo frente de onda, del cual parte de potencia puede llegar al receptor si no es dispersada de nuevo o absorbida en el material. Al llegar al detector, producirá una interferencia con la luz dispersada por múltiples elementos dispersivos. Esta interferencia es de carácter aleatorio al igual que la distribución de elementos dispersivos, por lo que las motas de *speckle* son igualmente aleatorias [16].

2.2.3.2 Dispersión múltiple

La ley de Beer-Lambert sólo tiene en cuenta la dispersión simple, en el caso de OCT, la dispersada hacia la fuente, hacia atrás. Sin embargo, en tejidos con alto coeficiente de dispersión y baja absorción, la luz puede ser dispersada múltiples veces debido al alto número de elementos dispersivos. Parte de estos fotones pueden ser recibidos por el detector, agregando potencia al sumatorio total. Este efecto se denomina dispersión múltiple y no sigue una respuesta exponencial modelable mediante el método de dispersión simple. En estos casos la solución analítica ha de obtenerse mediante las ecuaciones de Maxwell de campo electromagnético. La resolución analítica es de gran complejidad, necesitando conocer de forma precisa la composición y localización de los elementos en el tejido y aplicando cálculos específicos para cada interacción. Frente a este método, el modelo de transporte radiativo permite obtener una solución numérica a través de la ecuación de Boltzman que contempla el tejido como un medio uniforme con elementos dispersivos y absorbentes. Se contempla tanto el coeficiente de dispersión como el coeficiente de absorción, anisotropía e índice de refracción. En el caso de OCT se ha aplicado de forma satisfactoria el modelo de Huygens-Fresnel extendido (EHF del inglés *Extended Huygens-Fresnel*) [10].

$$\begin{aligned}
 I^2(z) &\propto e^{-2\mu_s z} + \frac{2(1-e^{-\mu_s z})e^{-2\mu_s z}}{1+\frac{w_s^2}{w_h^2}} + \frac{w_s^2}{w_h^2}(1-e^{-\mu_s z})^2 \\
 \text{con } \frac{w_s^2}{w_h^2} &= 1 + \left(\frac{2w_0}{\rho_0(z)}\right)^2 \\
 \rho_0(z) &= \sqrt{\frac{3}{\mu_s z}} \left(\frac{\lambda_0}{\pi\theta_{rms}}\right) \left(\frac{nf}{z}\right)
 \end{aligned} \tag{2.10}$$

donde los dos últimos términos en $I^2(z)$ describen la contribución de la dispersión múltiple; w_h y w_s son el radio del haz para una caída de $1/e$ con y sin dispersión respectivamente y w_0 es el radio en la lente; $\rho_0(z)$ es la longitud de coherencia lateral para cada profundidad z , siendo λ_0 la longitud de onda de la fuente; f la distancia focal de la lente y $\theta_{rms} = \sqrt{2(1-g)}$ la raíz cuadrada media del ángulo de dispersión. La dispersión múltiple depende por lo tanto de la longitud de coherencia de la fuente y de la apertura numérica de la lente, siendo menor en el punto focal. En este modelo se considera que la absorción es despreciable, lo que implica que el coeficiente de atenuación es aproximadamente igual al coeficiente de dispersión. En el caso de presentar una absorción considerable, el efecto de dispersión múltiple es despreciable. El mayor inconveniente de este modelo es que es no lineal e implica un tiempo de cálculo elevado y puede presentar problemas de convergencia [23].

En la Figura 2.7 se comparan diferentes simulaciones de la dispersión simple y múltiple en una medida OCT para un coeficiente de atenuación y apertura numérica constantes. Al variar la posición del foco, desde la superficie de la muestra (Figura 2.7 A) hacia el interior de la misma (Figura 2.7 B, C), se aprecia cómo la potencia de dispersión múltiple es mínima a la distancia focal y aumenta al alejarse de ésta. Aquí se encuentra una limitación de los sistemas OCT, ya que la limitación en profundidad no va a depender solamente de parámetros de la fuente y el detector, sino que también es dependiente de la distancia a la que la contribución de la dispersión simple y múltiple se igualan en potencia. La penetración será mayor con una apertura numérica también mayor [18]. En los sistemas OCT aplicados a la caracterización de tejidos se dan dos propiedades que permiten la captura de dispersión simple y por lo tanto la formación de imagen. La primera es que el factor de anisotropía de los tejidos suele ser mayor que 0,6, lo que implica una dispersión muy unidireccional en el sentido de propagación de la luz hacia profundidades mayores en la muestra, evitando la dispersión multicamino hacia atrás. Y en segundo lugar, que las ópticas utilizadas son de tipo confocal, sumado al efecto de medida interferométrico en OCT por el que sólo se produce una amplitud relevante cuando la distancias en el brazo de referencia y en el brazo de muestra coinciden.

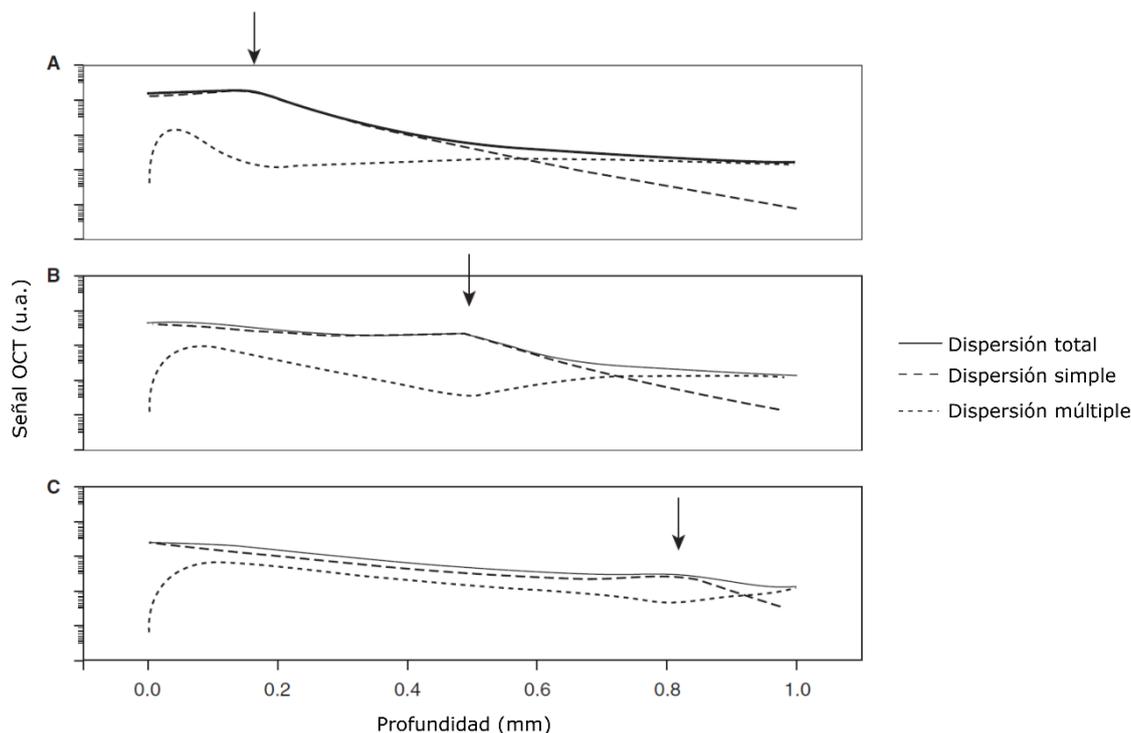


Figura 2.7. Medidas de OCT (A-scan) simuladas para tres posiciones diferentes del foco (flechas) en un medio débilmente dispersivo ($\mu_s=6 \text{ mm}^{-1}$): (A) focalizando a 0,2 mm de la superficie, (B) focalizando a 0,5 mm de la superficie, (C) focalizando a 0,8 mm de la superficie. La dispersión total (línea continua) es la suma de la dispersión simple (línea a trazos) y múltiple (línea punteada) [18].

Para tejidos con una dispersión no muy elevada ($\mu_s < 6 \text{ mm}^{-1}$) y con baja apertura numérica, el modelo de dispersión simple se ha contrastado frente al modelo de dispersión múltiple [10], concluyendo que el modelo simple es aplicable al menos para unas 6 veces la longitud libre de dispersión (que para $\mu_s=6 \text{ mm}^{-1}$, se traduce en 1 mm de penetración), o unas 4 veces la longitud libre de atenuación completa [24]. En la práctica, para penetraciones de alrededor de 1 mm en tejidos biológicos la dispersión múltiple es despreciable, y más allá, será absorbida por el tejido. Al aumentar la apertura numérica, la penetración aumenta. Se concluye por tanto que en sistemas OCT convencionales el modelo de dispersión simple produce unos resultados que reproducen fielmente el coeficiente de dispersión completo. Además, en el caso de tejidos, el ruido propio del sistema, ya sea ruido *speckle* u otros, reducen la relevancia de aplicar el modelo de dispersión múltiple, que presentará niveles de potencia inferiores al propio ruido.

2.2.4 Polarización

En general, los tejidos biológicos despolarizan la luz debido a la heterogeneidad de elementos dispersivos. Sin embargo, los tejidos altamente ordenados o alineados espacialmente tales como los tejidos tendinosos o las membranas alteran el estado de polarización de la radiación de forma homogénea. La despolarización de la luz en los tejidos ocurre por dos factores: el primero es la dispersión, que modifica la polarización debido a los múltiples elementos dispersivos. Esta adición de efectos da como resultado una polarización aleatoria. La otra causa es la birrefringencia del tejido, que presenta diferentes índices de refracción en sus diferentes ejes, lo que modifica la velocidad de la luz de forma desigual y por lo tanto se ve modificada la fase del campo eléctrico en el material.

El vector de Stokes, S , describe el estado de polarización de la luz como una función de las componentes de campo eléctrico vertical y horizontal, que en función del valor de ambos da lugar a diferentes estados de polarización. Midiendo la amplitud para 6 estados de polarización (horizontal H , lineal vertical V , circular levógira L , circular dextrógira R , lineal a $45^\circ P^+$ y lineal a $-45^\circ P^-$) se construye el vector de Stokes para el tejido [17], [25]:

$$S = \begin{bmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} H + V \\ H - V \\ P^+ + P^- \\ R - L \end{bmatrix} \quad (2.11)$$

A partir de este vector se puede caracterizar el estado de polarización de la luz antes y después de interactuar con el tejido. Se define el grado de polarización como [17], [25]:

$$DOP = \frac{\sqrt{Q^2 + V^2 + U^2}}{I} \quad (2.12)$$

que tomará valores entre 1 y 0 correspondiéndose a luz completamente polarizada y aleatoriamente polarizada respectivamente. El grado de polarización de la luz tendrá valores intermedios si contiene parte de potencia polarizada y parte despolarizada.

2.2.5 Propagación de luz en tejidos biológicos

Cuando la luz atraviesa un material, ésta se ve atenuada según la ley de Beer-Lambert, que establece que la potencia sufre una pérdida exponencial a medida que atraviesa un material:

$$I(z) = I_0 e^{-\mu_t z} \quad (2.13)$$

siendo I_0 la intensidad óptica inicial e $I(z)$ la potencia a medida que la luz penetra en el tejido una distancia z . La proporción de luz absorbida depende tanto de la longitud de onda de ésta, como de las propiedades de atenuación del material, representadas mediante el coeficiente de atenuación μ_t . La atenuación de un material es debida tanto a su absorción, μ_a , como a su esparcimiento, μ_s .

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (2.14)$$

Los coeficientes anteriores son la inversa de sus respectivas distancias medias entre eventos, ya sea de atenuación, absorción o esparcimiento. Por esta razón, las unidades de μ_t , μ_a y μ_s se expresan en mm^{-1} . Tanto el coeficiente de absorción como el de esparcimiento dependen de la densidad volumétrica de elementos de absorción (ρ_a [mm^{-3}]) o esparcimiento (ρ_s [mm^{-3}]) y de la sección efectiva de material que atraviesa la luz (σ_a [mm^2] y σ_s [mm^2] respectivamente):

$$\begin{aligned} \mu_a &= \rho_a \sigma_a \\ \mu_s &= \rho_s \sigma_s \end{aligned} \quad (2.15)$$

La tomografía de coherencia óptica se basa en capturar la intensidad retroesparcida y, por tanto, se beneficia coeficiente de esparcimiento, cuantificando la parte que es enviada de vuelta al receptor. Para minimizar la absorción del tejido, se selecciona la longitud de onda de trabajo en la región del espectro donde dicho material presente una absorción despreciable, trabajando por tanto en el llamado régimen de difusión. De esta forma, el coeficiente de atenuación será prácticamente igual al de esparcimiento. Puesto que se mide la intensidad retro-esparcida, el camino óptico en el interior de la muestra se recorre dos veces:

$$I(z) \propto e^{-2\mu_s z} \quad (2.16)$$

siendo esta expresión anterior una aproximación para esparcimiento simple tal y como se ha visto en la Sección 2.2.3.

La atenuación en tejidos limita la penetración debido a la suma de eventos dispersivos y de absorción a medida que la luz penetra en el tejido. Se define camino libre en el medio, l_t , (en inglés MPF *Mean Free Path*) como la distancia media entre dos eventos de absorción o dispersión [17]:

$$l_t = \frac{1}{\mu_t} = \frac{1}{\mu_s + \mu_a} \quad (2.17)$$

que, en tejidos, debido a la elevada dispersión y una absorción despreciable se reduce a distancia entre eventos dispersivos, la llamada distancia libre de dispersión (l_s):

$$l_t \approx l_s = \frac{1}{\mu_s} \quad (2.18)$$

Para penetraciones inferiores la propagación se puede considerar balística puesto que en media no habrá elementos dispersivos que modifiquen la dirección de los fotones. Cuando la luz penetra en el tejido y se acumulan eventos dispersivos o de absorción, la propagación de los fotones se vuelve difusa, y dependiente del factor de anisotropía. Se define la longitud de transporte o camino de transporte libre medio (TMFP, del inglés *Transport Mean Free Path*) como la distancia a la cual la dispersión de los fotones sigue una dirección aleatoria [17]

$$l_T = \frac{1}{\mu'_s + \mu_a} \approx \frac{1}{\mu'_s} = \frac{l_t}{1-g} \quad (2.19)$$

Pese a que la absorción se considera en muchos casos despreciable en cuanto a la penetración en el tejido, ésta participa en la conformación del espectro de atenuación. La dispersión sigue una caída exponencial a medida que crece la longitud de onda, mientras que la absorción no depende del tamaño de las partículas sino de los niveles de energía que absorben las moléculas y por tanto es la que produce una curva característica de cada material. Es común utilizar el coeficiente de atenuación efectiva como la inversa de la distancia de difusión, que supone la distancia media a la cual los fotones son absorbidos en un material altamente difusivo:

$$\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)} \quad (2.20)$$

En la Figura 2.8 se muestra un ejemplo de la respuesta en absorción y esparcimiento de sangre diluida. La combinación de ambos efectos produce una curva dominada por dispersión en la región de bajas longitudes de onda, donde la dispersión de Rayleigh es mayor, y dominada por absorción una vez se sobrepasa la ventana terapéutica, por encima de 1.400 nm.

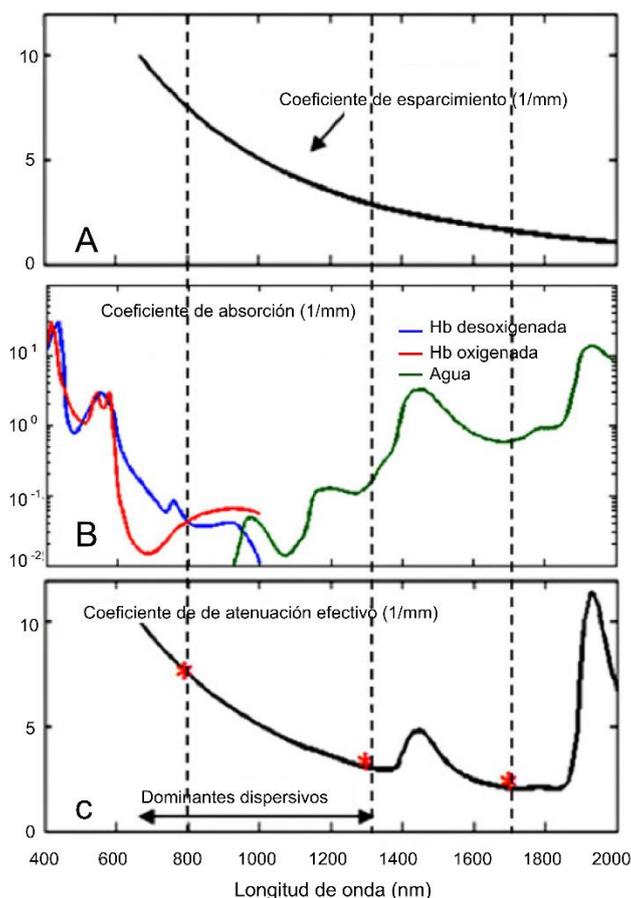


Figura 2.8. Coeficientes de absorción y esparcimiento de la sangre y su combinación. (A) Coeficiente de esparcimiento de la sangre simulado según la teoría de Mie. (B) Coeficiente de absorción de sangre diluida aproximadamente al 10%. (C) Coeficiente de atenuación efectiva de la sangre [3].

La Tabla 2.2 recopila los parámetros descritos, publicados en literatura, para algunos tejidos analizados en esta tesis. La variabilidad de un mismo parámetro es elevada, además de ser altamente dependiente del sistema de medida.

	$\lambda(\text{nm})$	$\mu_s(\text{cm}^{-1})$	$\mu_a(\text{cm}^{-1})$	$\mu_s(\text{cm}^{-1})$	$\mu_s(\text{cm}^{-1})$	g	$\mu_{\text{eff}}(\text{cm}^{-1})$	método de medida
<i>Aorta normal</i>	1320	235	2,2-4-3	233	17,8-23,3	0,9	13	Esfera integradora
<i>Aorta con aterosclerosis</i>	1300	32						OCT
<i>Lípidos en aorta</i>	1300	23						OCT
<i>Aorta, capa media</i>	1300	67						OCT
<i>Aorta calcificada</i>	1300	260						OCT
<i>Cartilago</i>	1064		0,34		2,6		1,7	Esfera integradora
<i>Piel normal</i>	700		0,38		28,7		5,8	Reflectometría y modelo de Monte-Carlo
<i>Dermis cerdo</i>	1300				10		8,1	OCT

Tabla 2.2. Propiedades ópticas de algunos de los tejidos analizados en esta tesis[18]

Bibliografía

- [1] J. D. Bronzino, Ed., *The Biomedical Engineering Handbook*, 3 rd. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006.
- [2] D. A. Yushchenko y C. Schultz, «Tissue clearing for optical anatomy», *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 52, n.º 42, pp. 10949-10951, 2013.
- [3] K. Wang, N. G. Horton, K. Charan, y C. Xu, «Advanced fiber soliton sources for nonlinear deep tissue imaging in biophotonics», *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, vol. 20, n.º 2, 2014.
- [4] S. Manohar, A. van Apeldoorn y W. Steenbergen, «Photoacoustic imaging: Cells make themselves heard.», *Nat. Photonics*, vol. 9, n.º 4, pp. 216-218, 2015.
- [5] B. W. Pogue, «High-Resolution In Vivo Molecular Imaging», *Opt. Photonics News*, vol. 2986, n.º December, p. 37, 2016.
- [6] V. Ntziachristos, «Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology.», *Nat. Methods*, vol. 7, n.º 8, pp. 603-614, 2010.
- [7] R. Erni, M. D. Rossell, C. Kisielowski, y U. Dahmen, «Atomic-resolution imaging with a sub-50-pm electron probe», *Phys. Rev. Lett.*, vol. 102, n.º 9, pp. 1-4, 2009.
- [8] B. W. Pogue, S. C. Davis, X. Song, B. a Brooksby, H. Dehghani, y K. D. Paulsen, «Image analysis methods for diffuse optical tomography.», *J. Biomed. Opt.*, vol. 11, n.º 3, pp. 33001-16, 2006.
- [9] T. Durduran, R. Choe, W. B. Baker, y A. G. Yodh, «Diffuse optics for tissue monitoring and tomography», *Reports Prog. Phys.*, vol. 73, n.º 7, pp. 1-43, 2010.
- [10] D. J. Faber, F. J. van der Meer, M. C. G. Aalders, y T. G. van Leeuwen, «Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography», *Opt. Express*, vol. 12, n.º 19, pp. 4353-4365, 2004.
- [11] E. Betzig, S. W. Hell, y W. E. Moerner, *Surpassing the limitations of the light microscope. (Nobel Prize in Chemistry)*. 2014.
- [12] M. Xu y L. V. Wang, «Photoacoustic imaging in biomedicine», *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 77, n.º 4, pp. 1-22, 2006.
- [13] C. Kim, T. N. Erpelding, L. Jankovic, M. D. Pashley y L. V Wang, «Deeply penetrating in vivo photoacoustic imaging using a clinical ultrasound array system.», *Biomed. Opt. Express*, vol. 1, n.º 1, pp. 278-284, 2010.
- [14] L. A. Jarvis *et al.*, «Cherenkov video imaging allows for the first visualization of radiation therapy in real time», *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 89, n.º 3, pp. 615-622, 2014.
- [15] R. Zhang *et al.*, «Cherenkov-excited luminescence scanned imaging», *Opt. Lett.*, vol. 40, n.º 5, pp. 827-830, 2015.
- [16] T. Vo-Dinh, Ed., *Biomedical Photonics Handbook*. Boca Raton: CRC Press, 2003.
- [17] V. Tuchin, *Tissue Optics. Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*, 2 nd. Bellingham, Washington: SPIE Press, 2007.
- [18] E. Regar, T. G. van Leeuwen y P. W. Serruys, Eds., *Optical Coherence Tomography in Cardiovascular Research*, 1 st. Abingdon: informa healthcare, 2007.
- [19] P. Gliwa, «The Light Scattering and Fast Mie Algorithm», *eprint arXiv:physics/0104003*, pp. 1-11, 2001.
- [20] M. Born y E. Wolf, *Principles of Optics*, 7 th. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.
- [21] S. Prael, «Mie scattering», *Oregon Medical Laser Center*. 2012.
- [22] S. L. Jacques, «Skin Optics», *Oregon Medical Laser Center*, 1998. [En línea]. Disponible en: <http://omlc.org/news/jan98/skinoptics.html>.
- [23] D. Levitz, «Measuring optical properties of engineered tissues using optical coherence tomography», tesis doctoral, Oregon Health & Science University, 2010.
- [24] D. J. Faber, «Functional optical coherence tomography : spatially resolved measurements of optical properties», tesis doctoral, University of Amsterdam, 2005.
- [25] N. R. David A. Boas, Constantinos Pitris, *Handbook of Biomedical Optics*. CRC Press, 2011.

Capítulo 3

Anatomía y patología

3.1 Arteria aorta y aneurisma	31
3.1.1 Anatomía e histología de la aorta	31
3.1.2 Patologías de la arteria aorta: aneurisma de aorta torácica	33
3.1.3 Herramientas de diagnóstico	35
4.1.2.1 Criterios de decisión	35
4.1.2.2 Técnicas de diagnóstico	37
4.1.2.3 Técnicas histológicas	39
3.1.4 Tratamiento	41
3.2 Válvula mitral degenerativa	42
3.2.1 Anatomía e histología de la válvula y las cuerdas mitrales	42
3.2.2 Patología de la válvula mitral: válvula degenerativa	45
3.2.3 Diagnóstico y tratamiento	47
3.3 Piel y el melanoma	49
3.3.1 Anatomía de la piel	49
3.3.2 Melanoma y otros cánceres de piel	50
3.3.3 Diagnóstico y tratamiento del melanoma	52
Bibliografía	54

El desarrollo de una patología en órganos o tejidos conlleva la modificación de sus propiedades físicas y químicas. En general, la morfología de los tejidos se altera notablemente en caso de padecer una patología. Además, el tejido experimenta una evolución característica con el tiempo que, en cierto modo, puede ser predecible. Conocer los mecanismos de degradación y las propiedades de los tejidos en casos de tejido sano y degradado es esencial de cara a poder aplicar nuevas técnicas de caracterización y diagnóstico. De esta forma, se pueden desarrollar herramientas diagnósticas adaptando las técnicas fotónicas para aprovechar los fenómenos de interacción que se producen en los tejidos. En este capítulo se expone brevemente tanto la anatomía y fisiología de los tejidos tratados, así como la patología más común y sus mecanismos de aparición y evolución. Las técnicas ópticas y procesados posteriores han de producir información diagnóstica en concordancia con la degradación expuesta en este capítulo.

3.1 Arteria aorta y aneurisma

3.1.1 Anatomía e histología de la aorta

La arteria aorta es la principal arteria del cuerpo humano. Su función es el transporte y distribución de sangre oxigenada desde el corazón hasta el resto de vasos principales del sistema circulatorio. Estos a su vez bifurcan progresivamente en arterias de menor calibre, hasta llegar a los músculos

y órganos del cuerpo [1]. El origen de la aorta se encuentra en el ventrículo izquierdo del corazón, separada de éste por la válvula aórtica. Durante el ciclo cardiaco, la aurícula izquierda recibe sangre oxigenada desde los pulmones. Cuando el ventrículo izquierdo está vacío y relajado (diástole), la válvula mitral se abre y deja pasar la sangre al ventrículo. En el siguiente paso, la sangre es expulsada del ventrículo mediante una contracción muscular (sístole). La sangre sale hacia la arteria aorta a través de la válvula aórtica, que se cerrará tras la sístole, impidiendo el retorno sanguíneo al corazón.

La aorta pertenece a la familia de las arterias de gran calibre o elásticas, que se encargan de la distribución de sangre hasta los vasos menores. La característica de elasticidad es especialmente necesaria en la aorta ya que ha de absorber el flujo pulsátil, disminuyendo la diferencia de presión de esas ráfagas y proporcionando un flujo uniforme para su distribución. A nivel anatómico, esta arteria se divide en diferentes regiones a lo largo de su recorrido (Figura 3.1). Estas divisiones no sólo se deben a su localización, sino que también conllevan diferencias en su composición y estructura, al igual que en su función. La región ascendente y el arco aórtico presentan una elasticidad superior debido a que deben soportar importantes diferencias de presión durante el ciclo de bombeo. A medida que se desciende hacia el abdomen, la aorta es menos elástica y más estrecha puesto que el flujo y la presión no son tan intensos como en la zona próxima al corazón.

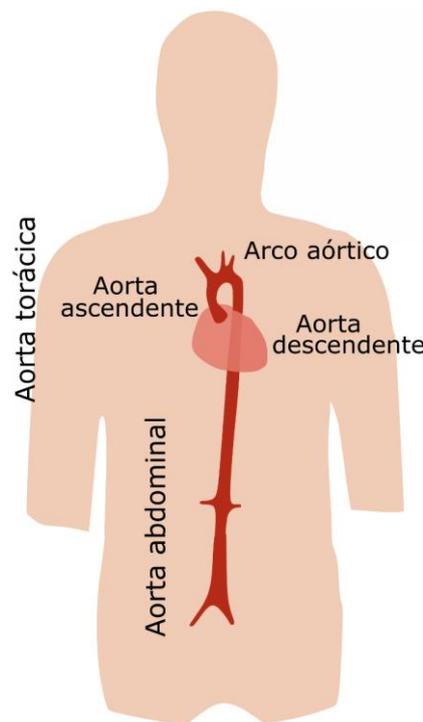


Figura 3.1 Anatomía básica de la aorta. Se divide en abdominal y torácica. La región torácica se divide a su vez en regiones ascendente, arco aórtico y descendente.

La pared de los diferentes tipos de arterias sigue una estructura similar, aunque hay variaciones muy significativas en cuanto a su grosor y la distribución de sus elementos constituyentes [2]. La pared arterial se puede dividir en tres capas o *túnicas* llamadas íntima, media y adventicia, que abarcan desde la luz de la arteria hacia el exterior de esta respectivamente (Figura 3.2).

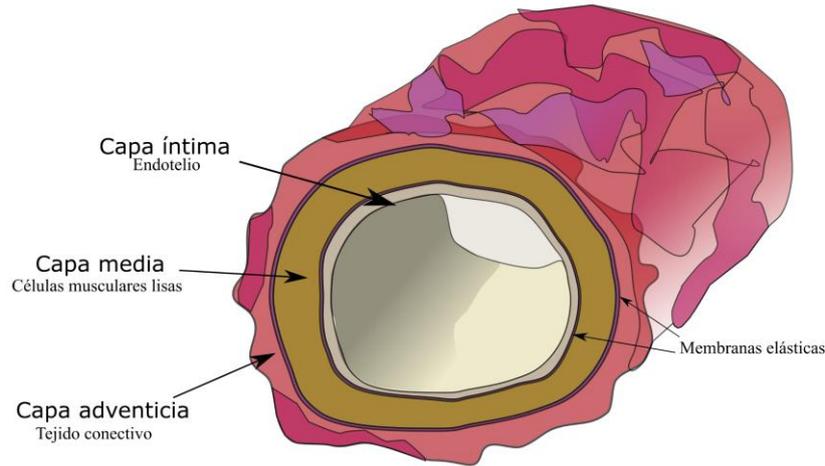


Figura 3.2 Esquema de la pared arterial. Se distinguen las capas o túnicas íntima, media y adventicia. Entre capa y capa se encuentra una membrana elástica.

La capa íntima es una capa fina y está formada por células endoteliales. En el caso de las arterias elásticas esta capa es más gruesa. Entre la capa íntima y la media se encuentra una membrana elástica que hace de unión.

La capa media está formada por una estructura de unas cincuenta membranas elásticas fenestradas, o unidades o capas lamelares, compuestas de fibras elásticas que sirven de soporte para las células musculares lisas. También hay abundancia de fibras de colágeno y proteoglicanos ácidos, que actúan de relleno. Las células musculares lisas son el componente esencial de la capa media y en el caso de las arterias elásticas contiene una mayor proporción de elastina que otras arterias.

La capa adventicia envuelve a la capa media conteniendo una membrana elástica entre ambas al igual que sucede con la íntima. En las arterias elásticas es una capa delgada en relación con la media y está formada por tejido conectivo, mayormente fibras de colágeno. La capa adventicia contiene también vasos linfáticos y los llamados *vasa vasorum*, vasos que alimentan a la propia pared arterial. Estos vasos penetran y alimentan la parte externa de la capa media ya que, debido a su grosor, no es posible alimentar a todas sus células por el método de difusión desde la luz arterial.

3.1.2 Patologías de la arteria aorta: aneurisma de aorta torácica

La anatomía de la aorta es variada y también lo son su patología y su tratamiento. El aneurisma aórtico es una dilatación anormalmente grande de este vaso en una región localizada. Se puede considerar que el diámetro es anómalo cuando su valor supera 1,5 veces el diámetro normal [3] que ronda los 3 cm. El llamado aneurisma verdadero afecta a las tres capas de la arteria, íntima, media y adventicia, mientras que los falsos aneurismas o pseudo-aneurismas se deben a una perforación en la capa íntima, afectando a la media. Estos últimos no conllevan un peligro inminente de rotura puesto que no se ve afectada la totalidad de la pared, pero también han de ser tratados. Los aneurismas se pueden caracterizar según su forma en fusiforme o sacular (Figura 3.3). El primero afecta a toda la circunferencia de la aorta mientras que el segundo está focalizado

en una sola orientación. El tipo sacular es común en la aorta descendente y abdominal, mientras que el tipo fusiforme es común en la aorta ascendente. En ambos casos, las causas son similares: deterioro de la pared arterial, afectando principalmente a las células musculares de la capa media. Esto debilita la pared y hace ceder ante la presión sanguínea. La forma y orientación del aneurisma varía según la presión recibida en cada sección de la aorta.

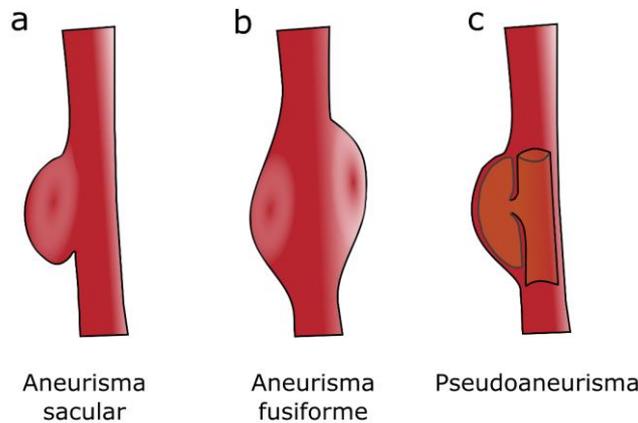


Figura 3.3. Tipos de aneurisma: (a) sacular, (b) fusiforme y (c) pseudo-aneurisma. El pseudo-aneurisma produce flujo sanguíneo por el interior de la pared arterial.

Más allá de la forma que presentan, los aneurismas de aorta se dividen según la región donde se localicen, siendo completamente diferente la evolución de la patología. Así, se subdividen en tres tipos: aneurisma de la aorta torácica (AAT), aneurisma de la aorta abdominal (AAA) y aneurisma toraco-abdominal (ATA). Para cada uno de los tipos la afección, su desencadenante, predisposición y tratamiento son diferentes y se abordan de distinta manera.

Los aneurismas de la aorta torácica son aquéllos que se producen desde el comienzo en la válvula aórtica hasta el diafragma, siendo más frecuente el de la aorta ascendente, justo por encima de la válvula aórtica. Las causas y factores de riesgo son variadas, entre los que se encuentra la válvula aórtica bicúspide, hipertensión, edad avanzada, aterosclerosis, disección aórtica, infecciones, los diferentes síndromes que afectan al tejido conectivo como Marfan, Turner y Ehlers-Danlos y otros factores congénitos. Todas ellas conllevan la degeneración de la capa media, desencadenando en lo que se conoce como necrosis quística de dicha capa. Esta afección consiste en la pérdida de células musculares lisas y también de fibras de elastina, dejando huecos libres que son rellenos por una sustancia basal. Esto causa el debilitamiento de la pared y por tanto puede desencadenar en la aparición del aneurisma y la disección aórtica.

Los AAT tiene una incidencia de entre 5,9 y 10,4 pacientes por 100.000 personas y año [3], afectando mayormente a una población de más de sesenta años en hombres y setenta años en mujeres. La tasa de rotura y mortalidad se relaciona en la actualidad con el diámetro del vaso. El porcentaje de rotura o disección para diámetros menores de 4 cm es del 3% por año y del 6,9% por año para 6 cm. La tasa de mortalidad ronda el 11,8% por año (más elevada en mujeres) y un 25% fallecen debido a otros problemas cardiovasculares. Los síntomas, cuando se presentan, suelen ser dolor en la espalda o el pecho debido a la dilatación de la arteria y la compresión dentro de la caja torácica.

Los aneurismas de la aorta abdominal son los producidos desde el diafragma hasta la bifurcación en las arterias ilíacas. En esta región, los aneurismas se concentran en la zona inferior

a los riñones. Las causas de aneurisma abdominal son de tipo degenerativo asociados a la edad y la aterosclerosis. También influyen la hipertensión, diabetes y el tabaquismo, este último como principal factor de riesgo. Los síndromes de Marfan y Ehlers-Danlos influyen en menor medida que en el caso del AAT. El desarrollo de la patología en esta región se debe igualmente a un deterioro de la pared arterial, que conlleva una remodelación de la estructura de la pared y esto a su vez una debilidad y dilatación del vaso.

La incidencia del AAA es mayor que el caso de AAT, con unos valores de 4,3% a 8,9% en hombres y 1,0% a 2,2% en mujeres [3] según estudios en pacientes asintomáticos. La tasa de rotura de este tipo de aneurisma es más elevada que en el caso de AAT, en parte debido a que el paciente no sufre síntomas tan pronunciados. La tasa de rotura para un diámetro menor de 5 cm es del 2,5%, 9,4% para 5,5 a 5,9 cm y se eleva hasta el 32,5% para diámetros de 7 cm. En mujeres, el riesgo de rotura es 4,5 veces mayor que en hombres, aunque su incidencia sea menor. El AAA conlleva una mortalidad asociada más elevada que el AAT, siendo cercana al 50%. Además, se estima que el 25% de los pacientes que sufren una rotura fallecen incluso antes de llegar al hospital [3].

La debilidad de la pared arterial es la causa de la aparición del aneurisma. De igual forma es la causa de otras afecciones arteriales asociadas que tienen el mismo origen. Así, se puede enumerar la disección aórtica, hematoma intramural, úlcera aterosclerótica y enfermedad aterosclerótica. En caso del aneurisma, la degradación comienza en la propia capa media, no mostrando signos de deterioro exteriores más allá de la dilatación del vaso. Sin embargo, en estas patologías la degradación comienza en la capa íntima y avanza paulatinamente hacia la capa media. Esto conlleva la entrada de sangre en el interior de la pared, debilitando progresivamente el tejido por su exposición al flujo sanguíneo.

Aunque con diferente origen, tanto el aneurisma como las otras patologías mencionadas conllevan una degradación gradual del vaso arterial, que puede derivar en un síndrome aórtico agudo (SAA), consistente en una disección o la rotura de la arteria, produciendo una hemorragia interna que puede causar la muerte del paciente en cuestión de pocos minutos. Los casos de disección aórtica (rotura de la íntima y entrada de sangre en la media) tienen una mortalidad del 57% si no se opera en seis meses, 61% al año, 67% a cinco años y 73% en diez años [4]. El hematoma intramural (afección en la media sin rotura previa de la íntima) tiene una mortalidad de entre un 46% (abdominal) y un 71% (ascendente y arco aórtico) el primer mes [4]. La detección y por tanto el tratamiento de estas afecciones es vital. Por este motivo y en vista de las estadísticas de fallecimiento, el diagnóstico precoz y la reparación quirúrgica son esenciales para salvar la vida del paciente.

3.1.3 Herramientas de diagnóstico

3.1.3.1 Criterios de decisión

Las patologías de la aorta son en muchos casos asintomáticas, lo que hace complejo su diagnóstico sin las herramientas adecuadas. Desde la placa de ateroma más sencilla hasta el momento en que se produce la disección de la arteria, el paciente puede no presentar ningún síntoma. El factor más relevante a la hora de diagnosticar el aneurisma es la medición del diámetro y su comparación

tanto con el resto de la arteria, como con los valores umbrales establecidos por el servicio de cardiología o cirugía cardiovascular de cada hospital.

Si bien la causa del aneurisma está en la degradación de la pared arterial, el aneurisma en sí consiste en la dilatación del vaso. Debido a las peculiaridades de las técnicas de diagnóstico, las afecciones que no presentan una dilatación considerable no se pueden detectar con las técnicas convencionales hasta que se encuentran en un estado avanzado y se hacen visibles, lo cual no siempre sucede antes de la rotura del vaso. Los indicativos actuales de una posible patología de la aorta en estos casos se dan por otras vías, como afecciones de válvula aórtica, soplos o pruebas médicas que indiquen un malfuncionamiento de algún órgano del sistema cardiovascular. Estos son por tanto casos de gravedad y además de difícil diagnóstico. Son especialmente difíciles los casos de pacientes que padecen el síndrome de Marfan o el síndrome de Ehlers-Danlos, los cuales están considerados como factores de riesgo ya que son susceptibles de sufrir estas patologías y afecciones de la pared arterial de forma oculta.

En el caso de pacientes sanos, el diámetro de la arteria se sitúa en torno a 3 cm para la aorta ascendente, 2,5 cm en la aorta torácica descendente y 2 cm en la aorta abdominal [2], aunque existe una alta dependencia de este factor con la edad, el tamaño corporal del paciente y su sexo (Tabla 3.1). Los diámetros relevantes a medir en esta región se refieren a la unión de la aorta ascendente con el corazón y medidas en diferentes puntos: senos de Valsalva, unión sinotubular y aorta ascendente media (Figura 3.4).

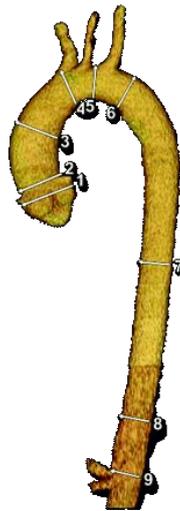


Figura 3.4. Puntos típicos de medida del diámetro en la aorta. 1. Senos de Valsalva. 2. Unión sinotubular. 3. Aorta ascendente media. 4. Arco torácico proximal. 5. Arco torácico medio. 6. Aorta descendente proximal. 7. Aorta descendente media. 8. Aorta en el diafragma. 9. Aorta abdominal en el origen del tronco celíaco [5].

Zona	Hombres			Mujeres		
	20-40 años	40-60 años	>60 años	20-40 años	40-60 años	>60 años
TA1 (2)	3,4	3,6	3,9	3,3	3,7	3,5
TA2 (3)	3,2	3,6	3,8	2,8	3,4	3,6
TD1 (6)	2,2	2,6	3,1	2,0	2,6	2,8
TD2 (7)	2,2	2,3	2,9	1,9	2,4	2,6
AI (8)	2,1	2,4	2,9	1,8	2,4	2,4

Tabla 3.1. Valores normales de diámetros de aorta en centímetros. Los valores se corresponden de arriba hacia abajo con dos puntos de medida en la aorta ascendente (TA1, TA2), dos en la aorta descendente (TD1, TD2) y uno en la abdominal (A1). Entre paréntesis se muestra la posición en la Figura 3.4 [4], [5].

Los criterios de intervención quirúrgica se basan en la actualidad tanto en el diámetro como en su tasa de crecimiento anual (Tabla 3.2) y son establecidos por cada unidad de intervención hospitalaria. Además, se tienen en consideración otros aspectos médicos del tipo de la morfología del aneurisma, historia del paciente y probabilidades de mortalidad debidas a la propia cirugía frente a las de la patología.

Región	Valor límite
<i>Torácica ascendente</i>	≥ 5,5 – 6cm
<i>Torácica ascendente y alto riesgo (marfan, válvula bicúspide, tasa expansión)</i>	≥ 5cm
<i>Torácica ascendente en momento de intervención de válvula bicúspide</i>	≥ 4cm
<i>Torácica descendente</i>	≥ 6,5 – 7cm
<i>Torácica descendente con disección o síndrome de marfan</i>	≥ 6cm
<i>Toraco-abdominal</i>	≥ 5,5 – 6cm
<i>Abdominal</i>	≥ 5,5cm o expansión >1cm/año
<i>Abdominal en mujeres</i>	≥ 4,5 – 5cm

Tabla 3.2. Diámetros límite para la intervención quirúrgica [3].

La velocidad de crecimiento del diámetro del vaso se caracteriza también para las diferentes zonas de la arteria. Los aneurismas situados en la región de la aorta torácica presentan una velocidad de crecimiento media de 0,42 cm/año, en la región abdominal de 0,28 cm/año y en la región del arco aórtico de 0,56 cm/año [4]. Estas cifras son relevantes puesto que un paciente sin gravedad puede tener una gran dilatación en el periodo de uno a dos años. Además, cuanto mayor es el aneurisma, más rápido es su crecimiento, empeorando considerablemente la salud del paciente.

3.1.3.2 Técnicas de diagnóstico

El primer elemento de diagnóstico suelen ser los síntomas que describe el propio paciente. Un síntoma típico de aneurisma suele ser un dolor en la espalda o zona abdominal debido al aneurisma torácico o abdominal respectivamente. También se puede producir entumecimiento de alguna región del cuerpo, aparte de otros síntomas inespecíficos y comunes con otras afecciones de tipo cardiovascular, como pueden ser mareos, sudoraciones, frecuencia cardíaca alterada, etc. El siguiente paso consiste en aplicar técnicas de interrogación o de diagnóstico para ver con exactitud cuál es la causa de los síntomas detectados. Las principales herramientas son las técnicas no invasivas de imagen comunes en el área cardiovascular como son la resonancia magnética, la

tomografía computarizada y los ultrasonidos por ecografía transtorácica o ecografía transesofágica (Figura 3.5).

La resonancia magnética (RM) funciona creando un campo magnético que hará que algunos núcleos de hidrógeno se ordenen según una orientación específica. Al aplicar una señal de radiofrecuencia, estos núcleos modifican la señal recibida y esta es captada por antenas receptoras. Esta técnica en principio es inocua, aunque hay una variante aplicando un elemento de contraste de forma intravenosa que puede ofrecer mejor calidad de imagen.

La tomografía computarizada (TC, TAC o escáner) se basa en hacer sucesivas medidas con rayos-X en diferentes secciones, de forma que al unir estas secciones, se tiene una imagen tridimensional o cortes en dos dimensiones de la zona medida. El principal inconveniente de esta técnica es que emite radiación ionizante, equivalente a varias radiografías convencionales, decenas o centenas en función de la zona a medir. Además, las técnicas de rayos X necesitan el uso de un contraste intravascular para resaltar las arterias (angiografía). La principal ventaja es su alta resolución, calidad de imagen y precisión de las medidas.

Los ultrasonidos se dividen en los dos tipos mencionados: *ecografía transtorácica* (ETT) y *ecografía transesofágica* (ETE). En el primer caso, el sistema emisor/receptor se pone en contacto con el tórax y se mide la alteración de la señal de ultrasonidos enviada y recibida. La segunda, ETE, consiste en introducir el emisor/receptor por el esófago, de forma que se tiene una mejor definición de la aorta. El problema de este método es que es invasivo y el paciente necesita sedación.

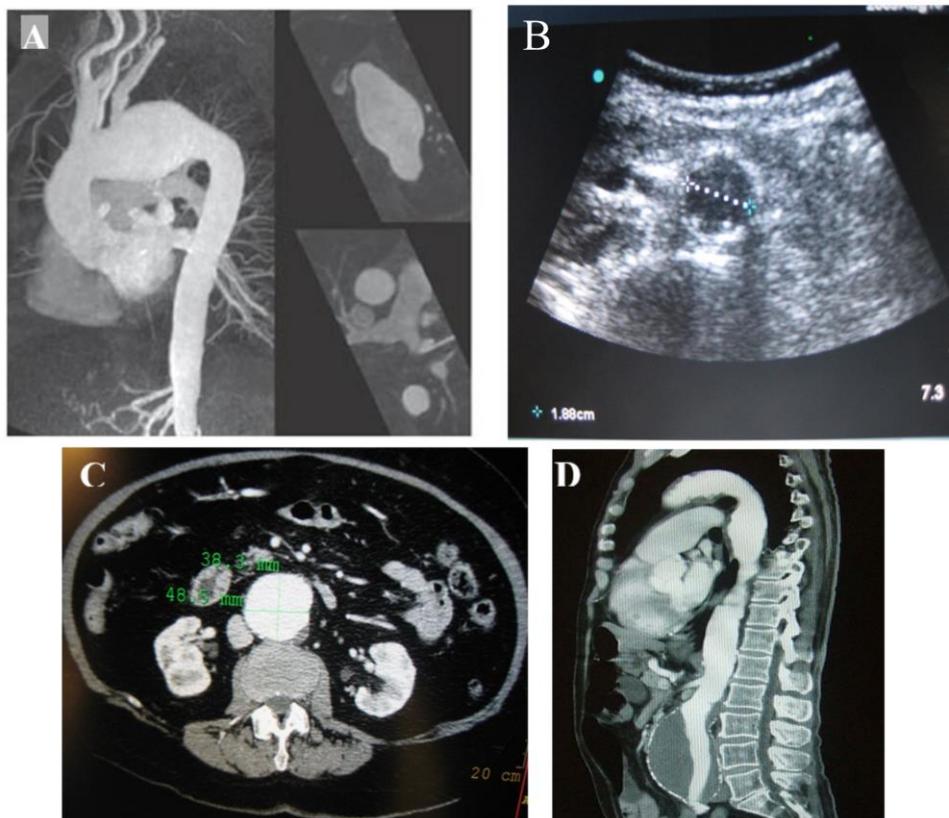


Figura 3.5. Diagnóstico de aneurismas: (A) resonancia magnética (RM) de aneurisma de arco aórtico [6],[7]; (B) ecografía transtorácica (ETT) de aorta normal [7]; (C, D) tomografía computarizada (TC) de dos aneurismas de aorta abdominal vistos desde dos ejes [7].

El uso de uno u otro método depende de la certeza de que pueda haber un problema en la región, de la disponibilidad del equipo y de la conveniencia de someter al paciente a una u otra prueba. En cada unidad de cardiología o de cirugía cardiovascular se suele establecer un protocolo, tanto para el diagnóstico inicial como para el seguimiento de la patología o de la recuperación tras una intervención quirúrgica. Atendiendo solamente a un criterio de calidad de la información obtenida, se ordenarían en primer lugar el escáner, después la resonancia, ecografía transesofágica y finalmente ecografía transtorácica.

En el caso de AAA, la ecografía convencional permite ver la aorta de forma adecuada (Figura 3.5 A). Este método es el más inocuo, rápido y disponible de todos los mencionados. En el caso de la AAT, el método de ecografía convencional no permite ver de forma adecuada la aorta torácica. Es más común en estos casos usar la resonancia magnética o el escáner. La ecografía transesofágica también proporciona una visión adecuada de prácticamente la totalidad de la aorta.

Tras una intervención quirúrgica se requiere un seguimiento periódico. Este procedimiento depende del cirujano y la unidad de tratamiento, pero en general se suele realizar un TC a los pocos meses y en el resto de revisiones se toman medidas de resonancia o ecografía salvo que se detecte alguna anomalía.

3.1.3.3 Técnicas histológicas

Las técnicas histológicas permiten ver la composición de un tejido a nivel celular tras ser biopsiado. En el caso del tejido de la aorta, permite ver su pared al completo, incluyendo núcleos celulares y fibras elásticas. Estas técnicas se basan en el uso de diferentes tinciones, que se fijan a los distintos elementos de los tejidos. El elemento fijador se utiliza para dar consistencia y rigidez, lo que facilita el corte en finas láminas para ser observadas al microscopio. Estas técnicas permiten obtener parámetros como grosor de las capas, recuento de elementos (células, membranas, fibras elásticas, etc.) y ver la estructura celular al detalle, lo cual no se puede obtener mediante las técnicas de diagnóstico mencionadas anteriormente.

El uso de diferentes tinciones busca remarcar la presencia de diferentes elementos o estructuras, como pueden ser en el caso de la pared arterial las células musculares lisas, la elastina y colágeno, como elementos principales de esta arteria y causantes del debilitamiento de la pared. Una técnica de tinción muy común es la unión de hematoxilina y eosina (H&E). La primera permite ver los núcleos celulares que en el caso de la aorta se encuentran solamente en las células musculares lisas. La eosina remarca el tejido conectivo de la arteria: elastina y colágeno [8]. La ventaja de esta técnica es que permite ver con una sola tinción tanto las células musculares como las fibras elásticas que son las partes más relevantes en el estado de la capa media de la aorta (Figura 3.6 D). La técnica azul alcian (en inglés AB, *Alcian Blue*) se utiliza para remarcar elementos de tipo ácido, como son los mucopolisacáridos ácidos o quistes, que rellenan los huecos de la capa media en ausencia de células musculares y elastina (Figura 3.6 C). La tinción de Verhoeff-Van Gieson (VVG) se utiliza para remarcar las fibras elásticas y también el colágeno (Figura 3.6 A). La técnica de la actina alfa del músculo liso (en inglés ASMA, *Alpha-Smooth Muscle Actin*) es otro método de tinción que se fija en la actina alfa localizada en las células musculares lisas. Esta técnica permite ver la ordenación y estructura de las células musculares como principal elemento de la capa media en la aorta (Figura 3.6 B).

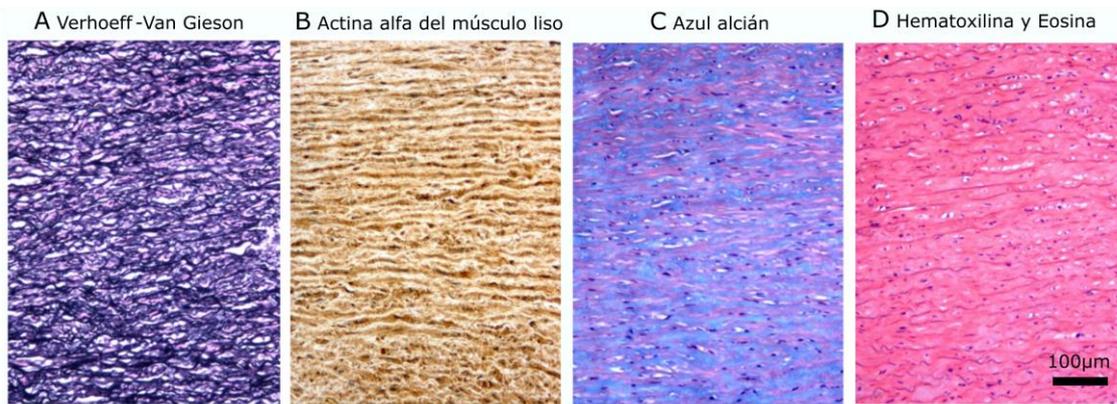


Figura 3.6. Técnicas de tinción utilizadas sobre la capa media de la aorta: (A) VVG, colágeno en rosa y fibras elásticas en negro; (B) ASMA, afecta a la membrana celular y citoplasma; (C) AB, células musculares en rosa, núcleos en azul oscuro y elementos ácidos o quistes en azul; (D) H&E, núcleos celulares en azul, citoplasma (resto de la célula muscular) en rosa y fibras elásticas en rosa oscuro.

En el caso del aneurisma y la degradación de la pared, existe un método semi-cuantitativo para la estimación de la degradación [9]. Este método cuantifica el tamaño de la degradación en cinco parámetros: fibrosis, necrosis, cambio quístico, fragmentación de fibras elásticas y remodelación de células musculares lisas. Se asigna una puntuación de 0 a 3 según su extensión (Tabla 3.3, Figura 3.7). La métrica total para la muestra analizada será la suma de las puntuaciones individuales, cuantificando de 0, sin degradación, a 15 puntos, para una degradación severa.

Fibrosis	Grado 1	Incremento de colágeno en un área menor que 1/3 del ancho de la capa media.
	Grado 2	Incremento de colágeno en un área de entre 1/3 y 2/3 del ancho de la capa media.
	Grado 3	Incremento de colágeno en un área mayor que 2/3 del ancho de la capa media.
Necrosis	Grado 1	Ausencia de núcleos celulares en un área menor que 1/3 del ancho de la capa media.
	Grado 2	Ausencia de núcleos celulares en un área de entre 1/3 y 2/3 del ancho de la capa media.
	Grado 3	Ausencia de núcleos celulares en un área mayor que 2/3 del ancho de la capa media.
Cambio quístico	Grado 1	Presencia de quistes en el interior de una capa lamelar.
	Grado 2	Presencia de quistes ocupando una capa lamelar completa
	Grado 3	Presencia de quistes en de extensión mayor que una capa lamelar
Fragmentación de fibras elásticas	Grado 1	Menos de 5 focos de pérdida de elastina en una imagen con magnificación x200, cada foco afectando de 2 a 4 unidades lamelares.
	Grado 2	5 o más focos de fragmentación de elastina en una imagen con magnificación x200, cada uno con una extensión de 2 a 4 unidades lamelares.
	Grado 3	Focos de fragmentación de elastina en más de 5 unidades lamelares. Ordenación alterada de las células musculares lisas.
Remodelación de células musculares lisas	Grado 1	Pequeños focos de desorganización de la orientación de células musculares lisas.
	Grado 2	Desorganización de la orientación de células musculares lisas en varias áreas que representen en conjunto entre 1/3 y 2/3 del grosor de la capa media.
	Grado 3	Gran área de desorganización de células musculares lisas, ocupando más de 1/2 del grosor de la capa media.

Tabla 3.3. Criterios para la cuantificación de la degradación histológica [9].

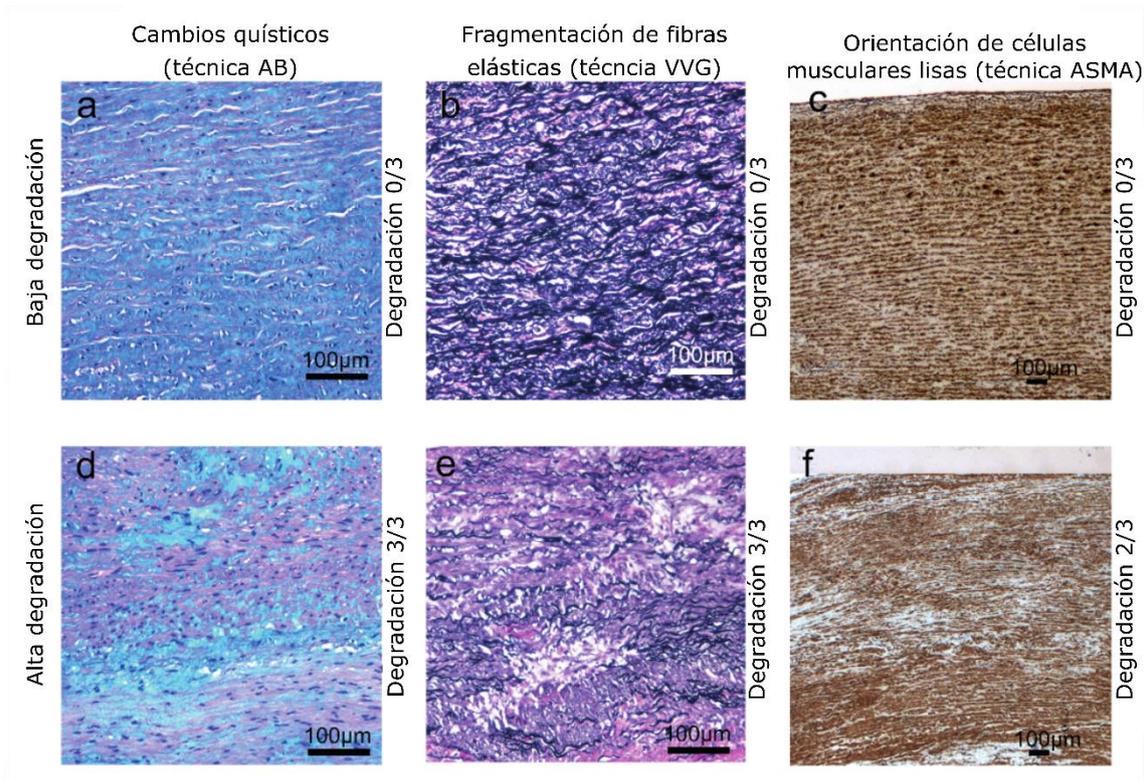


Figura 3.7. Ejemplo de imágenes histológicas de muestras de aorta presentando degradación de grado 0 y grado 3 para las categorías cambio quístico, fragmentación de fibras elásticas y remodelación de células musculares lisas.

3.1.4 Tratamiento

La única opción de tratamiento posible en caso de aneurisma es la intervención quirúrgica. El equipo de cardiólogos y cirujanos establece los criterios de tamaño, tasa de crecimiento y factores de riesgo a partir de los cuales considera viable y segura la intervención. En algunos casos, dada la complejidad de la operación, se decide no intervenir al paciente si se considera que la intervención puede suponer un riesgo elevado para su salud. La intervención quirúrgica más común consiste en la colocación de una prótesis de refuerzo. Esta intervención puede ser abierta o por medio intravascular (Figura 3.8). En el caso de AAT suele conllevar una cirugía abierta durante la cual se secciona la arteria por la zona afectada, se coloca un injerto en su lugar y se cierra de nuevo el vaso envolviendo de nuevo el injerto con el tejido arterial si procede. En el caso de AAA, es común colocar una endoprótesis o *stent* mediante una sonda. El método elegido depende de la región donde se localice la lesión, su extensión y morfología, salud del paciente y otros criterios médicos.

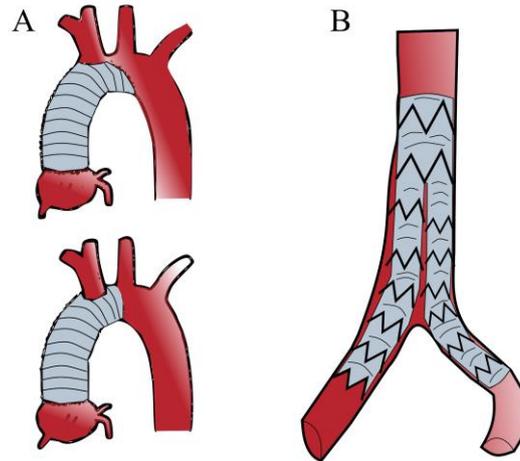


Figura 3.8. Tratamiento quirúrgico de aneurismas: A) injertos de tipo *graft* en la aorta torácica; B) endoprótesis de tipo *stent* en la aorta abdominal. La extensión de la prótesis en ambos casos se decide en función de la extensión de la degradación [4].

En el caso de los injertos de implantación mediante cirugía abierta, es fundamental que sean anclados a una zona sana de la aorta. De no ser así, se pueden producir pseudoaneurismas en las zonas de sutura. Los métodos actuales de diagnóstico no tienen capacidad de analizar el estado de la pared, por lo que el cirujano suele tomar un criterio de sobredimensionado del injerto, de forma que el anclaje se produce en una zona más alejada del aneurisma y por tanto la pared será sana con mayor certeza. Este método conlleva el perjuicio de extirpar más tejido del realmente necesario y, además, está sujeto a la experiencia y criterio del cirujano. En estas circunstancias, es clave poder tener en el acto quirúrgico una herramienta de diagnóstico que permita tomar decisiones acerca de cuánto tejido extirpar.

3.2 Válvula mitral degenerativa

3.2.1 Anatomía e histología de la válvula y las cuerdas mitrales

Las válvulas auriculoventriculares o atrioventriculares son las que controlan el flujo sanguíneo entre las aurículas y ventrículos del corazón. En el lado derecho se encuentra la válvula tricúspide y en el lado izquierdo la válvula mitral. Estas válvulas trabajan en coordinación con las válvulas arteriales o semilunares, que controlan la salida de sangre desde el corazón: la válvula aórtica y la válvula pulmonar (Figura 3.9). Durante la diástole, las válvulas auriculoventriculares se abren y las semilunares se cierran, dejando fluir la sangre de las aurículas a los ventrículos. Durante la sístole, se abren las válvulas semilunares y se cierran las auriculoventriculares, expulsando la sangre fuera del corazón hacia la arteria aorta y los pulmones. Ambos tipos de válvula se encuentran ancladas al esqueleto cardíaco, formado por tejido fibroso, con alto contenido de colágeno, que da forma a los anillos de las cuatro válvulas [10].

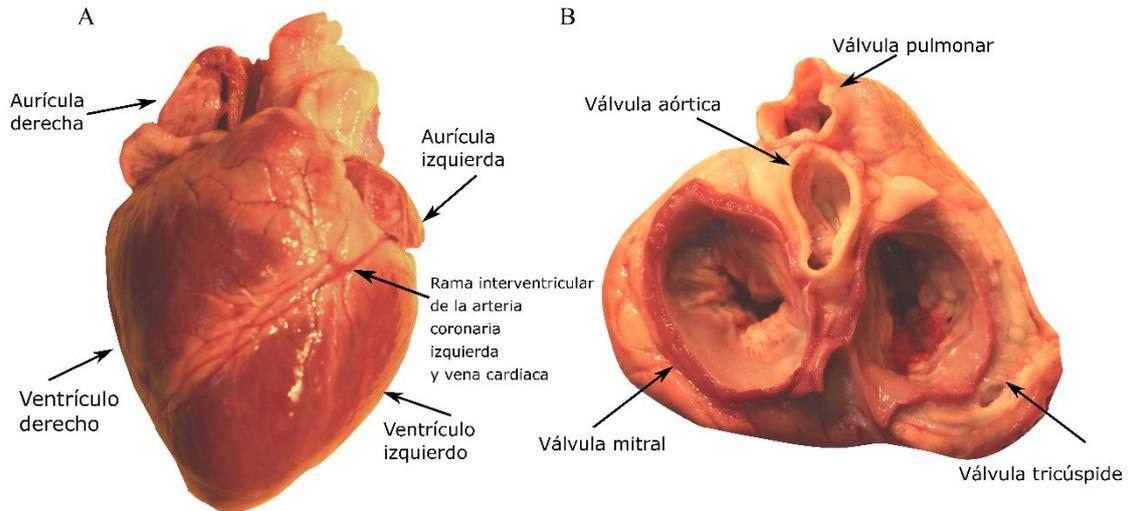


Figura 3.9. Imágenes de corazón porcino: (A) vista global; (B) sección mostrando las 4 válvulas cardíacas.

Las válvulas arteriales constan de tres velos o valvas llamadas senos de Valsalva. Están unidas al esqueleto fibroso por un engrosamiento de los anillos fibrosos. Las válvulas auriculoventriculares son de mayor tamaño que las anteriores. En el caso de la válvula tricúspide, cuenta con tres valvas, mientras que la válvula mitral cuenta con dos. Estos velos están compuestos de tejido conectivo rodeado de endocardio, la membrana que recubre el interior del corazón. El aparato valvular en estas dos válvulas es más complejo que las válvulas arteriales. Los velos están anclados por las cuerdas tendinosas a la pared del ventrículo, en los músculos papilares (Figura 3.10).

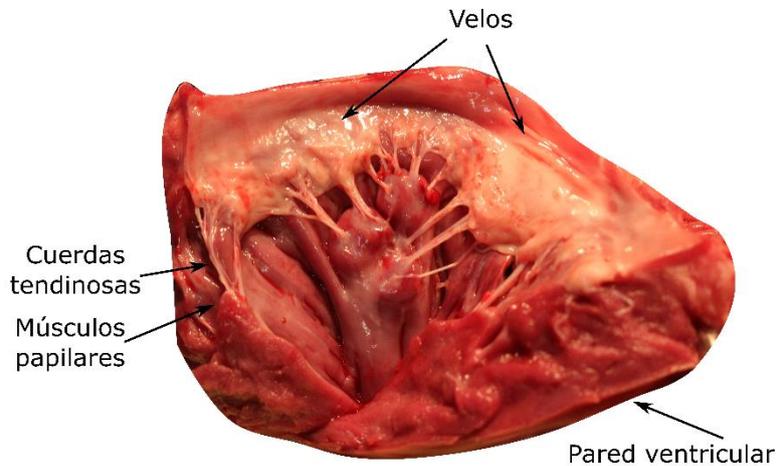


Figura 3.10. Corte del ventrículo izquierdo de corazón porcino mostrando la válvula mitral. Se distinguen principalmente los velos valvulares, las cuerdas tendinosas y los músculos papilares.

Las propiedades mecánicas del complejo valvular dependen del conjunto de elementos: valvas, cuerdas y músculo papilar. La válvula debe cerrar de forma correcta para evitar que la sangre vuelva desde el ventrículo a la aurícula. Las cuerdas tendinosas deben ser flexibles a la vez que resistentes, traccionando los velos para su apertura y soportando la presión de la válvula en el momento de su cierre durante la sístole.

El conjunto de cuerdas tendinosas suele estar formado por entre 8 y 12 cuerdas de una longitud entre 15 y 20 mm y un diámetro en torno a 0,45 mm. A medida que éstas se aproximan a los velos se dividen en ramas secundarias [11]. La capa más externa está recubierta de endocardio, formado por una capa delgada de células endoteliales. Hacia el interior de la cuerda se encuentran haces de colágeno y fibras elásticas (Figura 3.11). Estas fibras elásticas forman una capa de unos 4 μm justo debajo del endocardio y que se va dispersando hacia el interior de la cuerda, disminuyendo considerablemente su presencia hacia el núcleo.

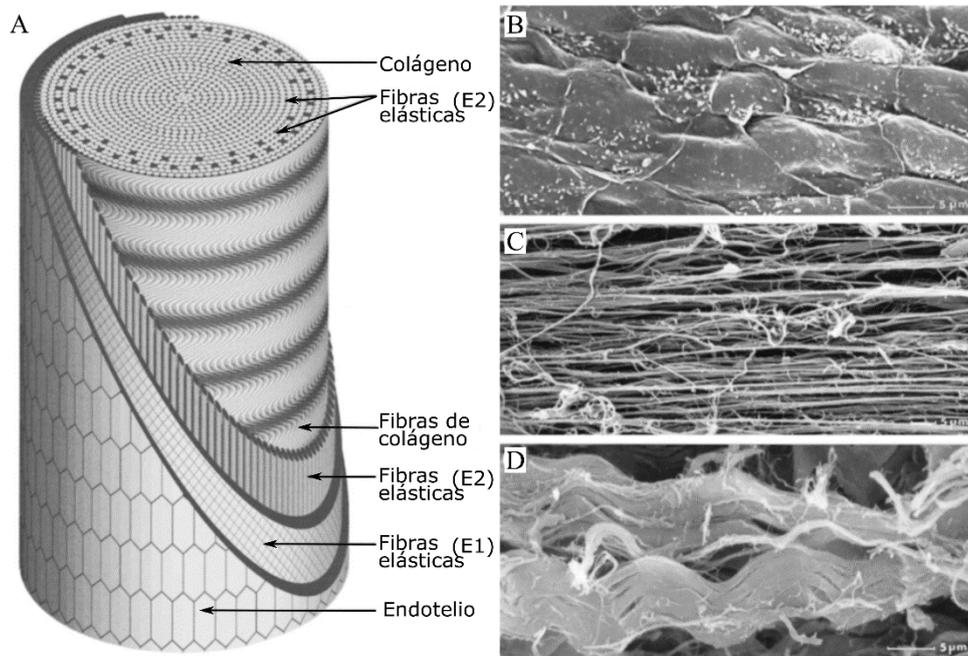


Figura 3.11. Fisiología de las cuerdas tendinosas: (A) esquema ilustrativo de la estructura y elementos presentes en las cuerdas mitrales e imágenes tomadas con microscopio electrónico de barrido de los elementos de las cuerdas tendinosas; (B) células endoteliales; (C) fibras elásticas; (D) haces de colágeno [11].

La parte más externa del núcleo se compone de colágeno esponjoso junto con algunas fibras de elastina (Figura 3.12). Ambos tipos de fibras están relativamente desorganizadas aumentando este desorden con la edad. En el interior de la cuerda, se encuentra el colágeno denso, formando ondulaciones en estado relajado y estirados al someterse a una tracción. Estas ondulaciones siguen un patrón de tipo onda plana, mostrando una periodicidad de unas 11 μm y que aumenta con la edad del paciente. La parte nuclear de la cuerda está formada por colágeno denso [11].

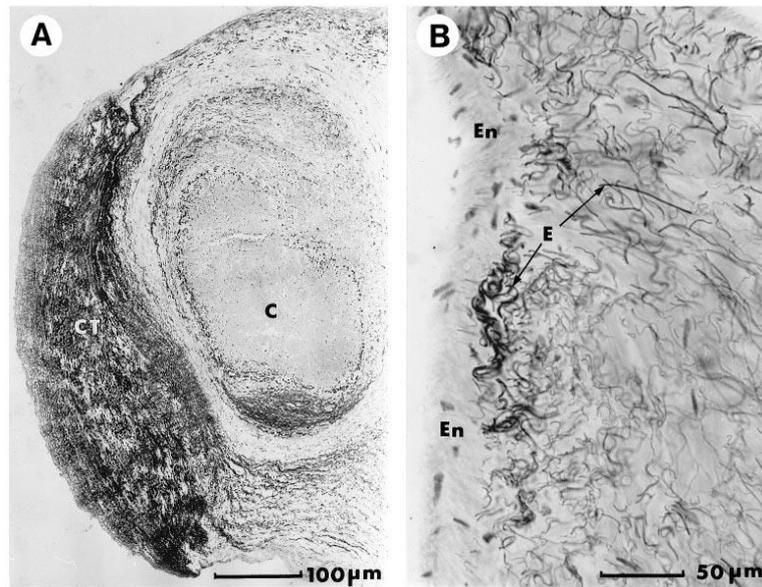


Figura 3.12. Sección de una cuerda tendinosa (A) y vista aumentada(B). Se aprecian diferencias en la imagen entre la región central de colágeno denso (*c*) y la zona exterior de tejido conectivo (*CT*) formado por los diferentes tipos de elementos. En la vista aumentada (B) se identifican las células endoteliales (*En*) y las fibras elásticas desordenadas (*E*) [11].

La edad del paciente influye en el orden de los haces y en la densidad de la cuerda. El núcleo denso se estrecha y aparecen zonas con fibras desorganizadas y fibras dispuestas circularmente. Estos dos efectos debilitan la estructura de la cuerda. Las características de composición y estructura de las cuerdas permiten soportar los ciclos de estrés mecánico al que éstas se someten continuamente. El colágeno ondulado se adapta bien a estos ciclos de forma suave, transfiriendo la tracción a la válvula. Los diferentes tipos de colágeno presente, de tipo I a tipo III, aportan respectivamente resistencia al estiramiento, a la presión intermitente y soporte estructural. De igual forma, las fibras elásticas permiten recuperar la forma en relajación y amoldar la capa endotelial al movimiento del colágeno (Figura 3.13).

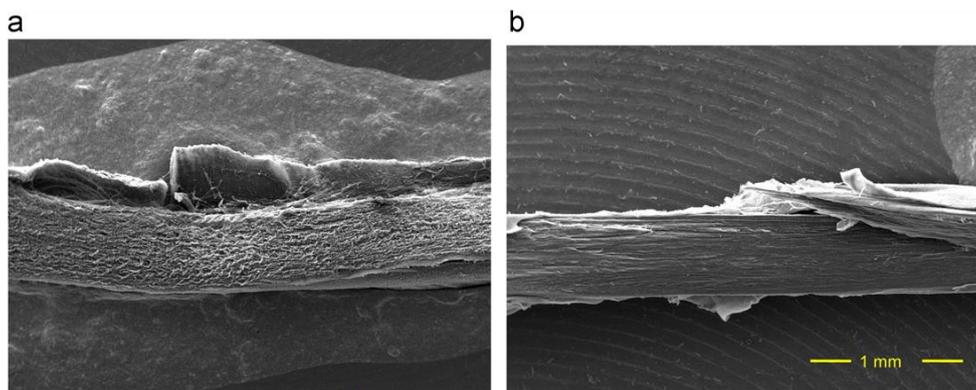


Figura 3.13. Cuerda tendinosa en estado relajado (a), mostrando ondulaciones en el colágeno y tenso (b), mostrando los haces de colágeno estirado [12].

3.2.2 Patología de la válvula mitral: válvula degenerativa

En la válvula y cuerdas se desarrollan principalmente dos tipos de afecciones: la estenosis mitral (válvula reumática) y la regurgitación mitral (válvula degenerativa) [13]. En el Hospital

Universitario Marqués de Valdecilla se han realizado 1535 recambios mitrales entre 1974 y 2006 [14], de los cuales el 57,7% fueron casos reumáticos y el 35,9% fueron casos degenerativos.

La enfermedad degenerativa de la válvula mitral es la principal patología que afecta tanto a la válvula como a sus cuerdas. La regurgitación mitral es la principal consecuencia, produciendo un flujo irregular de sangre entre la aurícula y el ventrículo que conlleva un aumento de la presión y volumen de sangre en el corazón. Hay múltiples patologías que afectan a la degeneración de la válvula y cuerdas mitrales, principalmente aquellas que afectan al tejido conectivo. Se da en casos como los síndromes de Marfan y Hunter, pero también en pacientes sin este tipo de afecciones. En el caso de válvulas degenerativas, son comunes en pacientes con la enfermedad de Barlow y con deficiencia fibro-elástica. La primera es una enfermedad de tipo degenerativo y se da en pacientes de mediana edad, produciendo un engrosamiento de los velos de la válvula. La deficiencia fibro-elástica afecta a pacientes de edad avanzada y experimenta un desarrollo a corto plazo durante el cual los velos se hacen más delgados. En ambos casos, se produce una rotura de fibras de colágeno y de fibras elásticas y aparecen infiltraciones de mucopolisacáridos, o llamados también glicosaminoglicanos (Figura 3.14 C). Aparecen fibroblastos para reparar el tejido y se produce una gran alteración del orden estructural. En las cuerdas, se produce un incremento de la cantidad de colágeno y de mucopolisacáridos además de fragmentación de las fibras elásticas (Figura 3.14 D). Las fibras de colágeno presentan una distribución más desordenada y aparecen agregaciones de células de fibroblastos o similares rodeadas de mucopolisacáridos.

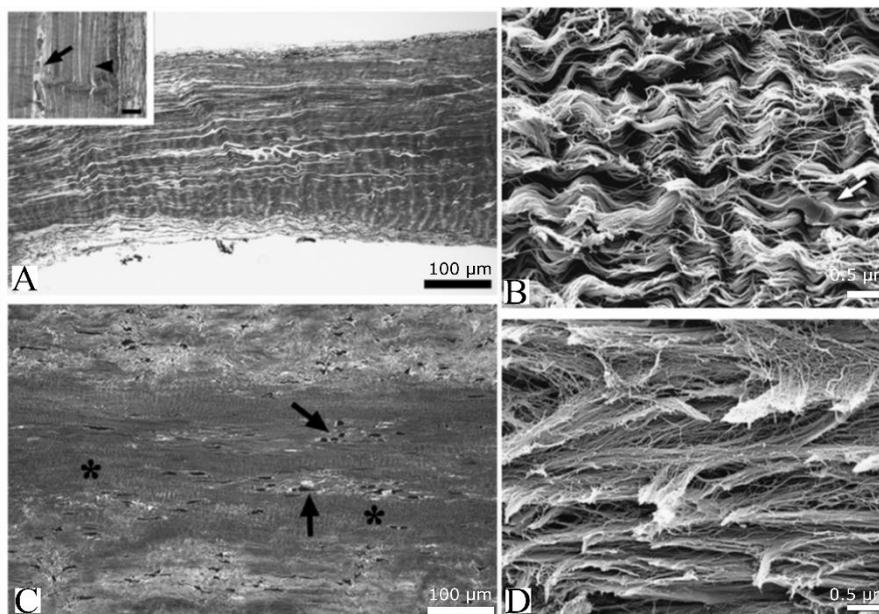


Figura 3.14. Comparativa de entre una cuerda sana (superior) y una cuerda degenerativa (inferior). Las cuerdas sanas muestran una composición uniforme de colágeno ordenado en histología (A) frente al desorden y aparición de núcleos de mucopolisacáridos de las cuerdas degenerativas (C). El microscopio electrónico de barrido muestra las ondulaciones de las fibras de colágeno en el caso sano (B) frente al desorden del caso degenerativo (D). Barras de escala: 100µm (A y C); 0.5µm (B y D) [15].

La capa esponjosa degradada primero sufre un engrosamiento debido al aumento de fibras elásticas desordenadas en la región que van rasgando las fibras de colágeno. Entonces, tiende a separarse del núcleo de colágeno denso de forma irregular (Figura 3.15 b). En algunos casos, es la capa esponjosa la primera en romperse llegando a perder la capa endotelial que sirve de protección. En otros casos, es el núcleo de colágeno el que sufre la degradación y rotura. En estos casos, la capa esponjosa puede no mostrar evidencias de deterioro, por lo que desde fuera no es posible conocer el estado del núcleo que, estando roto o deteriorado, no cumple su función de

forma adecuada. El debilitamiento conlleva la elongación de las cuerdas tendinosas, llegando a la rotura de estas. Estos desordenes se producen a nivel interno de los velos y de las cuerdas, no siendo visible externamente hasta que la patología es avanzada [15]. Cuando una cuerda se rompe se puede producir un prolapso si el resto de cuerdas no pueden soportar la presión sanguínea en el ventrículo y los velos afectados ceden a la presión.

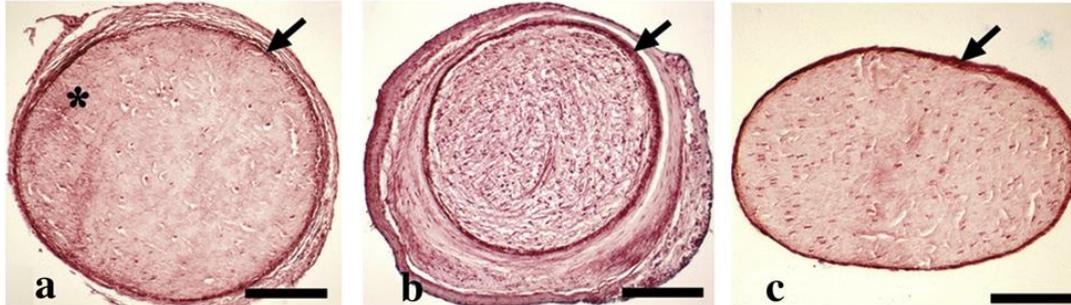


Figura 3.15. Sección de una cuerda tendinosa mostrando degradación media (a) severa (b) y no degradada (c). Las flechas indican la unión entre la región esponjosa y densa, el asterisco muestra zonas de deposición de elastina. La barra de escala representa 100 μ m [15].

En la figura 3.15 b se muestra un caso de cuerda degenerativa, donde se produce un engrosamiento de la capa esponjosa a la vez que esta se va separando del núcleo de colágeno denso. El complejo valvular sano se nutre de forma metabólica por proximidad al tejido cardiaco, en los casos de engrosamiento este método no es suficiente y se vascularizan tanto las valvas como las cuerdas. También pueden aparecer vasos linfáticos e incluso nervios.

En el otro extremo, frente a las cuerdas degenerativas se encuentran las cuerdas reumáticas. Estas se ven afectadas por deposiciones de calcio, tanto en los velos como en las cuerdas. Son especialmente perjudiciales puesto que fijan los elementos del sistema, perdiendo elasticidad, lo que afecta considerablemente a las propiedades mecánicas de las cuerdas y de las valvas [12].

3.2.3 Diagnóstico y tratamiento

La valvulopatía mitral puede pasar en muchas ocasiones inadvertida. Los síntomas pueden ser fatiga y dificultad respiratoria. Durante la inspección médica se diagnostica mediante electrocardiograma o fonocardiograma, los cuales mostrarán signos anómalos debidos a la regurgitación producida por el incorrecto cierre de la válvula [15]. Una vez se diagnostica una deficiencia mitral, se aplican diferentes procedimientos en función de la porción de la válvula afectada y la edad y estado de salud del paciente [13].

La intervención de reparación de la válvula mitral se realiza mediante cirugía abierta. Uno de los primeros y principales tipos de intervención consiste en la reparación del anillo valvular mediante una prótesis flexible con forma de anillo completo o parcial. Estas prótesis se suturan al contorno del anillo valvular, lo que ayuda a la válvula a mantener su forma. [16]. También es común la reparación de los velos mediante una resección de la zona afectada, recortándola en forma de cuña y uniendo los extremos del velo. Se añade además un anillo para mantener la forma de la región [17],[18]. Cuando la válvula no es recuperable se colocan heterografts procedentes de animales como el cerdo, o se extirpa por completo, implantando prótesis artificiales biocompatibles en su lugar (Figura 3.16). En cualquier caso, la cirugía se debe desarrollar con cautela por la proximidad con la válvula tricúspide y más aún con la válvula aórtica.



Figura 3.16. Diferentes tipos de prótesis valvulares del fabricante Sorin Group [19].

La reparación de las cuerdas y los músculos papilares es igualmente importante. Cuando se encuentra una cuerda rota, se pueden tomar diferentes medidas. Algunas de ellas son el acortamiento y sutura al músculo papilar o la transposición de cuerdas sanas a otra región de músculo papilar [14],[20]. Sin embargo, estos métodos no refuerzan notablemente la válvula. Las prótesis de politetrafluoroetileno (PTFE) son comúnmente utilizadas como recambio de cuerdas [18]. Este material es resistente a los ciclos de sístole y diástole gracias a su estructura molecular en forma de cadena. En otros tipos de materiales, durante la relajación las cuerdas se doblan siempre por el mismo lugar lo que produce una fatiga en ese punto y el material acaba rompiendo. En el caso del PTFE no sucede así, lo que lo hace mucho más duradero. Tras la operación, se ha comprobado como el cuerpo no produce rechazo de estas prótesis, sino que las recubre con tejido de igual forma que las cuerdas naturales: colágeno denso en torno a la cuerda, una región de colágeno esponjoso y finalmente endocardio (Figure 3.17) [18].

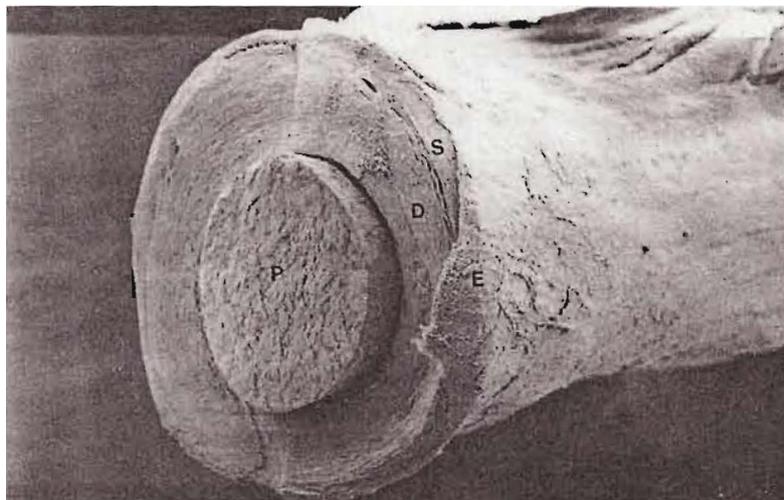


Figura 3.17. Prótesis de PTFE vista con microscopio electrónico de barrido al transcurso de 24 meses tras su implantación. La prótesis de PTFE (P) está cubierta por tejido de colágeno denso (D) esponjoso (S) y endotelio (E) [18].

Un método no tan extendido son las reparaciones con homoinjerto. En ellas se toma una región de velo, cuerda y músculo papilar completo procedentes de un donante y se utilizan para sustituir la región afectada. Tiene la ventaja de que al tratarse de tejido vivo no produce rechazo y es envuelto por células cardíacas del receptor, al igual que sucede con las cuerdas de PTFE.

Más recientemente se han desarrollado técnicas de intervención sin cirugía abierta, las de reparación mitral percutánea. Estas técnicas pretenden reparar la válvula y cuerdas sin someter al paciente a una cirugía torácica abierta y se aplican en pacientes de alto riesgo que no serían intervenidos en otras condiciones. Sin embargo, estos métodos están aún en desarrollo y en sus primeras etapas de implantación, por lo que aún no se han explotado al máximo sus posibilidades ni se ha llegado a dominar las técnicas, por lo que siguen siendo costosas y con elevadas tasas de repetición de la intervención [20]. La capacidad de estas técnicas es menor que las de cirugía abierta, estando limitadas a la implantación de elementos por cateterismo femoral hacia las coronarias, a través del septum o de la pared ventricular por procedimiento transapical, que requiere una apertura menor y atravesar la pared ventricular para proceder a la reparación. Diferentes empresas han desarrollado elementos que dividen el orificio mitral en dos al colocarse en el centro de la valva o válvulas flexibles que se colocan por cateterismo. Se han desarrollado anillos e implantación en el ventrículo o en el seno coronario, técnica que recibe el nombre de anuloplastia mitral percutánea. La reparación de cuerdas por estos medios sigue siendo con PTFE, aunque se vea modificada la forma de su implantación. Además, en la actualidad se está experimentando e implantando la reparación mitral robótica [21] que ya se aplica en otras áreas de intervención [20].

La corrección quirúrgica repara el daño, pero no evita la progresión de la patología. En el momento de la intervención, no es posible conocer el estado de las cuerdas que no muestran signos evidentes de degradación. Puesto que la degradación continua, estas cuerdas perderán su funcionalidad con el paso del tiempo, produciendo una regurgitación mitral por la cual será necesario intervenir nuevamente al paciente. Si se interviene a tiempo, la mortalidad ronda el 5%, ascendiendo hasta el 20% si se interviene de urgencia. De los pacientes intervenidos, el 24% tuvieron que ser intervenidos una segunda vez (en media tras 7,9 años) y el 5% una tercera (tras 5,5 años), con unas tasas de mortalidad de 7% y 17% si es una intervención planificada y de un 30% y 40% respectivamente si es de urgencia.

Para evitar futuras complicaciones, y en función del servicio de cirugía cardiovascular de cada hospital y de las guías de intervención internacionales [13], se tiende a reemplazar la válvula al completo en caso de dudas. Esto puede suponer eliminar todas las cuerdas, sin embargo, es preferible este supuesto frente a futuras reincidencias de la degradación. Cuando se estima que la degradación no afecta fuertemente a las cuerdas, se pueden reemplazar algunas de ellas, o transferir unas de unos anclajes a otros. En este supuesto, es necesario cerciorar la integridad de las cuerdas remanentes.

3.3 Piel y el melanoma

3.3.1 Anatomía de la piel

La piel se organiza en diferentes capas: la epidermis, la dermis y el subcutis o hipodermis (Figura 3.18). La epidermis es la capa más superficial, formada por células escamosas en la superficie, células basales debajo de estas que van ascendiendo y evolucionando en escamosas y los melanocitos, los cuales producen la melanina o pigmentación para proteger a los tejidos internos de la radiación ultravioleta. La membrana basal separa la epidermis de la dermis, donde se encuentran nervios, glándulas sudoríparas, los folículos pilosos y los vasos sanguíneos y linfáticos. Esta capa es además rica en colágeno. Por último, se encuentra la hipodermis, formada por colágeno y tejido adiposo [22].

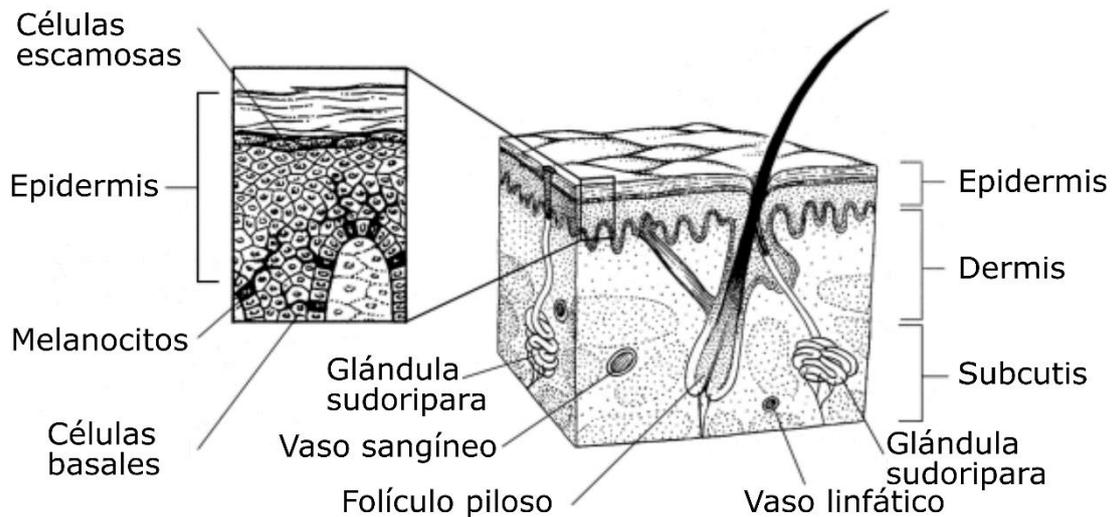


Figura 3.18. Estructura de la piel, dividida en las capas epidermis, dermis e hipodermis. [23].

3.3.2 Melanoma y otros cánceres de piel

En la piel y en el cuerpo en general se pueden producir diferentes tipos de tumor. Los tumores benignos son crecimientos anómalos que no producen cáncer. El más común es el lunar o nevus, que tienen su origen en los melanocitos. Un caso específico es el nevus Spitz, que puede presentar signos similares al melanoma como son crecimiento, abultamiento o rojez. En los otros tipos de células se desarrollan otros tipos de tumores benignos. Entre los más comunes se encuentran la queratosis seborreica (lesiones oscuras y abultadas), hemangiomas (crecimiento de vasos sanguíneos), lipomas (crecimiento de células adiposas) o verrugas debidas al virus del papiloma humano (Figura 3.19) [23].

Los cánceres de piel se pueden clasificar en melanocítico (melanoma, originado en los melanocitos), o no melanocítico. Entre los cánceres de piel más comunes se encuentran los originados en las células basales (el carcinoma basocelular) y en las células escamosas (el carcinoma espinocelular). Estos últimos no suelen producir metástasis y no son tan agresivos como el melanoma [22]. Otros tipos de cáncer menos comunes (incidencia menor del 1%) son el carcinoma de células de Merkel, diferentes tipos de sarcoma, el linfoma cutáneo y los tumores de anexos de la piel, originados en los folículos o glándulas. En el mundo se diagnosticaron en el año 2002 unos 160.000 nuevos casos de melanoma al año y 41.000 fallecidos, en España unos 3.600 nuevos casos y 710 fallecidos [22]. Según cifras de los Estados Unidos, en el año 2016 se estiman unos 76.000 casos de melanoma y unos 10.000 fallecidos por esta causa [23]. En torno al 2,4% de personas de raza blanca en dicho país desarrolla un melanoma, frente a un 0,1% de personas de raza negra. En España, la incidencia reportada en el año 2002 es de 5,3 y 5,5 casos por cada 100.000 habitantes al año, en hombres y mujeres respectivamente. La edad media de desarrollo de un melanoma son los 50 años en España [22] y 62 años en Estados Unidos [23], sin embargo, es uno de los cánceres más comunes en adultos jóvenes.

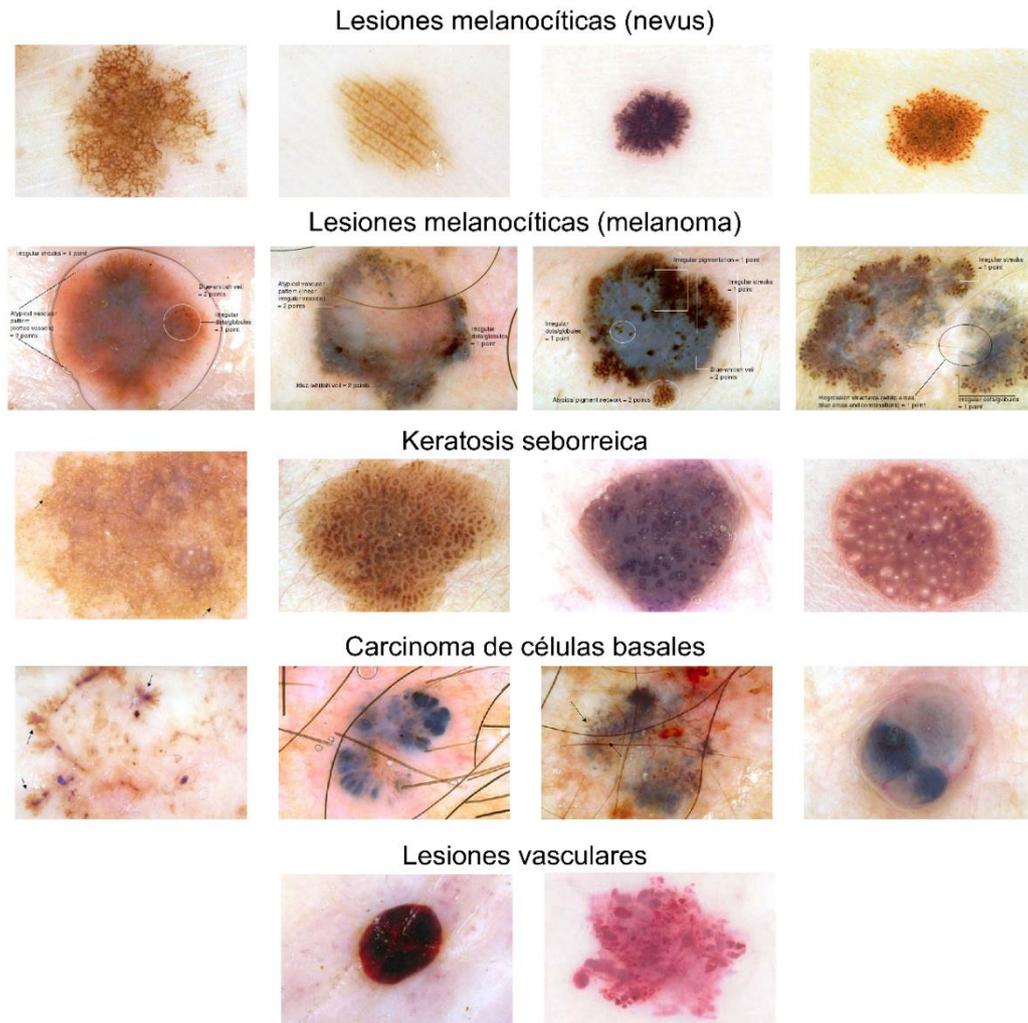


Figura 3.19. Diferentes tipos de lesiones en la piel [24].

El cáncer de tipo melanoma se origina en las células melanocíticas o melanocitos. Las células afectadas presentan patrones de crecimiento anómalos y acelerados. El nevus también tiene su origen en los melanocitos. Sin embargo, en el caso del melanoma, el crecimiento de la lesión es acentuada produciendo más melanina y por tanto oscureciendo la lesión. En otros casos, esto no sucede y el melanoma puede adquirir otros tonos: rosado, blanco, gris o azulado. El melanoma es menos común que los cánceres de piel de células basales o escamosas (en torno a 1% de prevalencia del total de cánceres de piel). Sin embargo, es más agresivo y tiene mayores tasas de mortalidad. Cuando el melanoma avanza, atraviesa la membrana basal extendiéndose por la dermis. Si alcanza los vasos sanguíneos puede extenderse por todo el cuerpo a través del sistema circulatorio y producir metástasis, desarrollando tumores secundarios en cualquier parte del cuerpo.

El melanoma se puede dar en cuatro tipos diferenciados [22]. Los tres primeros afectan solamente a la epidermis, mientras que el último caso se extiende a capas inferiores y presenta un pronóstico más grave.

- El melanoma de extensión superficial es el más común. Suele ser plano y de forma y color irregulares.
- El lentigo maligno melanoma aparece en personas de edad avanzada, presentando áreas grandes y planas de color marrón.

- El melanoma lentiginoso acro aparece en las palmas de pies y manos y bajo las uñas, siendo más común en personas de raza negra.
- El melanoma nodular es el segundo más frecuente y el más agresivo. Suele presentar un área elevada de colores variados: azul a negro, azul y rojizo o sin color o color blanquecino.

La radiación ultravioleta es el principal factor de riesgo, puesto puede llegar a alterar el ADN de las células melanocíticas y afectar a los genes que controlan el crecimiento de estas (oncogenes) o su muerte (genes supresores de tumores). Las zonas más propensas al desarrollo de melanomas son aquellas más expuestas a la radiación y que suelen sufrir más quemaduras por una exposición excesiva a la radiación ultravioleta, como son la cara y cuello, pecho, espalda y las piernas [23]. Además, puede aparecer en zonas no expuestas como el cuero cabelludo, las palmas de la mano y los pies, debajo de las uñas o de superficies internas y mucosas, etc. aunque con una casuística mucho menor. Los cambios genéticos producidos en melanomas expuestos a la radiación UV y los no expuestos son diferentes y su evolución también puede serlo. La probabilidad de desarrollar un melanoma es más común en razas de piel blanca, aunque no exclusivo, principalmente afectando a aquellas personas de piel muy clara, con numerosos lunares, de ojos y pelo claros y con facilidad de ocurrencia de pecas. Además, en personas que padecen enfermedades como la xeroderma pigmentosa, las células no son capaces de reparar el daño producido por la radiación UV, presentando un riesgo de melanoma mucho mayor.

En general, los nevus no suelen evolucionar en melanomas, sin embargo, en algunas ocasiones los nevus displásicos (lunares grandes y de forma o color anómalo) pueden evolucionar en melanomas. Los nevus melanocíticos congénitos, aquellos que se tienen de nacimiento, tienen una probabilidad de hasta un 10% de convertirse en melanoma cuando son de gran tamaño (varios centímetros), siendo necesario su examen periódicamente [23]. En cualquier caso, los pacientes que hayan tenido melanomas previos, o parientes consanguíneos que los hayan padecido, se consideran de riesgo.

3.3.3 Diagnóstico y tratamiento del melanoma

El diagnóstico de melanoma y en general de cualquier lesión cutánea se suele llevar a cabo en primer lugar mediante un examen visual. En los servicios de dermatología se cuenta con equipos de dermatoscopia, también llamado microscopia de epiluminiscencia (en inglés ELM *Epiluminescence Microscopy*). Estas herramientas producen una imagen aumentada de la lesión que permite ver en detalle la textura de la lesión (Figura 3.20 B), además, la luz polarizada evita reflexiones en la piel y permite observar la textura de la lesión (Figura 3.20 C).



Figura 3.20. Fotografía convencional (A) frente a fotografía por dermatoscopia sin luz polarizada (B) y con luz polarizada (C) de la misma lesión.

La principal dificultad del diagnóstico consiste en discernir las lesiones cancerosas de las benignas. El caso de los lunares normales, presentan una pigmentación uniforme de color marrón o negro, con un diámetro típicamente inferior a 6 mm y que permanece estable en el tiempo o incluso puede desaparecer. La mayor parte de los lunares surgen en la infancia y adolescencia. Los lunares que aparecen en la vida adulta, que cambian de tamaño color o forma o que son muy diferentes al resto de lunares del paciente, son susceptibles de ser melanomas. Un método muy extendido de ayuda al diagnóstico es el método ABCD (Figura 3.21) [25], [26], [27]. Este método busca asimetría (A) en la forma del lunar, borde irregular (B), diámetro mayor de 6 mm (D), y evolución del tamaño, forma o color (E). Aunque no todos los melanomas encajan con estos criterios, el método es útil en muchos de los casos. Aparte de este método, se han desarrollado otros métodos que hacen uso de la dermatoscopia para el diagnóstico, como son CASH, el método de Menzies y la lista de los 7 puntos [28]. Todos ellos se basan en la detección de patrones no homogéneos, signos de crecimiento y comportamiento descontrolado de las células que conforman la lesión y en la evolución de estos.

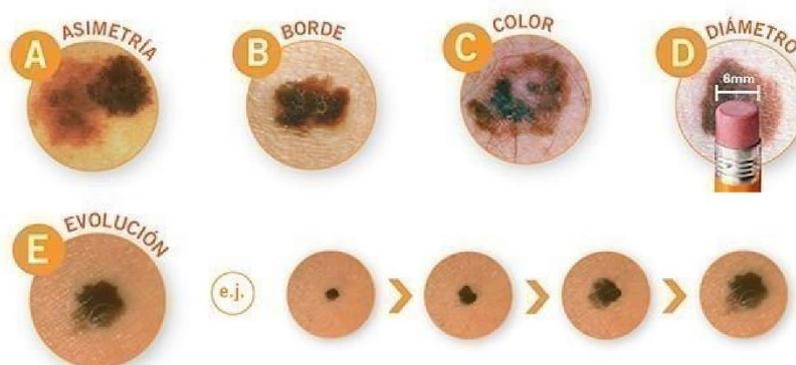


Figura 3.21. Parámetros ABCD y E. En los casos A, B y C cualquier no uniformidad puede ser signo de melanoma. En el caso de diámetro mayor de 6 mm o de crecimiento con el tiempo también puede ser indicativo de melanoma [29].

El método de referencia, y que produce un diagnóstico con absoluta certeza, es la biopsia del tejido bajo sospecha. Hay diferentes tipos de biopsia y se aplican en función de la localización y tamaño de la lesión y de la certeza sobre el posible diagnóstico. La técnica de raspado consiste en raspar la epidermis y partes superficiales de la dermis y se aplica en lesiones pequeñas y con bajo riesgo de ser melanoma. La punción consiste en la extracción con un utensilio similar a una cuchara, biopsiando una zona redondeada que llega hasta la hipodermis y que requiere una sutura. Cuando se tiene una certeza mayor de que el tejido puede ser un melanoma y éste se extiende hacia el interior del tejido, se realiza una biopsia incisional (parte de la lesión) o escisional (toda la lesión), llegando a las capas más profundas de la piel, y requiriendo una sutura posterior. En la mayor parte de los casos se aplica anestesia local.

En caso de detección positiva de melanoma se suelen biopsiar los ganglios linfáticos adyacentes para corroborar si el cáncer se ha propagado. Cuando hay sospecha de que esto ha podido suceder, se realizan pruebas adicionales para identificar la extensión como son análisis de sangre, resonancia magnética, radiografías o análisis con tomografía computerizada. Una vez diagnosticado como melanoma, se establece una clasificación para cuantificar el nivel de propagación del cáncer. Un método extendido es el método TNM establecido por la Comisión Americana en Cáncer (AJCC)[30], en el cual se cuantifica el tamaño del tumor (T), su propagación a los nodos o ganglios linfáticos (N) y el nivel de metástasis (M).

Los niveles de tumor se dividen en 4 niveles principales: TX si no se puede evaluar el tumor; T0 si no hay tumor y Tis si el melanoma se encuentra in situ, contenido en la dermis. Si se

extienden más allá de la dermis se cuantifican su penetración en T1a y T1b para penetraciones menores a 1mm sin o con ulceración (rotura de la piel sobre el melanoma) respectivamente; T2a y T2b para grosores menores a 2 mm; T3a y T3b grosores entre 2 y 4 mm y T4a y 4b para grosores mayores [23].

La propagación a los ganglios linfáticos se clasifica en niveles NX, cuando no se pueden evaluar los ganglios, N0 si no hay propagación; N1 para un ganglio adyacente afectado; N2 para dos o tres ganglios afectados y N4 cuando se encuentran cuatro o más ganglios afectados o se hallan más tumores cerca del principal.

La metástasis se clasifica en M0 si no hay; M1a cuando afecta al tejido subcutáneo y ganglios cercanos, con un nivel de LDH en sangre (lactato deshidrogenasa, que se utiliza como marcador de cáncer) en sangre bajo; M1b si afecta a los pulmones con LDH bajo y M1c cuando se ve afectado cualquier otro órgano y se presentan elevados niveles de LDH en sangre.

A partir de los anteriores se construyen las etapas generales o estadios, en los que un nivel superior indica un peor pronóstico. En la Etapa 0 el melanoma se encuentra localizado en la epidermis sin propagación. En la Etapa I (Etapa Ia, Ib) el melanoma puede haber avanzado hacia la dermis, pero sin afectar a ganglios linfáticos. La Etapa II (Etapa IIa, IIb, IIc) implica dimensiones mayores a 1 mm y extensión a la dermis, también sin afectar a los ganglios. La Etapa III (Etapa III, IIIb, IIIc) implica ganglios afectados y regiones adyacentes. Por último, la Etapa IV implica que hay otros órganos afectados como pulmones, hígado o cerebro [23]. Las tasas de supervivencia dependen de las etapas. Para la Etapa I, la supervivencia es del 97% y 95% para 5 y 10 años respectivamente. En la Etapa 4, la supervivencia es de hasta un 20% para 5 años y hasta un 15% para 10 años [22], [23].

En función de las etapas, el tratamiento es diferente. Si se identifica un melanoma, este es extirpado en primer lugar, extirpando tejido más allá de la lesión para dejar un margen libre. Para profundidad del tumor de menos de 1 mm se extirpa un margen de 1 cm, mientras que para lesiones de 4 mm o más se extirpan con un margen de 2 cm o superior. En caso de haberse extendido, es necesario extirpar los ganglios afectados y posibles tumores, aplicando tratamientos con medicamentos específicos para atacar los diferentes tipos de células que se encuentren afectadas. Entre ellos, la inmunoterapia consiste en estimular el sistema inmune mediante fármacos para que combata al melanoma. Los tratamientos con radioterapia y quimioterapia se aplican respectivamente en los casos más avanzados [22].

Bibliografía

- [1] M. Á. García-Porrero, Juan A. Juan Mario, Hurlé González. Colvee Benlloch, Elvira. Ros Lasierra, *Anatomía humana*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, 2005.
- [2] F. Geneser, *Histología*, 3ª. Panamericana, 2000.
- [3] E. J. Topol, R. M. Califf, E. N. Prystowsky, J. D. Thomas y P. D. Thompson, *Tratado de medicina cardiovascular*, 3ª. Barcelona: Wolters Kluwer, 2008.
- [4] J. M. R. Soba, *Avances en cirugía de la aorta*, 1ª. Barcelona: Uriach y Compañía, 2004.
- [5] L. F. Hiratzka, G. L. Bakris, J. A. Beckman, R. M. Bersin, V. F. Carr y D. M. Williams, «ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease: Executive summary: A report of the american college of cardiology Foundation/American heart association task force on practice», *Circulation*, vol. 121, n.º 13, pp. 1544-1579, 2010.
- [6] H. Ince y C. A. Nienaber, «Etiology, pathogenesis and management of thoracic aortic

- aneurysm», *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, vol. 4, n.º 8, pp. 418-427, 2007.
- [7] «Wikimedia commons», 2013. [En línea]. Disponible en: <http://commons.wikimedia.org/>. [Accedido: 07-mar-2013].
- [8] «Protocol database histology immunohistochemistry, molecular and cell biology.» [En línea]. Disponible en: http://www.ihcworld.com/protocol_database.htm. [Accedido: 07-mar-2013].
- [9] J. F. Matthias Bechtel, F. Noack, F. Sayk, A. W. Erasmi, C. Bartels y H.-H. Sievers, «Histopathological grading of ascending aortic aneurysm: comparison of patients with bicuspid versus tricuspid aortic valve.», *J. Heart Valve Dis.*, vol. 12, n.º 1, pp. 54-9-61, 2003.
- [10] J. D. Bronzino, Ed., *The Biomedical Engineering Handbook*, 3 rd. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006.
- [11] C. Millington-Sanders, A. Meir, L. Lawrence y C. Stolinski, «Structure of chordae tendineae in the left ventricle of the human heart.», *J. Anat.*, vol. 192, pp. 573-581, 1998.
- [12] J. A. Casado *et al.*, «Determination of the mechanical properties of normal and calcified human mitral chordae tendineae», *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 13, n.º May, pp. 1-13, 2012.
- [13] R. A. Nishimura *et al.*, «2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines», *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 63, n.º 22, pp. e58-185, 2014.
- [14] V. Expósito *et al.*, «Repeat Mitral Valve Replacement: 30-Years' Experience», *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)*, vol. 62, n.º 8, pp. 929-932, 2009.
- [15] J. M. Icardo, E. Colvee y J. M. Revuelta, «Structural analysis of chordae tendineae in degenerative disease of the mitral valve», *Int. J. Cardiol.*, vol. 167, n.º 4, pp. 1603-1609, 2013.
- [16] C.M.G. Durán, J. M. Revuelta y J. L. Pomar, «A new composite xenograft monocusp patch for reconstruction of the right ventricular outflow tract: A preliminary report .», *Cardiovasc. Dis. Bull. Texas Hear. Inst.*, vol. 7, n.º 1, pp. 58-65, 1980.
- [17] L. Gaite y H. Universitario, «Politetrafluorethylene stents: results of mitral Cardiac Surgery: A Looseleaf Workbook and Update Service», n.º January, 1985.
- [18] J.M. Revuelta, R. Garcia-Rinaldi, L. Gaite L, F. Val y F. Garijo «Generation of chordae tendineae with polytetrafluoroethylene stents. Results of mitral valve chordal replacement in sheep.», *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, vol. 97, n.º 1, pp. 98-103, 1989.
- [19] «Sorin Group», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.livanova.sorin.com/home.action>.
- [20] J. M. Revuelta, «Mitral valve repair between 2 shores», *Cirugía Cardiovasc.*, vol. 22, n.º 1, pp. 5-9, 2015.
- [21] W. R. Chitwood Jr, «Robotic mitral valve surgery: overview, methodology, results, and perspective», *Ann. Cardiothorac. Surg.*, vol. 5, n.º 6, pp. 544-555, 2016.
- [22] AECC, «Cancer de piel melanoma», 2011. [En línea]. Disponible en: <https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/melanoma/Paginas/melanoma.aspx>.
- [23] «American Cancer Society». [En línea]. Disponible en: <https://www.cancer.org>. [Accedido: 11-ene-2017].
- [24] «Consensus Net Meeting on Dermoscopy», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.dermoscopy.org/consensus/default.asp>.
- [25] G. Argenziano *et al.*, «Epiluminescence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions», *Arch. Dermatol.*, vol. 134, n.º 12, pp. 1563-1570, 1998.
- [26] R. H. Johr, «Dermoscopy: Alternative melanocytic algorithms - The ABCD rule of dermatoscopy, menzies scoring method, and 7-point checklist», *Clin. Dermatol.*, vol. 20, n.º 3, pp. 240-247, 2002.
- [27] A. Blum, G. Rassner y C. Garbe, «Modified ABC-point list of dermoscopy: A simplified and highly accurate dermoscopic algorithm for the diagnosis of cutaneous melanocytic lesions», *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 48, n.º 5, pp. 672-678, 2003.

- [28] C. Carrera *et al.*, «Validity and Reliability of Dermoscopic Criteria Used to Differentiate Nevi From Melanoma», *JAMA Dermatology*, vol. 10022, n.º 7, pp. 798-806, 2016.
- [29] N. S. Ramteke y S. V. Jain, «ABCD rule based automatic computer-aided skin cancer detection using MATLAB», *IJCTA*, vol. 4, n.º 4, pp. 691-697, 2013.
- [30] «American Joint Committee on Cancer». [En línea]. Disponible en: <https://cancerstaging.org/Pages/default.aspx>. [Accedido: 01-ene-2017].

Capítulo 4

Imagen diagnóstica mediante OCT

4.1 Tomografía de coherencia óptica	58
4.1.1 Interferometría de baja coherencia	58
4.1.2 Fundamentos de tomografía de coherencia óptica	60
4.1.2.1 Tomografía de coherencia óptica en el dominio de Fourier	64
4.1.2.2 Tomografía de coherencia óptica sensible a la polarización	67
4.1.2.3 Equipo SS-OCT del Grupo de Ingeniería Fotónica	68
4.2 Imagen OCT y procesado	69
4.2.1 Formación de imagen OCT	70
4.2.1.1 Características generales de imagen OCT	71
4.2.1.2 Artefactos de medida en OCT	72
4.2.1.3 Efecto del índice de refracción en el camino óptico	73
4.2.1.4 Dispersión de punto y pérdida de sensibilidad	74
4.2.1.5 Caracterización de la atenuación de la muestra	76
4.2.2 Técnicas de pre procesado	76
4.2.2.1 Conversión de mapa de color	77
4.2.2.2 Reducción de ruido	77
4.2.2.3 Corrección de artefactos de medida	78
4.2.2.4 Realce de bordes	79
4.2.2.5 Segmentación	81
4.2.3 Extracción de características	84
4.2.3.1 Métodos de análisis de histograma	85
4.2.3.2 Métodos de gradiente	86
4.2.3.3 Métodos del Laplaciano	87
4.2.3.4 Métodos texturales	93
Bibliografía	94

La tomografía de coherencia óptica (OCT por sus siglas en inglés: *Optical Coherence Tomography*) es una técnica de imagen tomográfica basada en interferometría de baja coherencia. Fue desarrollada hacia 1991 [1] para obtener imágenes de alta resolución en tejidos biológicos de forma no invasiva. El principio básico de funcionamiento consiste en iluminar el tejido para medir la luz que es retro esparcida en la muestra y devuelta hacia el receptor. Tras aplicar un proceso de detección interferométrico, esta luz retro esparcida (en inglés *backscattering*) es utilizada para reconstruir un perfil de penetración en el tejido, ya sea en un punto único (una dimensión), una línea en el tejido, formando una imagen transversal del interior del tejido (dos dimensiones) o incluso un cubo en tres dimensiones. Este funcionamiento es similar a los ultrasonidos, con la salvedad de que dada la velocidad de propagación de la luz, se consigue mayor resolución y es necesario un proceso interferométrico para la detección a velocidades más bajas que la de propagación de cara a los sistemas detectores.

Esta técnica supone un compromiso en cuanto a necesidades de resolución espacial, penetración en el tejido y tiempo de adquisición, siendo un medio no invasivo, sin necesidad de contraste u otros dopantes y que no emite radiación ionizante. En cuanto a la resolución espacial, existen configuraciones que consiguen valores de hasta $1\mu\text{m}$ [2], aunque suele rondar las $10\mu\text{m}$. Frente a otras técnicas de alta resolución, como la microscopía confocal, aporta una penetración mayor, de en torno a los 2-3 mm y llegando incluso a 12 mm en algunos equipos comerciales [3]. Como alternativa, los ultrasonidos son una herramienta ampliamente extendida en el ámbito médico cuya resolución está en el rango de las decenas de micras, aportando una profundidad de imagen del orden de centímetros.

En OCT, al igual que en ultrasonidos, tras obtener los ecos medidos a lo largo de un eje del tejido, estos se juntan formando una imagen. Sin embargo, *OCT* se sirve de la luz, lo que conlleva una mayor velocidad en el elemento de medida, que da una resolución mayor. Los ultrasonidos presentan el problema de que tanto resolución como absorción aumentan fuertemente con la frecuencia y se necesita obtener un compromiso. En este contexto, *OCT* ofrece una ventaja en cuanto a resolución (Figura 4.1) ya que es independiente de la penetración, con lo que la técnica permite mejorar una y otra configurando diferentes elementos del sistema. Frente a otros métodos de imagen médica, *OCT* e *IVUS* permiten ver elementos del tamaño de micras o decenas de micras, estando ideados para trabajar dentro de los vasos. Sin embargo, la *RM* y la *TC* permiten obtener imágenes de elementos mayores como es un órgano completo o una región del cuerpo, obteniendo típicamente una menor resolución, pero un gran campo de visión y por tanto una utilización distinta.

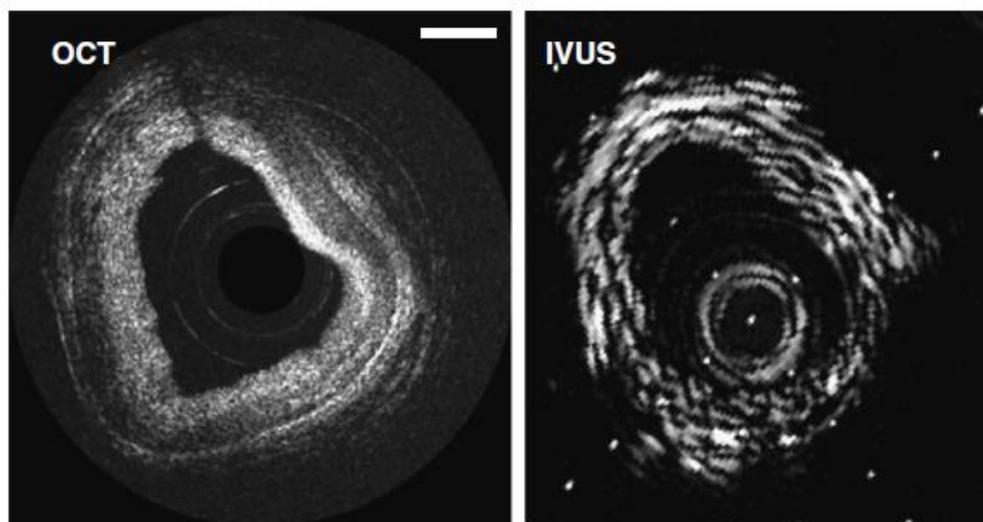


Figura 4.1 Comparativa entre OCT y ultrasonidos (*IVUS*, *IntraVascular UltraSound*) en una arteria coronaria [2].

4.1 Tomografía de coherencia óptica

4.1.1 Interferometría de baja coherencia

El principio de funcionamiento de un equipo OCT se encuentra en el fenómeno de interferometría. Al comportarse la luz como una onda, cuando dos ondas se superponen en una posición del espacio, y en un instante temporal, se produce una interferencia entre ambas. Dicha interferencia consiste en la suma o resta de amplitudes de ambas ondas, ya sea constructiva o destructiva en función del desfase entre ambas. La propiedad que hace que las señales anteriores produzcan

diferentes patrones de interferencia es la coherencia de las diferentes señales de luz. El término de luz coherente se aplica a las fuentes que mantienen una fase constante entre los diferentes puntos de la onda e instantes temporales. De esta manera, conocida la fase en un punto y en un instante, se puede predecir la fase del otro punto en cualquier instante [4]. La fase en la que se produzca la interferencia es por tanto determinante para el patrón final.

En señales monocromáticas (un sólo color o lo que es equivalente, una frecuencia única) y coherentes, la interferencia entre dos ondas producirá un patrón de interferencia periódico. En la nueva señal producida tras la interferencia, la frecuencia y fase serán constantes, y la amplitud será periódica y de magnitud dependiente de si el desfase entre las señales originales es constructivo o destructivo (Figura 4.2 A, C). En señales policromáticas (varias frecuencias o colores) e incoherentes, sin embargo, la superposición de ondas de diferentes frecuencias y con diferentes desfases entre sí, dará lugar a un patrón de interferencia más complejo. Habrá componentes que se sumen y otras que se destruyan, descomponiendo el rango de frecuencias o incrementándolo según se de uno u otro caso (Figura 4.2 B, D).

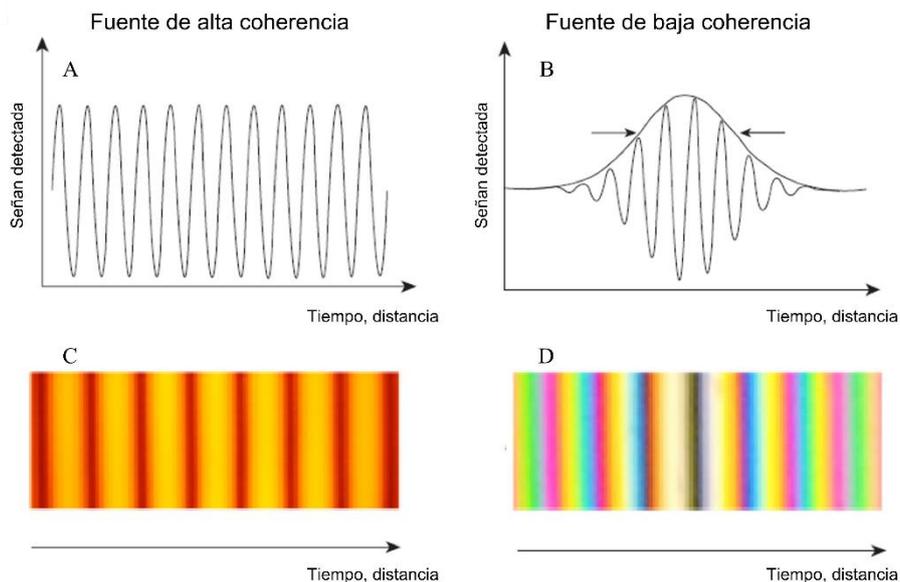


Figura 4.2. Interferencia: (A) interferencia monocromática, (B) interferencia policromática o coloreada en el detector de un interferómetro de Michelson con luz visible. El caso monocromático produce una interferencia entre las señales con una diferencia de fases constante (luz coherente) lo que da lugar a una señal sinusoidal, con un patrón con máximos y mínimos de intensidades constantes (C). En el caso coloreado, la interferencia se produce agregándose las señales en distintas fases y por tanto la señal resultante no es uniforme (D). El patrón de referencia así lo refleja, mostrando su máxima envolvente en el instante temporal en el que las longitudes de los brazos de muestra y referencia coinciden [5],[2].

Si la señal no es monocromática, desde su origen en la fuente las distintas componentes frecuenciales tendrán diferentes fases y amplitudes. Esto hace que la señal en conjunto sea de baja coherencia y sólo se puede conocer la señal a partir de otro punto no más alejado que la distancia de coherencia. Cuando se producen interferencias de esta señal con la muestra, se ven modificadas las amplitudes y fases de las distintas componentes frecuenciales de la señal. La señal interferente es más irregular (al contrario que la coherente, que tenía amplitud constante) y por tanto se pueden detectar eventos, ya sea en el dominio frecuencial o temporal.

4.1.2 Fundamentos de tomografía de coherencia óptica

Un sistema OCT está compuesto básicamente de un interferómetro con cuatro brazos, ya sea en fibra o en volumen. En los diferentes brazos están posicionados la fuente de luz, el detector, la referencia y la muestra (Figura 4.3). La distancia del brazo de referencia y el brazo de muestra deben coincidir o estar bien calibradas, de forma que la luz que vuelve de ambos brazos produzca una interferencia en el detector con la máxima amplitud posible para maximizar las prestaciones. Dicha interferencia depende de la diferencia de caminos ópticos entre ambos brazos, por tanto, la variación de caminos ópticos será el elemento a barrer para penetrar a distintas profundidades en el tejido, siendo el método de barrido la principal diferencia entre unos sistemas y otros.

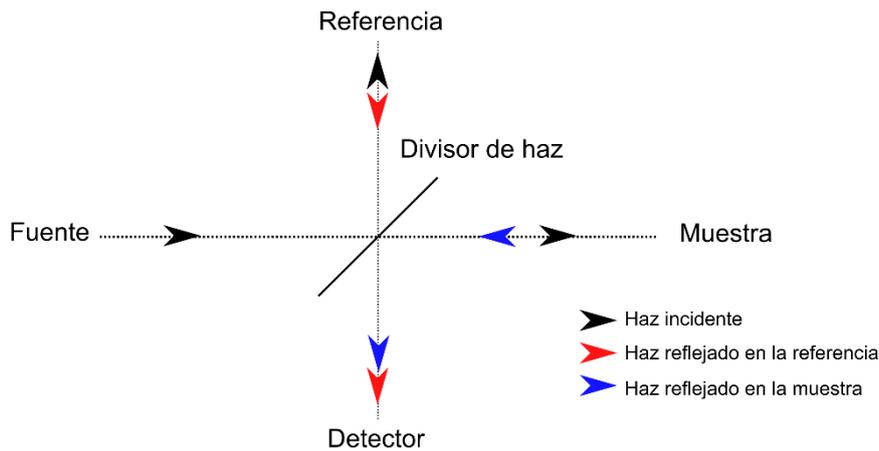


Figura 4.3. Esquema básico de los sistemas OCT. El sistema está formado por un interferómetro, en este caso de Michelson, con cuatro brazos.

La captura básica en un sistema OCT se llama A-scan y se toma focalizando la lente en un punto fijo de la muestra. Tras aplicar el proceso de interferometría y procesado se tiene un perfil de intensidad de luz retro esparcida frente a profundidad de penetración (Figura 4.4 B). El siguiente paso consiste en focalizar en un punto adyacente de la muestra para tomar otro A-scan, de forma que un conjunto de A-scan adyacentes forman un B-scan, es decir, una imagen bidimensional transversal al (Figura 4.4 C). Además, se puede hacer un barrido adicional en el eje transversal, tomando un conjunto de varios B-scan para formar un C-scan o cubo tridimensional (Figura 4.4 D). Todos los sistemas OCT se sirven de motores galvanométricos para mover un espejo frente a la lente de captura que permite variar el punto de captura y obtener los B-scan y C-scan.

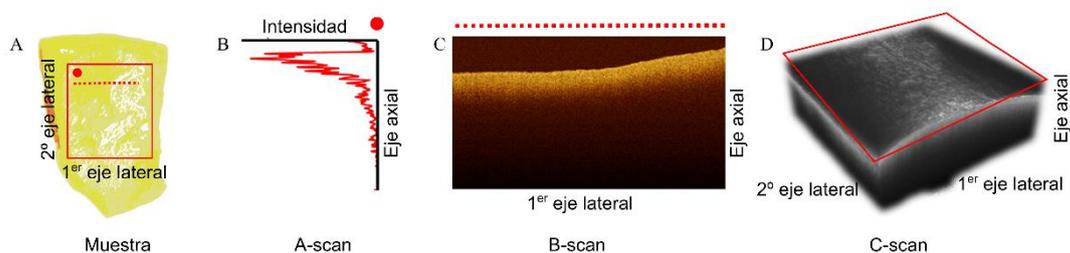


Figura 4.4. Ejemplos de los tres tipos de medidas realizadas con un equipo OCT en una muestra de pared arterial (A). El elemento básico es un A-scan que mide el perfil en profundidad (B). La agrupación de múltiples A-scan se llama B-scan (C) y a su vez, varios B-scan forman un C-scan (D). Las marcas rojas indican la zona del tejido medida en cada caso.

Las principales características de un sistema OCT son su resolución axial (en profundidad), resolución lateral (entre A-scan adyacentes), penetración máxima y relación señal a ruido (SNR). La resolución axial, Δz , viene dada por la longitud de coherencia de la fuente, l_c . Al interferir la señal consigo misma tras un retardo, la interferencia es la autocorrelación de dicha señal. La envolvente de esta función es equivalente a la transformada de Fourier del espectro de la fuente, por lo que el ancho de esa función de autocorrelación es inversamente proporcional al ancho del espectro [6],[7]. Asumiendo una fuente de espectro gaussiano, aproximación considerada válida en términos generales [7], [8], [9], se tiene:

$$\Delta z = l_c = \frac{2 \cdot \ln(2) \lambda_0^2}{n \cdot \pi \Delta \lambda} \quad (4.1)$$

siendo λ_0 la longitud de onda central de la fuente y $\Delta \lambda$ su anchura espectral a anchura mitad (FWHM). El índice de refracción n de la muestra es también un limitante de la resolución. La resolución lateral o transversal, Δx , viene dada por las características de la óptica focalizadora al igual que en microscopía convencional [10]:

$$\Delta x = 2\omega_0 \approx \frac{4\lambda_0 f}{\pi d} = \frac{2\lambda_0}{\pi A.N.} \quad (4.2)$$

donde f es la distancia focal de la lente, ω_0 el radio del punto focalizado, d el radio del haz a focalizar y $A.N.$ la apertura numérica de la lente. Se aprecia como la resolución lateral es independiente de la resolución axial, por lo que en OCT se pueden mejorar ambas sin perjuicio entre ellas. Sin embargo, la profundidad de enfoque también depende de la apertura numérica, por lo tanto, estará comprometida con la resolución lateral.

Al focalizar la lente en la muestra se tiene un esquema de focalización como el indicado en la Figura 4.5, en función de la apertura numérica de la lente. El punto más estrecho da la resolución lateral del sistema. A partir de este punto, se define la región de Rayleigh (Z_R) como aquella donde el área de enfoque es doble dando lugar al parámetro confocal. Se define la profundidad de enfoque o parámetro confocal b como:

$$b = 2Z_R = 2 \frac{\pi n \omega_0^2}{\lambda_0} = \frac{\pi \Delta_x^2}{2\lambda_0} \quad (4.3)$$

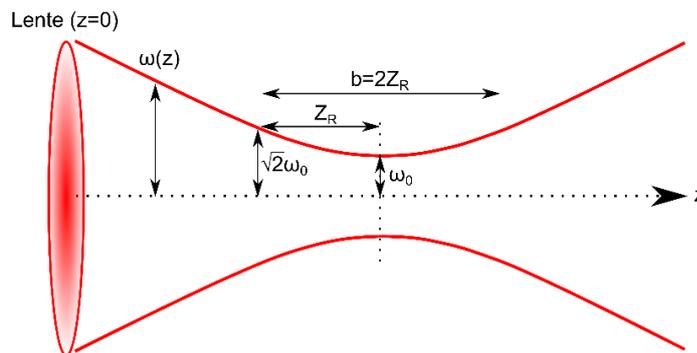


Figura 4.5. Sección de enfoque de un sistema terminado en una lente para un haz gaussiano. Z_R indica la región de Rayleigh, b el parámetro confocal.

Lo descrito anteriormente es válido para los distintos tipos de sistemas OCT. Donde se encuentra la diferencia principal entre los tipos de OCT es en el método de barrido en profundidad para obtener un A-scan. Así, hay dos tipos principales de sistema: el sistema en el dominio temporal (*TD-OCT, Time Domain*) y en el dominio frecuencial o de Fourier (*FD-OCT, Fourier Domain*), que a su vez se divide en sistemas de fuente sintonizable (*SS-OCT, Swept Source*) y de

fuente con frecuencia fija (*SD-OCT, Spectral Domain*). Los distintos sistemas presentan distintas características en cuanto a SNR y velocidad de adquisición, siendo los de dominio de Fourier más rápidos en adquisición y entre estos los SS-OCT los que proporcionan una mayor calidad de señal frente a ruido.

Cómo se ha comentado anteriormente, el patrón de interferencia depende de la diferencia de caminos entre el brazo de muestra y el brazo de referencia. Al utilizar una fuente de gran anchura espectral, el patrón de interferencia será muy estrecho y aparece sólo cuando la distancia en el brazo de referencia y en el brazo de muestra coinciden y además esta distancia está dentro del rango focalizable. Si se modifica la longitud del brazo de referencia, se estará haciendo un barrido hacia el interior del tejido. Los sistemas en el dominio temporal se basan en este principio y se sirven de un espejo móvil para variar la longitud del brazo de referencia y con ello hacer el barrido en profundidad en la muestra. El sistema en el dominio temporal (Figura 4.6) es el más sencillo puesto que la detección se hace con un detector de envolvente y el barrido desplazando el espejo del brazo de referencia. El principal inconveniente es que se debe mover el espejo punto a punto para llegar a toda la profundidad del tejido, lo que alarga el tiempo de captura para cada medida.

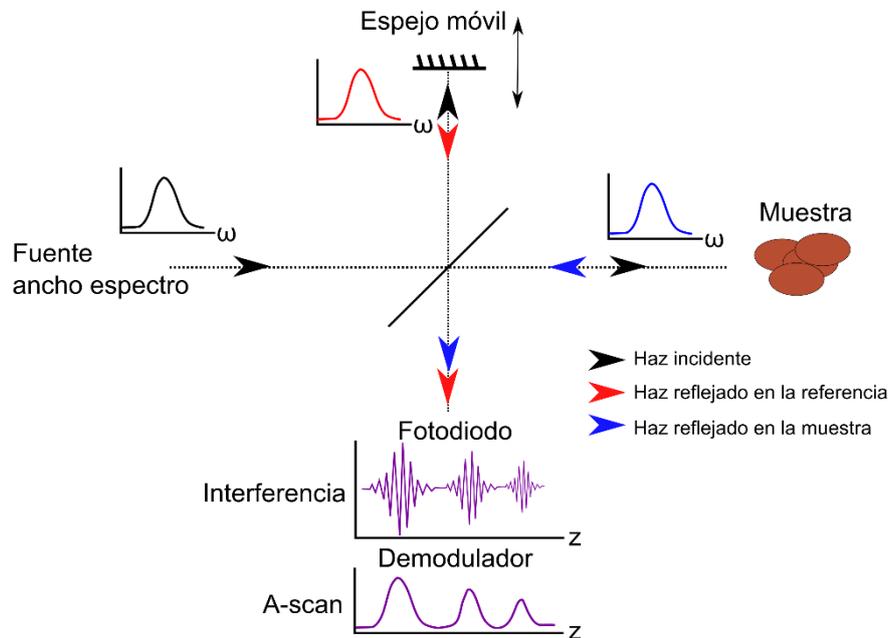


Figura 4.6. Esquema de funcionamiento de un TD-OCT. La señal original es enviada por la fuente de luz y reflejada en el brazo de referencia. Cuando la distancia de referencia y la capa de la muestra coinciden, se produce una interferencia en el fotodiodo. La portadora será λ_0 y la envolvente indica el punto espacial donde se produce la interferencia en la muestra y el nivel de la reflexión [11].

La ecuación que describe la intensidad recibida en el detector es la composición de las amplitudes de la intensidad reflejada en brazo de referencia y en el brazo de muestra. Pero también hay un término que depende de la función de correlación de la fuente y de las diferencias de fase de las señales interferentes. La intensidad recibida en un instante τ será la siguiente [11]:

$$I(\tau) = I_o R_R + I_o \sum_n R_{S_n} + 2I_o \sum_n \sqrt{R_R R_{S_n}} |\gamma(\tau_n)| \cos(\omega \tau_n) \quad (4.4)$$

donde I_o es la intensidad en la fuente, R_R es el coeficiente de reflexión en el brazo de referencia y R_{S_n} es el coeficiente de reflexión en cada n -ésimo elemento reflectivo de la muestra (Figura 4.7). Los dos primeros elementos de la suma son constantes. El tercer elemento representa la

correlación cruzada entre las señales y depende del instante temporal y, por tanto, del barrido en el espejo de referencia. El término $\gamma(\tau_n)$ es el grado de coherencia de la fuente, su autocorrelación de campo eléctrico normalizada:

$$\gamma(\tau) = \frac{\langle E^*(t)E(t+\tau) \rangle}{\sqrt{I_o R_R + I_o R_S}} \quad (4.5)$$

que, siendo una fuente de baja coherencia, tomará valores pequeños cuando el instante τ se aleje del inicial. La amplitud del patrón de interferencia es función de la potencia reflejada, y la anchura de este patrón a altura mitad es igual a la longitud de coherencia de la fuente. Cuanto más incoherente sea la fuente de luz, más estrecho será el pico obtenido en la reflexión, permitiendo discernir reflexiones entre picos más cercanos.

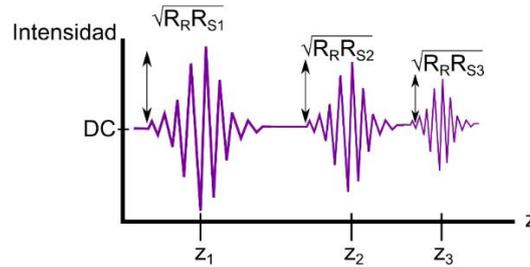


Figura 4.7. Eje de penetración medida a partir de la señal de interferencia. Cuando la distancia en la muestra presenta un cambio de índice a profundidades z_1 , z_2 , z_3 , se produce una reflexión de amplitud R_{S1} , R_{S2} , R_{S3} , respectivamente que interfiere con la señal reflejada en la referencia, R_R . Los pulsos presentan una modulación dada por la longitud de onda de la fuente y una envolvente cuyo ancho se corresponde con la longitud de coherencia de la fuente.

En cuanto al ruido, hay tres fuentes principales en el sistema: la fuente produce ruido de intensidad o RIN; en el detector se produce ruido de disparo o *shot* debido a la recepción espontánea de electrones y aparece también ruido térmico en la resistencia que recibe la intensidad fotodetectada, ya sea la carga o el preamplificador. En general, la fuente de ruido *shot* en estos sistemas genera una mayor densidad de ruido lo que hace a las otras despreciables. Además, el ruido de disparo o *shot* está dominado por la intensidad procedente del brazo de referencia, que aporta más potencia que el brazo de muestra debido a las atenuaciones en la esta última. Por tanto, la potencia de ruido queda de la siguiente forma [9]:

$$\sigma^2 = 2qSR_R B \quad (4.6)$$

siendo q la carga del electrón, S la potencia media en el receptor, R_R la reflectividad del brazo de muestra y B en ancho de banda de la señal eléctrica recibida. La potencia de señal será:

$$I^2 = \rho R_S R_R S \quad (4.7)$$

donde ρ es la responsividad del receptor, R_S y R_R las reflectividades de la muestra y la referencia respectivamente y S la potencia de señal. Con esto, la relación señal a ruido queda de la siguiente forma:

$$SNR = \frac{\rho R_S R_R S}{2qSR_R B} = \frac{\rho R_S}{2qB} \quad (4.8)$$

Por tanto, depende de la reflexión en la muestra pero no en la referencia.

4.1.2.1 Tomografía de coherencia óptica en el dominio de Fourier

Los sistemas OCT en el dominio de Fourier llevan este nombre porque no obtienen directamente el perfil de la muestra en profundidad, sino que lo hace a través de una transformada inversa de Fourier. De esta forma, se elimina el elemento de barrido en profundidad que era necesario en el caso temporal, y se ve sustituido por la variación de frecuencias. Esto hace que los sistemas en el dominio de Fourier sean mucho más rápidos que en el dominio temporal ya que se captura de una sola vez todo el espectro que contiene la información en profundidad. Las modalidades existentes se diferencian en la forma en que se adquiere este espectro, mediante un espectrómetro (SD-OCT) o mediante un barrido de fuente (SS-OCT) (Figura 4.8). El primero utiliza una fuente de ancho espectro y un espectrómetro que separa las longitudes de onda en un elemento receptor CCD. En el caso de SS-OCT, el detector es un único fotodiodo, pero la fuente barre las longitudes de onda del espectro sincronizada por un reloj, de forma que tras la captura se puede reconstruir el espectro, similar al obtenido en el caso SD-OCT.

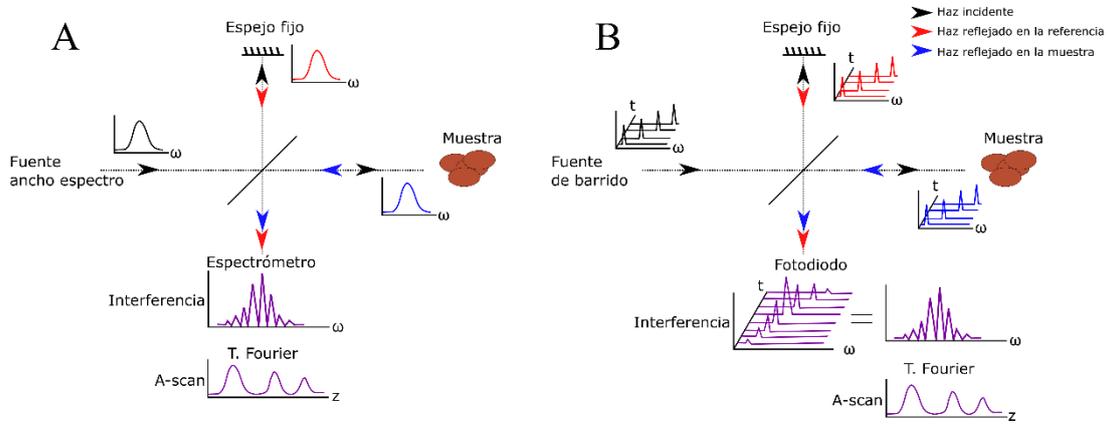


Figura 4.8. Esquemas básicos de los sistemas en el dominio de Fourier: sistema espectral (A) y sistema con fuente sintonizable (B) [11].

Con estas configuraciones se captura el espectro de la interferencia, no su amplitud temporal. Aplicando la transformada inversa de Fourier se pasa del dominio frecuencial al dominio temporal, obteniendo así un perfil de reflexiones similar al del caso temporal. Puesto que la interferencia se hace en el dominio frecuencial, la ecuación que lo describe es la siguiente [11]:

$$\begin{aligned}
 S(\omega) = & S_o(\omega)R_R + S_o(\omega) \sum_n R_{S_n} + \\
 & 2S_o(\omega) \sum_n \sqrt{R_R R_{S_n}} \cos(\omega\tau_n) + \\
 & 2S_o(\omega) \sum_{n \neq m} \sqrt{R_{S_m} R_{S_n}} \cos(\omega\tau_{nm})_o
 \end{aligned} \tag{4.9}$$

donde $S_o(\omega)$ es el espectro de la fuente que sustituye a la intensidad y función de correlación del caso anterior. Además, se añade un término de correlación entre las reflexiones procedentes de distintos elementos en la muestra, que en el dominio temporal se anulaban debido a la baja coherencia de la fuente. Puesto que la transformada del espectro $S_o(\omega)$ de la fuente es la autocorrelación temporal de esta, $\Gamma(\tau)$ (es la función $\gamma(\tau)$ sin normalizar):

$$S_o(\omega) \xrightarrow{\text{TF}^{-1}} \Gamma(\tau) = \langle E^*(t)E(t + \tau) \rangle \tag{4.10}$$

Al aplicar la transformada inversa a la interferencia queda:

$$I(\tau) = \Gamma(\tau)R_R + \Gamma(\tau) \sum_n R_{Sn} + \sum_n \sqrt{R_R R_{Sn}} [\Gamma(\tau) \otimes (\tau \pm \tau_n)] + \sum_{n \neq m} \sqrt{R_{Sm} R_{Sn}} [\Gamma(\tau) \otimes (\tau \pm \tau_{nm})]$$
(4.11)

con lo que al estar convolucionado, en cada reflexión encontrada se traslada la forma temporal de la autocorrelación y, por tanto, de nuevo la resolución es la longitud de coherencia, que es el ancho de esa función de autocorrelación. Las interferencias entre las componentes de las reflexiones ($n \neq m$) se producen a distancias más pequeñas que con la referencia, con lo que en el eje temporal quedan más cerca del origen y son las causantes del ruido de coherencia (Figura 4.9). Por último, se observa el signo \pm , que producirá la imagen conjugada.

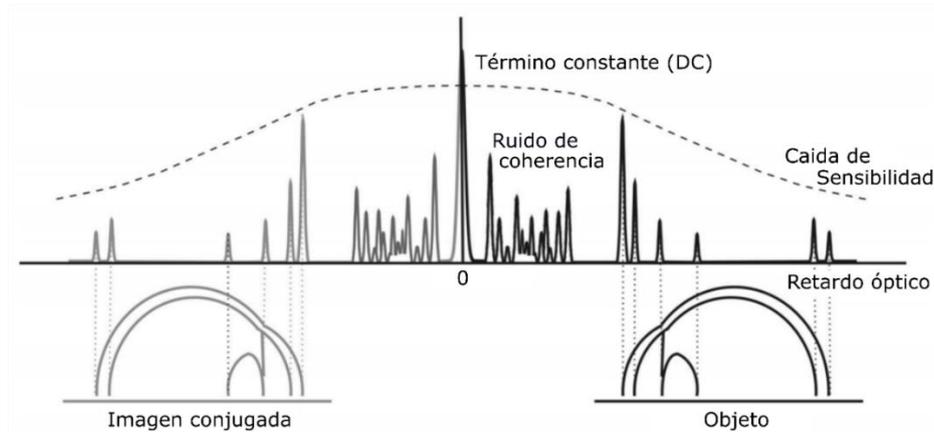


Figura 4.9. Perfil en profundidad o A-scan de un globo ocular tras aplicar la transformada inversa de Fourier a la interferencia espectral. Aparece una parte conjugada debido al proceso matemático. Se identifica el ruido de coherencia (*Coherence Noise*) y la caída de sensibilidad (*Sensitivity Decay*) [11].

Estos sistemas son sensibles al número de elementos espectrales capturados, que vendrá dado por la precisión de la red de difracción en el espectrómetro o por el ancho de línea en la fuente de barrido, según el caso. Esto limita la sensibilidad de medida en profundidad (llamados en inglés *roll-off*, *sensitivity falloff* o *sensitivity decay*). Además, las distintas reflexiones dentro de la muestra producen unos términos de autocorrelación, constituyendo el denominado ruido de coherencia y que tras la transformada de Fourier se sitúa en torno a la profundidad cero (Figura 4.9). Por último, aparece un término constante en esa profundidad cero debido a la diferencia de longitudes entre los brazos, ya que aquí no se modifica la distancia en el brazo de referencia.

La profundidad máxima de penetración en estos casos no viene tanto marcada por la capacidad de focalización de la lente, sino por la discretización del espectro y la pérdida de sensibilidad. La frecuencia de la señal de interferencia se mide en función de la cuantificación de las longitudes de onda. Al hacer la transformada (transformada discreta N-FFT) se tienen las diferentes componentes, debidas a los elementos reflectivos en la muestra. En la Figura 4.10 se representa la señal obtenida para diferentes penetraciones.

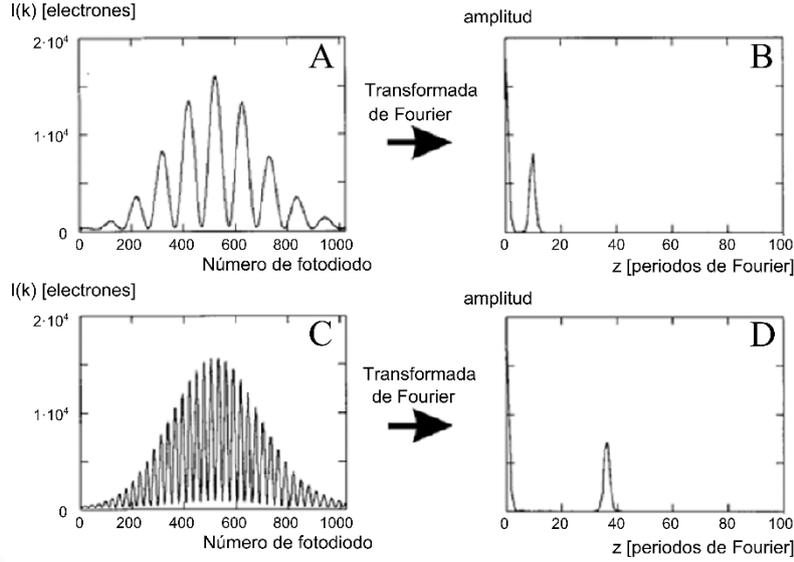


Figura 4.10. Representación de la señal obtenida en el dominio frecuencial para un evento reflexivo presente a diferentes profundidades de penetración. A la izda. la señal de interferencia para una penetración corta (A) y una penetración más elevada (C). A la derecha están su transformadas de Fourier, donde se traduce de periodos de la transformada a profundidad (B y D respectivamente).

El *roll-off* es la pérdida de potencia en función de la penetración. Idealmente, la señal recibida a diferentes profundidades debería ser la misma, pero debido a la cuantificación no es así, afectando más a las profundidades mayores que son las que hacen uso de una frecuencia más elevada y necesitan una cuantificación más fina. La profundidad máxima vendrá marcada por este factor de *roll-off*, limitada por la mayor frecuencia discretizable, que se decide en el número de elementos de discretización. Si el periodo de cuantificación Δk de los elementos (señales en la fuente o pixeles en el espectrómetro, en SS-OCT y SD-OCT respectivamente) expresado en números de onda es [12]:

$$\Delta k = \frac{2\pi\Delta\lambda}{N\lambda_0^2} \quad (4.12)$$

donde N es el número de detectores en el array detector (SD-OCT) o de longitudes de onda en la fuente (SS-OCT); λ_0 y $\Delta\lambda$ son la longitud de onda central y el ancho de la fuente respectivamente. El periodo máximo a digitalizar vendrá marcado por la distancia máxima que se pretenda obtener. Para digitalizar un periodo de números de onda 2π , se necesitan al menos dos puntos por periodo:

$$\Delta k = \frac{\pi}{n \cdot z_{m\acute{a}x}} \quad (4.13)$$

donde n es el índice de refracción del medio, que afectará a la distancia máxima $z_{m\acute{a}x}$ haciendo coincidir ambos términos se obtiene la penetración máxima del sistema [8]:

$$z_{m\acute{a}x} = \frac{1}{4 \cdot n} \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} N \quad (4.14)$$

La discretización también afecta al ruido en los sistemas FD-OCT, reduciéndolo frente a TD-OCT debido a que se recibe en varias frecuencias, ampliando así la potencia [13]:

$$SNR = SNR_{TD} \frac{N}{2} \quad (4.15)$$

El factor N se aplica asumiendo que todas las longitudes de onda tienen igual potencia (espectro de la fuente plano). El factor $\frac{1}{2}$ se debe a que no se trabaja con la potencia del conjugado. Además, los sistemas SS-OCT tienen otra ventaja adicional y es que, frente a las fuentes de SD-OCT y TD-OCT, que deben ser anchas, SS-OCT puede utilizar fuentes láser ya que el gran ancho de banda se consigue a través del barrido y adición de los espectros individuales. Por esta razón, las fuentes en estos sistemas pueden proporcionar mayor potencia y obtener una mejor relación señal a ruido.

4.1.2.2 Tomografía de coherencia óptica sensible a la polarización

Los sistemas descritos anteriormente toman medidas de la intensidad en las reflexiones, que permiten detectar distintos elementos y capas en la muestra. Los sistemas sensibles a la polarización no sólo miden esa intensidad en las reflexiones, sino que además miden diferencias en la polarización entre las componentes de campo transversales. El esquema básico consiste en separar la señal recibida en dos componentes de polarización transversal, S y P y colocar un detector para cada polarización (Figura 4.11). Además, debe haber un control de la polarización en todo el sistema desde la propia fuente.

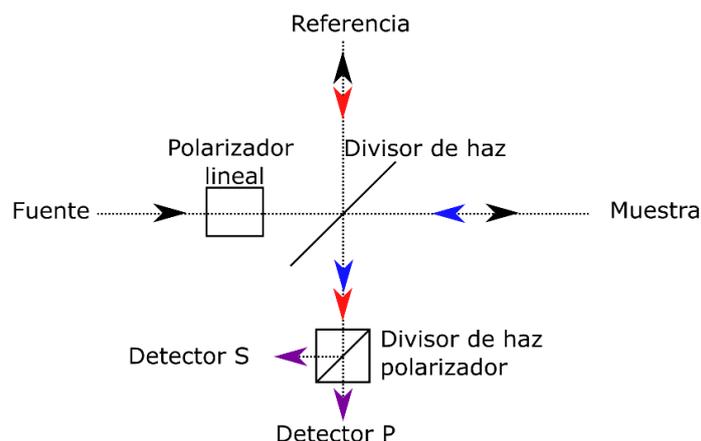


Figura 4.11. Esquema básico de un sistema PS-OCT con dos detectores: polarización vertical (S) y horizontal (P) [8].

Este método permite ver la birrefringencia en el material, lo que significa, que el comportamiento ante la luz es diferente en función de su polarización. De esta forma se pueden observar diferencias de tipo estructural en tejidos, donde la organización de algunos elementos modifica la polarización de la luz de diferente forma según el eje de dicha estructura y el eje de incidencia (Figura 4.12).

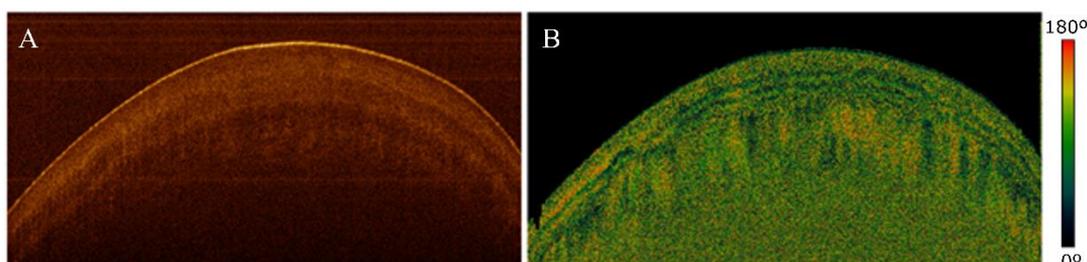


Figura 4.12. Captura en intensidad de reflexión SS-OCT de una uña y dedo humano (A) y captura de PS-OCT (B). En este último se muestran los desfases entre los dos caminos de polarización de 0° (negro) a 180° (rojo).

4.1.2.2 Equipo SS-OCT del Grupo de Ingeniería Fotónica

El equipo OCT disponible en el Grupo de Ingeniería Fotónica es del tipo de fuente sintonizable (SS-OCT). Es un equipo comercial OCS1300SS del fabricante Thorlabs que consta de un módulo de medida en intensidad de reflexión y un módulo de medida en diferencia de polarización. Las principales características del sistema son la longitud de onda de trabajo, 1325 nm con un ancho de banda FWHM superior a 100 nm, penetración de 3 mm, resolución axial (en profundidad) de 12 μm y lateral de 25 μm . La resolución axial y penetración se dan para el aire como medio a medir, aunque los valores efectivos son dichos valores divididos entre el índice de refracción del material a medir.

El equipo está fabricado en tecnología de fibra, utilizando un acoplador para producir la interferencia entre las señales de muestra y referencia (Figura 4.13). Dicha interferencia es detectada en un detector balanceado que aporta mejor detección frente al ruido que un detector simple. El objetivo cuenta con un espejo galvanométrico con 2 ejes para hacer barridos tridimensionales. El sincronismo entre fuente de barrido y adquisición está controlado por un reloj de tipo Mach-Zehnder.

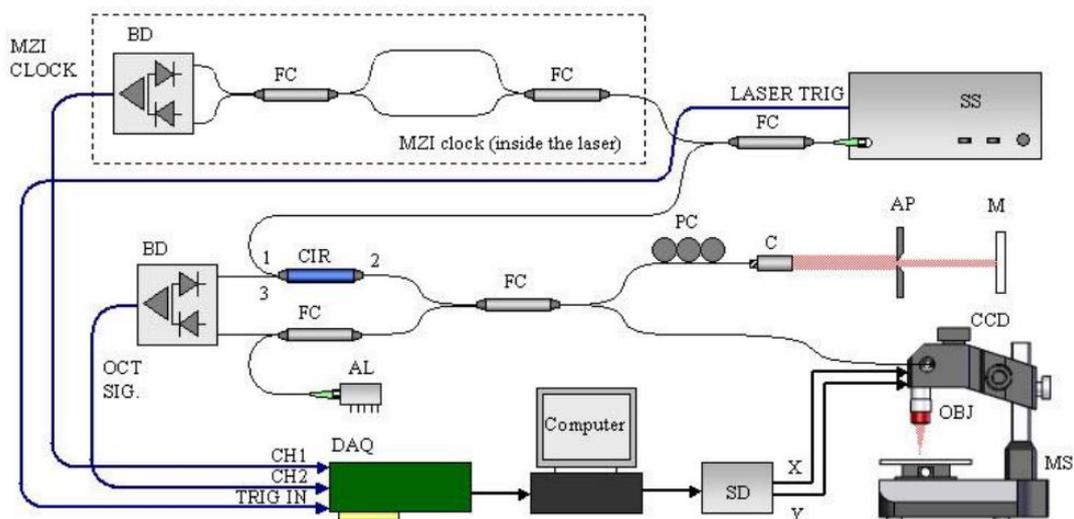


Figura 4.13. Esquema del equipo OCS1300SS. El láser sintonizable (SS) utiliza un interferómetro Mach-Zehnder como referencia de reloj (independiente del interferómetro de Michelson para la aplicación OCT). La detección la hace mediante detección balanceada (BD). El resto de elementos son circuladores (CIR), acopladores (FC), control de polarización (PC), atenuador variable (AP), espejo (M) y control (AL), colimador (C), escáner galvanométrico (SD). Información extraída del manual del equipo.

Las medidas en dos dimensiones se digitalizan en escala de grises o falso color, con una cuantificación para el rango completo de 8 bits (256 niveles). Las dimensiones de captura son de 1024x1024x512 píxeles en lateral, anchura y profundidad respectivamente, que se corresponden con 10x10x3 mm. La medida se puede realizar en escala lineal, tomando el A-scan tal como se recibe, o en escala logarítmica para mejorar la sensibilidad y comprimir el rango dinámico y de representación. El resto de características más relevantes se muestran en la Figura 4.14.

System Specifications		Imaging Specifications	
Optical		2D Cross-Sectional OCT Imaging Capability	
Center Wavelength	1325 nm	Imaging Speed (512 Lines per Frame)	25 fps
Spectral Bandwidth (FWHM)	>100 nm	Maximum Imaging Size	4,000 x 512 Pixels
Axial Scan Rate	16 kHz	Maximum Imaging Width	10 mm
Coherence Length	6.0 mm	Maximum Imaging Depth	3.0 mm
Average Output Power	10 mW	Transverse Resolution	25 μ m
Sensitivity	100 dB	Axial Resolution	12/9 μ m (air/water)
Data Acquisition		3D Volumetric Imaging Capability	
Analog/Digital Conversion Rate	100 MS/s	Maximum Volume Size (L x W x D)	10 x 10 x 3 mm
Analog/Digital Resolution	14 Bit	Maximum Sampling Resolution (L x W x D)	1024 x 1024 x 512 Pixels
Analog Output Channels	2	Imaging Time	Approx. 30 sec
Analog Output Rate	1 MS/s	Video Imaging Capability	
Analog Output Resolution	16 Bit	CMOS Sensor	5.78 x 4.19 mm
Analog Output Channels	4	Maximum Resolution	510 x 492 Pixels
		Imaging Speed	20 fps

Figura 4.14. Resumen de características del equipo OCS1300SS. Información extraída del manual del equipo.

El sistema sensible a la polarización funciona de igual forma, con dos detectores, para la polarización horizontal y vertical. Por la forma en que está diseñado el equipo, no lleva reloj, sino la información de sincronismo queda almacenada tras el uso del sistema de intensidad (Figura 4.15).

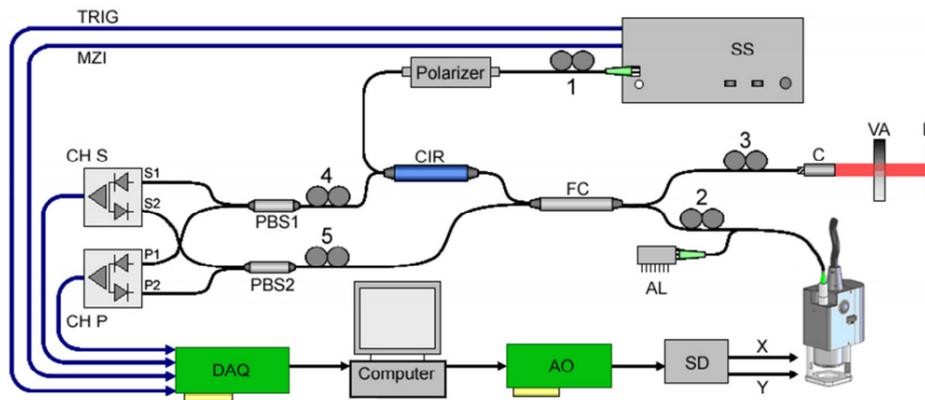


Figura 4.15. Esquema del módulo de medida en polarización. Consta de dos canales: polarización vertical (S) y horizontal (P), con divisores de polarización a su entrada (PBS). Los elementos 1 a 5 son polarizadores para la calibración de la diferencia de polarización entre ambos canales. Información extraída del manual del equipo.

4.2 Imagen OCT y procesado

En el área del diagnóstico médico hay multitud de técnicas que producen diferentes tipos de imagen. Cualquier tipo de imagen, una vez digitalizada, se corresponde con una matriz en dos o más dimensiones, donde cada pixel reproduce una intensidad digitalizada. Dicha intensidad, puede provenir de una luz reflejada, de radiofrecuencia, ultrasonidos, etc. En cualquier caso, generalmente la información más relevante no se encuentra en los valores de intensidad en cada pixel, sino su relación con otros pixeles adyacentes y el resto de la imagen.

La procedencia de los datos está ligada a las propiedades del tejido y su interacción con la técnica de interrogación aplicada. La interpretación de las características de la imagen, expresadas en diferentes niveles de intensidad, no se pueden explicar sin conocer la respuesta de la tecnología a ciertos tipos de material, por lo tanto, es esencial conocer tanto la técnica como el tejido. Una vez establecidos los parámetros relevantes, ya sean niveles de intensidad, formas específicas en la imagen u otras, es necesario establecer un protocolo de análisis de la imagen para identificar estos patrones. En sistemas de visión humana, el médico especialista es entrenado para interpretar las imágenes, aprendiendo patrones que ayudan a reconocer regiones y eliminar otras que resulten irrelevantes para el diagnóstico. En el caso de los sistemas de visión artificial, el proceso es análogo al seguido por el especialista y sigue los mismos pasos. Sin embargo, la definición de los pasos debe ser más minuciosa para trasladar los criterios utilizados por el especialista en criterios automatizables en condiciones de ruido, rotación de la imagen, diferencias de tamaño, etc. En este punto, independientemente de la técnica de adquisición, el procesado para extraer características diagnósticas consiste en el procesado matricial. El proceso general consiste en la aplicación de una serie de pasos, adaptados al tipo de imagen obtenida. Estos pasos son procesado previo o pre procesado, segmentación de regiones en la imagen y extracción de características a partir de dichas regiones.

4.2.1 Formación de imagen OCT

La construcción de imagen OCT se hace a partir de una señal interferométrica recibida en el fotodetector como campo eléctrico (Figura 4.16 A). Al aplicar la transformada de Fourier se obtiene el perfil de un A-scan (Figura 4.16 B). Típicamente se aplica el logaritmo (Figura 4.16 C) como forma de ecualización, lo que comprime el rango dinámico y se realzan los valores pequeños, ganando en sensibilidad frente a la respuesta lineal. Puesto que el paso es de campo eléctrico a potencia, para obtener la potencia retro esparcida se aplica un factor de 20 a este logaritmo. Por tanto, la señal queda como:

$$i^2(dB) = 20 \cdot \log_{10} \left(FFT(I(\omega)) \right) \quad (4.16)$$

Una vez dado este paso, se unen los A-scan adyacentes para conformar una imagen o B-scan (Figura 4.16 D), que representa los niveles de intensidad medidos en los A-scan procesados. El eje de profundidad conlleva una traducción directa de puntos en el eje temporal a distancia de penetración gracias al diferente retardo producido en la señal de interferencia.

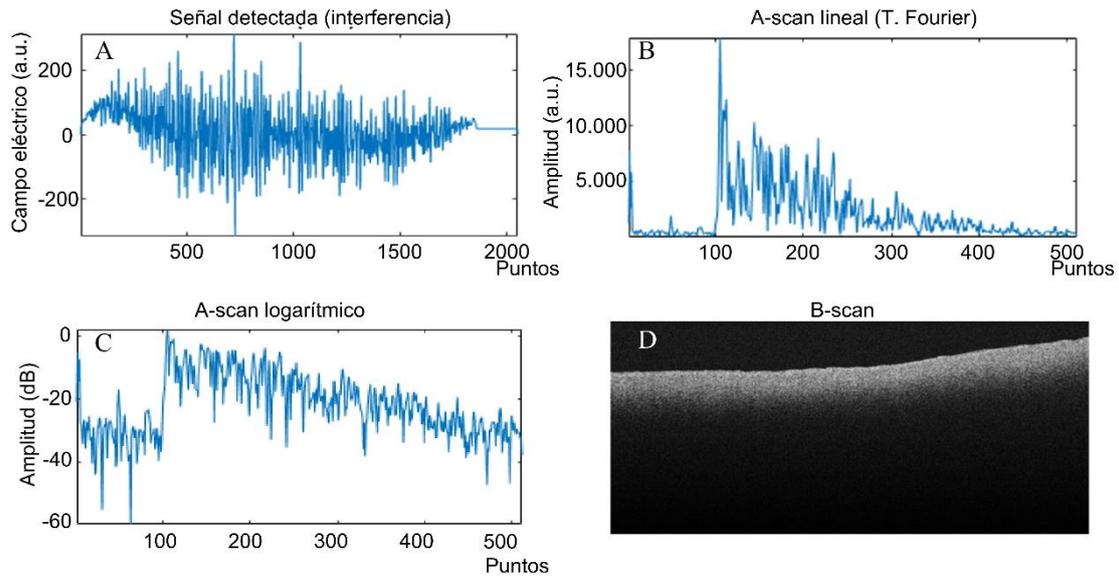


Figura 4.16. Proceso de formación de un A-scan y B-scan a partir de la medida interferométrica (A). Tras aplicar la transformada de Fourier (B), se aplica el logaritmo para equalizar los niveles de potencia (C) y a partir de estos se forma imagen en un B-scan (D).

4.2.1.1 Características generales de imagen OCT

La imagen OCT se conforma mediante niveles de intensidad de luz retro esparcida y detectada por un fotodetector. La medida física se tomará en magnitudes de campo eléctrico, que será transformada a intensidad fotodetectada. Esta será función de diferentes factores ópticos, desde la fuente hasta el detector pasando por la muestra, y eléctricos en el detector optoelectrónico. Es en estos pasos donde se consigue una buena relación señal a ruido y un buen rango dinámico en la medida. Una vez la señal es fotodetectada, se adecua al rango de representación entre 0 y 256 niveles (8bits) y se pierde toda información física. A partir de este momento, la información restante es una imagen en escala de grises u otro mapa de representación. Según este esquema de representación, el mínimo nivel de intensidad detectado será 0, representado en negro, y el máximo será 255, representado en blanco (Figura 4.17 A). Otros mapas de color en composición de colores RGB (adición de colores rojo, verde y azul, en inglés *Red, Green, Blue*) pueden resultar más fáciles de interpretar o destacan mejor las diferencias de cara a la visualización, aumentando el número de colores o niveles de 2^8 en escala de grises a 256^3 en RGB. Las imágenes tomadas con el OCT se representan con un mapa de color de degradación de amarillos (Figura 4.17 B).

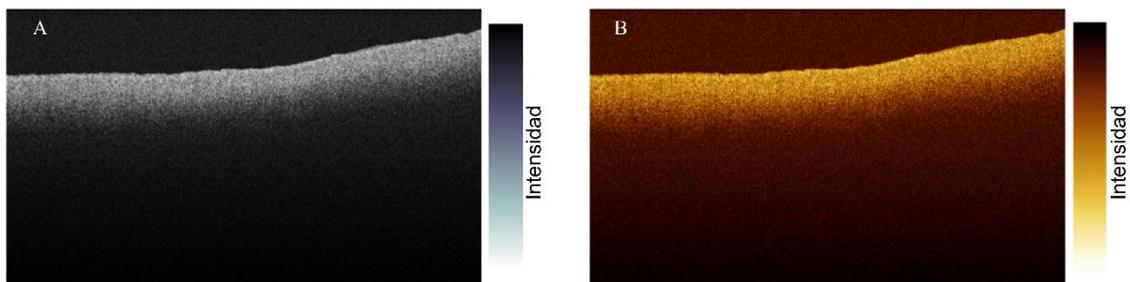


Figura 4.17. Imagen OCT de una arteria representada con dos mapas de color diferentes: escala de grises (A) y degradación de amarillos (B).

Estructuralmente, la imagen OCT se toma desde la superficie de la muestra hacia el interior de esta, capturando una región de aire antes de la propia superficie del tejido ya que no está en contacto con la instrumentación. Hacia el fondo de la imagen va perdiendo intensidad debido a la atenuación de la luz en el tejido. Este efecto se aprecia claramente en el A-scan (Figura 4.18). Aunque su efecto es a priori perjudicial porque disminuye la penetración efectiva, la pendiente con la que la intensidad se atenúa se debe a las propiedades del tejido y se convierte en un biomarcador del mismo que se puede medir mediante OCT.

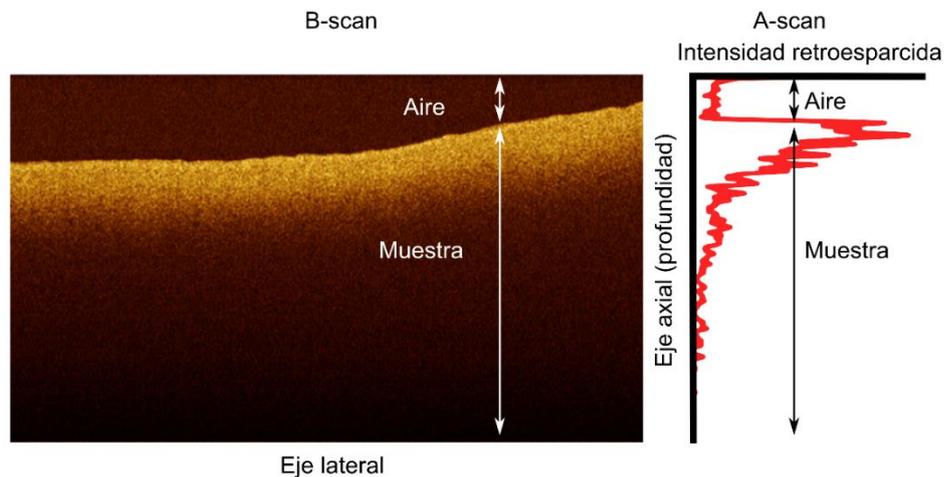


Figura 4.18. Interpretación de regiones en un A-scan y en un B-scan. La zona de aire no proporciona información acerca de la muestra.

En cuanto a las propiedades de la imagen como tal, aparecen diferentes efectos que degradan la calidad de cara a un futuro procesado y análisis. En primer lugar, se aprecia un ruido moteado en toda la imagen, siendo más visible en las partes oscuras (aire y profundidad de la muestra). Este ruido se debe a la alta sensibilidad del sistema OCT al fenómeno de moteado o *speckle* debido a la dispersión múltiple y al fenómeno de interferencia por el que se conforma la imagen (Sección 2.2.3.2). La forma de evitar este tipo de ruido es principalmente el correcto ajuste durante el proceso de medida. Por una parte hay que maximizar la señal de la región de interés y por otra, hay que ajustar el rango de representación de forma que la intensidad de ruido recibida en el fotodetector no se represente en el rango de intensidades. Esto es, establecer el mínimo de intensidad por encima del ruido, o al menos la mayor parte de éste.

4.2.1.2 Artefactos de medida en OCT

Junto con el ruido hay diferentes artefactos que se deben a diferentes causas. Las líneas horizontales en la imagen se deben al ruido de coherencia (Figura 4.19 B) que se produce en los equipos de tipo barrido de fuente (SS-OCT) tras aplicar la transformada de Fourier. Se elimina estableciendo el nivel de ruido de oscuridad. Las líneas verticales se deben a que se está produciendo una fuerte reflexión especular en la superficie de la muestra en esa posición (Figura 4.19 D). Al ser la reflexión especular, prácticamente toda la potencia enviada a la muestra rebota en la superficie y vuelve al detector sin penetrar en la muestra y por tanto sin perder potencia. Al no penetrar en la muestra, en toda la profundidad de esta línea vertical no se aporta ninguna información acerca de la muestra.

Otro fenómeno relacionado con la reflexión son las balsas de suero salino u otros medios de conservación de las muestras. Se aprecia la superficie de la balsa que produce una reflexión, a

continuación, el suero resulta transparente y por último se ve la muestra (Figura 4.19 D). En ocasiones, en estas balsas también se produce una reflexión especular. Su efecto negativo no vas más allá de entorpecer la delineación de la superficie de la muestra.

Por último, el efecto de la pérdida de sensibilidad con la profundidad puede hacerse evidente demasiado cerca de la superficie (Figura 4.19 C). Esto hace que no se obtenga información más que de apenas unas micras. En general, se obtiene más penetración maximizando la sensibilidad, lo que aumenta el ruido, por lo que hay que llegar a un nivel de compromiso entre ambos. Si la penetración es excesivamente corta, se debe a que hay suciedad en algún conector de fibra del equipo o a que no se ha establecido el rango de intensidades de forma adecuada.

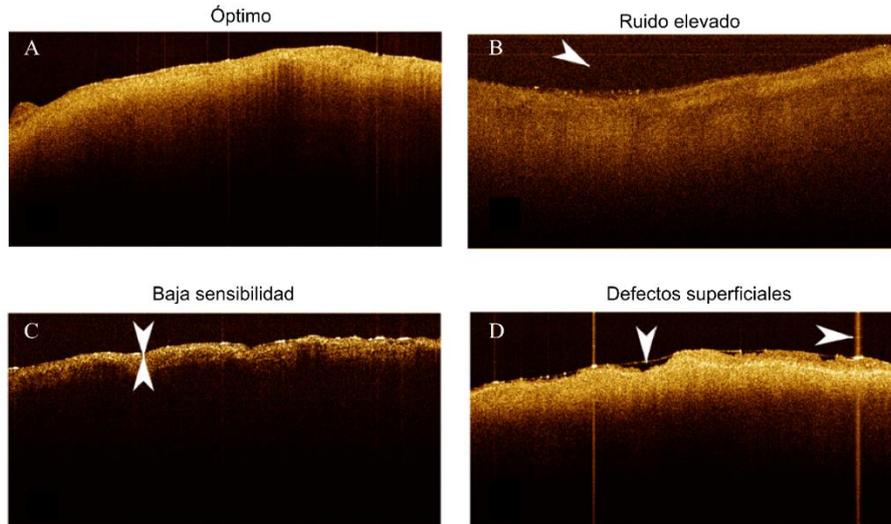


Figura 4.19. Artefactos más comunes en imágenes OCT [14].

4.2.1.3 Efecto del índice de refracción en el camino óptico

Las dimensiones del eje de profundidad captan el retardo respecto al brazo de referencia y este retardo es convertido a distancias. La luz a una longitud de onda λ_0 y una frecuencia f se propaga a una velocidad c en el vacío:

$$c = \lambda_0 f \tag{4.17}$$

Sin embargo, fuera del vacío la velocidad de la luz se ve reducida por el índice de refracción del medio:

$$v = \frac{c}{n} \tag{4.18}$$

siendo n el índice de refracción del medio, que es a su vez dependiente de la longitud de onda. Por este motivo, la velocidad de la luz se ve reducida en un factor $1/n$, donde $n_r=1$ en el caso del brazo de referencia y $n_m>1$ en el de la muestra, produciendo una modificación en penetración total del sistema en un factor n_r/n_m . En la Figura 4.20 se muestra este efecto con dos cubetas de la misma dimensión, una rellena de aire y la otra de agua. En la segunda cubeta, la profundidad real, z , se ve incrementada en un factor de 1,33 debido al índice de refracción del agua.

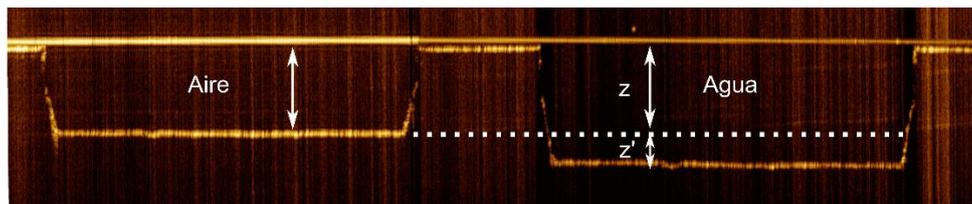


Figura 4.20. Distorsión del eje de profundidad en OCT debido al índice de refracción de la muestra en una cubeta con agua comparado con una cubeta con aire: z representa la dimensión en aire y z' el incremento debido a la diferencia de índice de refracción del agua.

Por tanto, las dimensiones en el eje de profundidad han de ser corregidas en la imagen (Figura 4.21). La dimensión vertical se corresponde con 512 píxeles para digitalizar 3 mm ($3 \cdot 10^3 \mu\text{m}$), que se verá reducido a $3/n$ mm. Así, se tiene una resolución en profundidad por píxel:

$$\Delta z = \frac{3 \cdot 10^3}{512} = \frac{1}{n} 5,85 \mu\text{m}/\text{pixel} \quad (4.19)$$

En el caso de la aorta, el índice de refracción aproximado es 1,35 y 1,38 para la capa íntima y media respectivamente, medido a 800 nm [15]. Para 1325 nm habrá una pequeña variación, pero esto deja unas resoluciones de 4,34 a 4,24 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ respectivamente. Hay que reseñar que ésta no es la resolución óptica del equipo, sino la resolución en la imagen tras el proceso de digitalización.

En el eje lateral, la resolución se mantiene constante, dada por la apertura numérica de la lente. El tamaño típico de adquisición es de 10 mm capturados con 1024 píxeles, dando una resolución:

$$\Delta x = \frac{10 \cdot 10^3}{1024} = 9,76 \mu\text{m}/\text{pixel} \quad (4.20)$$

En determinadas condiciones, el equipo permite capturar hasta 4096 píxeles para esos 10 mm, lo que da una resolución de 2,44 $\mu\text{m}/\text{pixel}$.

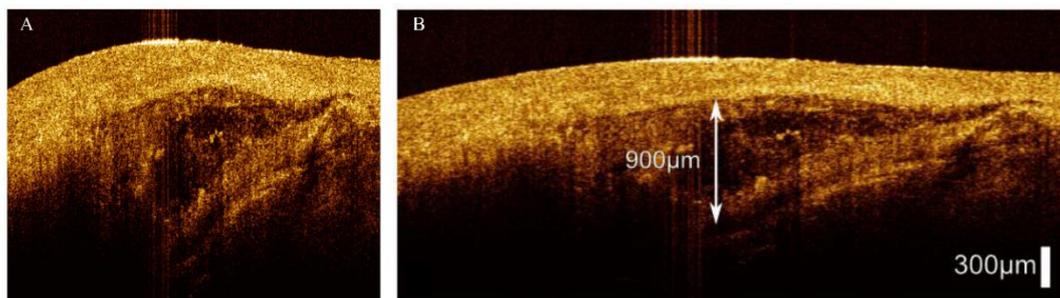


Figura 4.21. Imagen capturada en el equipo antes (A) y después de la corrección de dimensiones (B). El segundo caso permite medir dimensiones físicas con precisión.

4.2.1.4 Dispersión de punto y pérdida de sensibilidad

La función de dispersión de punto (PSF, del inglés *Point Spread Function*) es la deformación producida por la dispersión de un punto en un sistema óptico. El sistema OCT lleva una lente al final del sistema de medida. Esta lente causa dicha deformación produciendo un desenfoque de la imagen a medida que se aleja del foco de la lente. Dicho desenfoque $h(z)$ en el eje axial viene descrito por la siguiente expresión [16]:

$$h(z) = \frac{1}{\left(\frac{z}{Z_R}\right)^2 + 1} \quad (4.21)$$

siendo z la distancia al punto focal y Z_R la distancia de Rayleigh aparente de la lente, que viene definida a partir de la distancia de Rayleigh, Z_0 , para un haz Gaussiano:

$$Z_R = \alpha \cdot Z_0 = \alpha \cdot \frac{\pi \cdot n \cdot \omega_0^2}{\lambda} \quad (4.22)$$

donde ω_0 representa el radio del punto o *spot* a la distancia focal. El factor α se aplica para corregir el efecto de trabajar con una reflexión especular ($\alpha=1$) como es un espejo, o una reflexión difusa ($\alpha=2$) como son los tejidos.

Aparte de la dispersión de punto, y como se ha comentado, el sistema SS-OCT está afectado por el factor de pérdida de sensibilidad en profundidad, o *roll-off*, debido a la digitalización de las altas frecuencias. Tanto la PSF, $h(z)$ debida a la lente, como el factor de *roll-off*, $P(z)$ debido a la digitalización, forman parte de la respuesta del sistema OCT y producen una pérdida de información y sensibilidad a medida que se avanza hacia el interior de la muestra. Por lo tanto, cuando se realiza una medida empírica de la PSF se está incluyendo a su vez la medida del factor de *roll-off*. En la ecuación anterior no se modela por tanto $h(z)$, sino $h(z) \cdot P(z)$.

Puesto que esta respuesta afecta a todas las medidas tomadas con el sistema, se ha caracterizado en el laboratorio para poder aplicar fielmente la corrección descrita en (4.20). Para esto, se coloca un espejo en el punto focal inclinado levemente respecto a la perpendicular de la lente (en este caso $6,36^\circ$). De forma que se evita la reflexión completamente especular que saturaría el receptor. A continuación, se aleja la muestra de la distancia focal en ambos sentidos para barrer el parámetro z y se captura el nivel de potencia (Figura 4.22), para ajustar la curva por la expresión para el cálculo de $h(z)$.

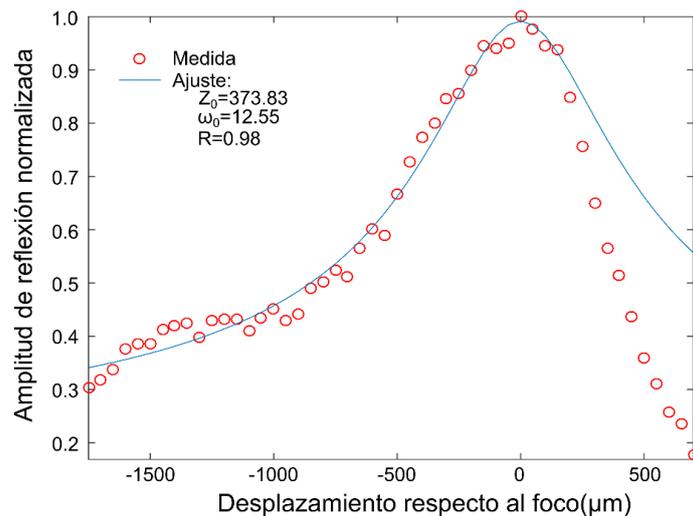


Figura 4.22. Medida del parámetro PSF mediante barrido de distancia con una superficie reflectiva. El nivel de potencia sigue la tendencia expresada en la ecuación 4.20. El ajuste de los puntos por la ecuación 4.20 y 4.21 para una superficie reflectiva ($\alpha=1$) proporciona los valores empíricos de la distancia de Rayleigh. La superficie se encuentra inclinada $6,36^\circ$ para evitar la reflexión especular, lo cual distorsiona una parte de la curva.

Tras el ajuste se obtiene unos valores de radio del punto de 12,5 μm para una distancia de Rayleigh, Z_o , de 373 μm . Según las características de la lente del equipo OCT (LSM03 Thorlabs), la distancia de Rayleigh es de 270 μm y el radio de 12,5 μm . Hay que considerar que esta medida no recoge solamente la dispersión del punto, también incluye el factor de roll-off, que produce un efecto de estrechez del radio con la profundidad.

4.2.1.5 Caracterización de la atenuación de la muestra

La señal recibida en el sistema OCT, proporcional a la corriente fotodetectada $i(z)$, representa la respuesta en la muestra que sigue la ley de Beer-Lambert:

$$\begin{aligned} i^2(z) &= R(z) = R \cdot I_o \cdot e^{-2\mu_t z} \\ i(z) &= \sqrt{R(z)} = \sqrt{R \cdot I_o \cdot e^{-2\mu_t z}} \end{aligned} \quad (4.23)$$

donde R representa el factor de la potencia I_o incidente que llega al tejido; z representa la penetración en el tejido; μ_t la atenuación del tejido y el factor 2 es debido a que la luz recorre el doble camino una vez que es retro esparcida. A esta respuesta hay que añadirle la respuesta del sistema, incluyendo la PSF $h(z)$ y el factor de roll-off $P(z)$ descritos anteriormente.

$$\begin{aligned} i^2(z) &= h(z) \cdot P(z) \cdot R(z) \\ i(z) &= \sqrt{h(z) \cdot P(z) \cdot R(z)} \end{aligned} \quad (4.24)$$

Para obtener el coeficiente de atenuación de la muestra es necesario considerar la respuesta del sistema, modificando la señal OCT de la ecuación 4.22 para incluir esta respuesta:

$$i(z) = \sqrt{h(z) \cdot P(z) \cdot R(z)} = \sqrt{R \cdot I_o \cdot \frac{e^{-2\mu_t z}}{\left(\frac{z}{z_R}\right)^2 + 1}} \quad (4.25)$$

4.2.2 Técnicas de pre procesado

Las técnicas de pre procesado consisten en la adecuación de la imagen para el procesado posterior, modificando niveles de intensidad para mejorar el rango de representación, realzar bordes o características y eliminar ruido (Figura 4.23). Además, se deberán corregir los errores o artefactos de medida típicos del sistema de adquisición. Dentro de las operaciones de pre procesado, se suele comenzar normalizando la imagen por su valor máximo y ecualizando el histograma. De esta forma se aprovecha al máximo el rango de representación o digitalización. En el caso del equipo OCT, ya se aplica el logaritmo a la señal del A-scan lo que actúa como ecualización. Además, se adecúa el nivel de señal al nivel de representación entre 0 y 255 niveles para la representación en 8 bits.

El siguiente paso consiste en la reducción de ruido, típicamente mediante la aplicación de filtros. El proceso de filtrado consiste en sustituir el valor de cada pixel por un valor que es función de los valores adyacentes. Los filtros más comunes son el filtro media móvil, Gaussiano y mediana. En ocasiones se utilizan técnicas de realce, como filtros específicos que ayudan a resaltar los bordes en la imagen de cara a una búsqueda de bordes posterior. También se pueden utilizar *wavelets* (traducido al castellano como ondículas) o la transformada de Fourier, que permiten descomponer la imagen, filtrar el ruido en una componente específica y reconstruir de

nuevo la imagen. Para cada aplicación concreta, es más conveniente un tipo de procesado previo, aunque a grandes rasgos las etapas son comunes.

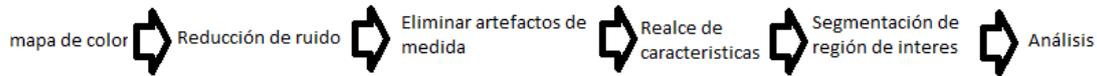


Figura 4.23. Esquema básico de las etapas de pre procesado de imágenes de cara al análisis.

4.2.2.1 Conversión de mapa de color

La imagen OCT se captura en formato de tres canales RGB (Sección 4.2.1.1) para facilitar su visualización. Para el procesado en niveles de intensidad, se convierte a un único canal en escala de grises mediante una regla de conversión genérica:

$$I = 0.2989 \cdot R + 0.5870 \cdot G + 0.1140 \cdot B \quad (4.26)$$

donde I representa el nivel de intensidad de cada pixel y R , G y B representan la intensidad de los canales de color rojo verde y azul respectivamente de dicho pixel.

4.2.2.2 Reducción de ruido

Esta etapa es necesaria en algunos casos, pero perjudicial en otros. Si la señal deseada presenta niveles altos en comparación con el ruido puede resultar innecesaria. Si por el contrario, el ruido es muy elevado, puede tener una gran influencia en la imagen y eliminarlo supondría estropear la imagen de cara al procesado posterior. En el pre procesado que se ha llevado a cabo en este documento, por norma general, el filtrado de ruido se aplica para mejorar la segmentación, pero no se aplica una corrección en la imagen de cara al procesado posterior y la extracción de características.

Un procesado muy sencillo consiste en aprovechar el mapa de representación de color de la imagen. En el caso de representación RGB, las partes más blancas contienen una composición elevada de componentes R, G y B. En la representación con el mapa de color utilizado en las medidas del equipo OCT, la componente azul apenas se utiliza salvo, precisamente, para aquellas partes más claras. Por esta razón, el ruido, de nivel más bajo que la señal, apenas tiene componente azul y ésta es una buena forma de remarcar la superficie más brillante de la muestra (Figura 4.24) [17], [18].

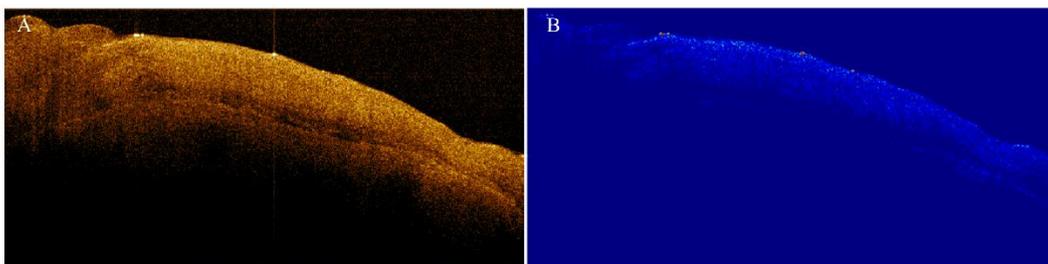


Figura 4.24. Imagen OCT (A) y su componente azul (b) representada en falso color.

El método anterior es novedoso, muy sencillo y no se puede considerar un proceso de filtrado convencional. Típicamente, el filtrado de ruido se hace mediante la convolución de la imagen por

un núcleo o *kernel*, h , generado de diferentes formas (Figura 4.25). El filtro más sencillo consiste en el promedio o media móvil. El valor de cada pixel será sustituido por la intensidad promedio de los pixeles que se encuentren a un radio r de dicho pixel. Esto suaviza la imagen, eliminando puntos de ruido aislado, pero igualmente hace que la imagen pierda definición cuando r crece demasiado. Los filtros *sharpen* o que mejoran la definición del borde, realzan la diferencia entre pixeles en lugar de promediar. En el caso de las imágenes OCT, debido al elevado ruido ninguno de estos filtros es conveniente.

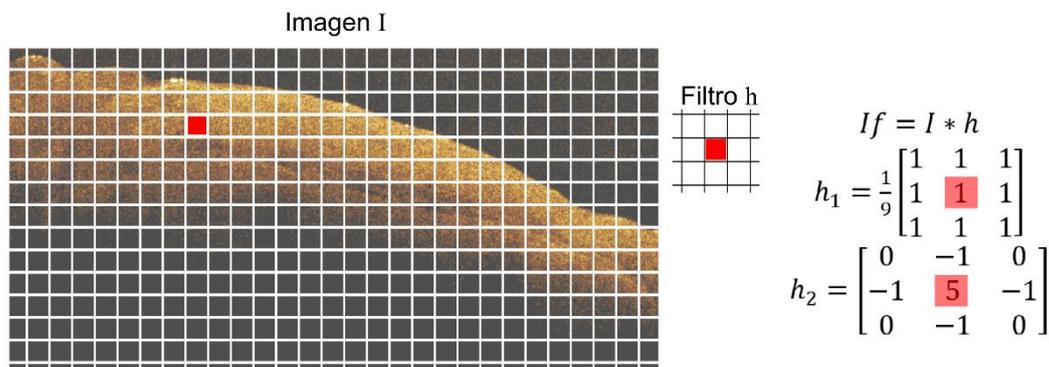


Figura 4.25. Proceso de filtrado con radio $r=1$. Para cada pixel, se asigna un nuevo valor función de los pixeles en un radio r de este. En el caso del filtro media móvil, h_1 , el valor del pixel central será la media de todos ellos. En el caso del filtro *sharpen*, h_2 , el valor central es realzado.

Cuando el filtrado está dedicado a realzar las fronteras del tejido frente al aire, el filtro mediana de dimensión no uniforme da buenos resultados [19]. Un filtro mediana es similar a un filtro media móvil, salvo que el valor aplicado es la mediana de todos los valores en un radio r . Si el filtro tiene forma cuadrada, en las zonas de la interfaz entre aire y muestra habrá tantos pixeles de aire como de muestra y la superficie quedará suavizada. Puesto que la superficie de la muestra establece una frontera generalmente horizontal, si se aplica un filtro con forma alargada en el sentido horizontal se está forzando a mantener el nivel de intensidad de la línea horizontal. Si es una región de aire, aire, si es de muestra, muestra. En la Figura 4.26, se aprecia cómo, a pesar de no tratarse de superficies perfectamente horizontales, este filtrado proporciona un realce de la superficie.

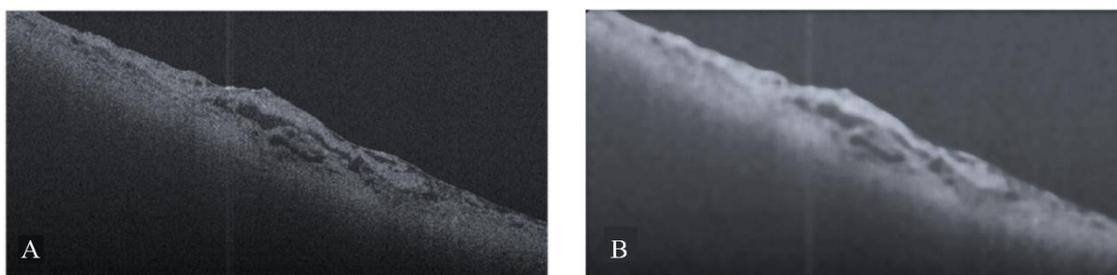


Figure 4.26. Imagen en escala de grises (A) y aplicación del filtrado mediana de dimensión horizontal doble a la vertical (B).

4.2.2.3 Corrección de artefactos de medida

La corrección de artefactos se aplica de forma independiente para cada tipo de artefacto. En primer lugar, la detección de balsas de salino se encuentra en la superficie y afecta a la delineación del

interfaz entre aire y muestra. Esta, consiste en una fina línea producida por la reflexión en la superficie del suero salino y se elimina fácilmente al aplicar el filtro de mediana mencionado anteriormente (Figura 4.27).

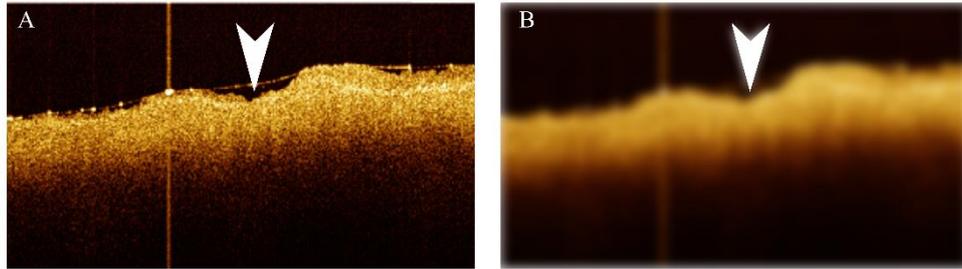


Figura 4.27. Balsa de salino antes (A) y después del filtro de mediana (B).

Los artefactos más perjudiciales son los producidos por la reflexión especular en la superficie de la muestra, que afectan a toda una línea vertical en la imagen. La detección se hace comparando el nivel de intensidad del artefacto, que será elevado, con la región de aire, que presenta el menor nivel de intensidad en la imagen. En la región de aire sobre la muestra, se calcula la distribución de valores de intensidad para establecer un umbral. El artefacto es detectado cuando se supera este umbral en un valor determinado. Para ajustarlo al nivel de intensidad de la imagen, se establece el umbral de detección de artefactos como:

$$I_a = Q_3 + k \cdot RQ \quad (4.27)$$

donde RQ representa el rango intercuartil, esto es, el rango de niveles de intensidad entre el primer cuartil (Q_1 , 25% de las muestras superan esta intensidad) y el tercer cuartil (Q_3 , 75% de las muestras superan esta intensidad) [20]. Una vez detectado el artefacto, se puede eliminar o interpolar su valor (Figura 4.28). Para este interpolado, la forma más sencilla es aplicar un filtrado de tipo media móvil en la región eliminada.

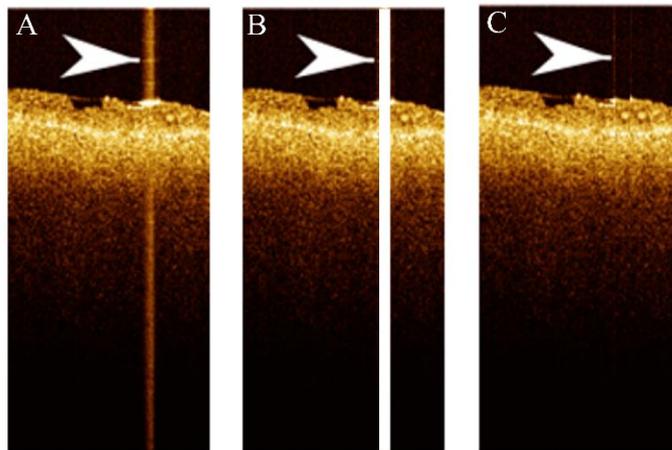


Figura 4.28. Artefacto debido a una reflexión superficial (A) y su eliminación (B) o interpolación (C).

4.2.2.4 Realce de bordes

La construcción de filtros puede resultar más compleja que la aplicación de operaciones lineales sobre los píxeles adyacentes. Al aplicar cualquier transformación de este tipo, se pretende modificar la intensidad de la imagen, concretamente para reducir el ruido. Pero un efecto no

deseado de aplicar estos filtrados es que se modifica también la fase, que implica el cambio de valores de intensidad entre pixeles adyacentes. Esto provoca que se difuminen los bordes y se pierda calidad en la imagen. Hay diferentes tipos de núcleos de cara a la convolución que ofrecen diferentes prestaciones para preservar la información de fase o de alta frecuencia que se encuentra en los bordes o intersecciones de la imagen, eliminando el ruido de baja frecuencia.

En concreto, los filtros de Gabor, $h(x,y)$ en dos dimensiones están basados en las *wavelets* de Gabor. Estos filtros están definidos por una envolvente Gaussiana, $g(x,y)$, con una portadora sinusoidal, $s(x,y)$ [21],[22]:

$$h(x, y) = s(x, y) \cdot g(x, y) \quad (4.28)$$

En dos dimensiones, x e y , la función Gaussiana queda descrita por la siguiente ecuación para desviaciones estándar σ_x y σ_y respectivamente [21]:

$$g(x, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_x\sigma_y}} e^{-\frac{1}{2}\left[\frac{(x-x_0)^2}{\sigma_x^2} + \frac{(y-y_0)^2}{\sigma_y^2}\right]} \quad (4.29)$$

Esta Gaussiana actúa de envolvente de una portadora sinusoidal bidimensional de frecuencias u_0 y v_0 en los ejes x e y respectivamente:

$$s(x, y) = e^{-j2\pi[u_0x+v_0y]} \quad (4.30)$$

Este filtro expresado en el dominio de Fourier consiste en la modulación del espectro de la forma Gaussiana a la frecuencia indicada por la señal sinusoidal, lo cual sigue la siguiente ecuación (Figura 4.29) [21]:

$$\begin{aligned} H(u, v) &= G(u - u_0, v - v_0) = \\ &= 2\pi\sigma_x\sigma_y e^{-2\pi[\sigma_x^2(u-u_0)^2 + \sigma_y^2(v-v_0)^2]} \end{aligned} \quad (4.31)$$

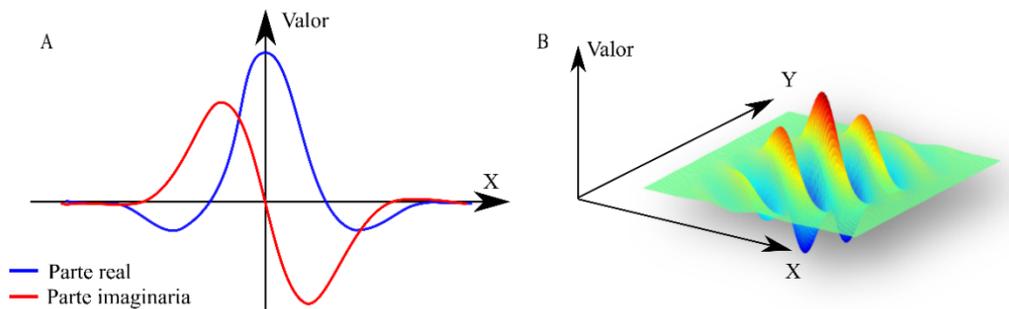


Figura 4.29. Representación en unidades arbitrarias del filtro de Gabor simétrico, esto es, a ambos lados del punto central el filtro se comporta de forma simétrica. Se puede aplicar en una dimensión (A) o en dos dimensiones (B).

Una modificación de estos filtros es el filtro de Gabor logarítmico, que permite obtener filtros que dejen pasar mejor la frecuencia intermedia, eliminando la baja frecuencia, o cambios suaves en la imagen debidos al ruido, respetando la alta frecuencia presente en los bordes. Estos filtros se llaman así porque su respuesta en frecuencia sigue una forma logarítmica, quedando de la siguiente forma [23]:

$$H(w) = e^{\left(\frac{-\log\left(\frac{w}{w_0}\right)^2}{2\log\left(\frac{k}{w_0}\right)^2} \right)} \quad (4.32)$$

Siendo w_0 la frecuencia central del filtro y término k permite seleccionar el ancho del filtro. La respuesta de este filtro se puede ver en la Figura 4.30 B, para el realce los bordes presentes en la imagen y en un A-scan (Figura 4.30 C).

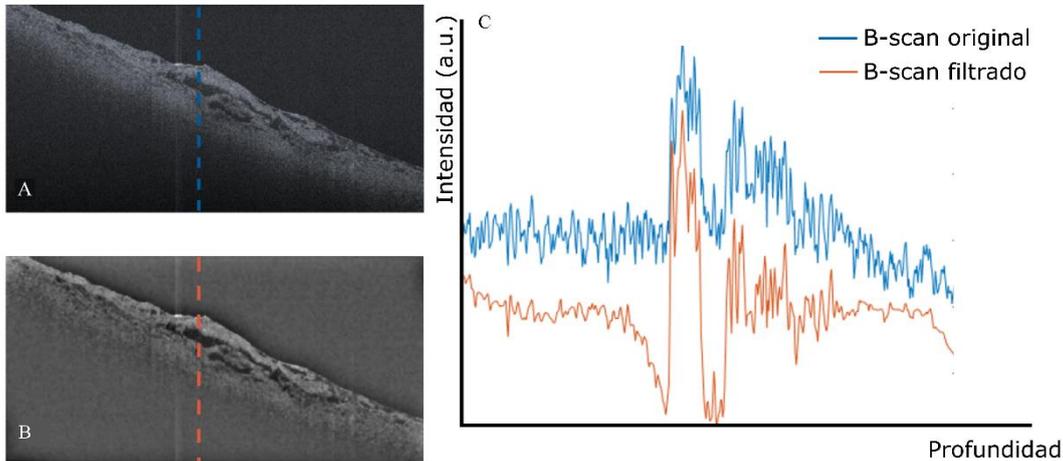


Figura 4.30. Efecto del filtro de Gabor logarítmico (B) aplicado a una imagen de aorta (A). En (C) se puede apreciar la diferencia de un A-scan en el centro de la imagen en donde los bordes se han convertido en abruptos [14].

4.2.2.3 Segmentación

Tras corregir los defectos de la imagen, el siguiente paso es la segmentación de las regiones de interés, eliminando las partes de la imagen que no son útiles de cara a la extracción de características. Para esto hay que conocer o caracterizar las diferencias entre la región de interés y el resto. Una forma de segmentación es la umbralización, que consiste en considerar que un pixel o región pertenece a una clase si supera cierto valor umbral establecido. Habrá diferentes formas de establecer el valor umbral, generalmente a partir del histograma y la distribución estadística de los valores de intensidad en la imagen.

Los procesos de umbralización tienen como objetivo obtener máscaras binarias, es decir, decidir la pertenencia de cada pixel a una clase o no. Estas máscaras se aplican sobre la imagen, facilitando el análisis de regiones relevantes. Se suelen aplicar operadores morfológicos a las máscaras, aunque también se pueden aplicar durante la etapa de pre procesado. Estos operadores permiten modificar el contorno de cada pixel, de forma similar al filtrado, pero no modificando la imagen en sí, sino la máscara. Dos ejemplos de ello son la dilatación o erosión de los bordes de la máscara, aplicando diferentes patrones como discos, espas, triángulos, etc.

La primera parte a eliminar es la región de aire que se captura sobre la superficie de la muestra. Para esto, sirviéndose de las imágenes con bordes mejorados o de una imagen filtrada, se hace la detección del borde. Hay dos aproximaciones posibles. La primera es leer los A-scan individualmente y detectar el incremento de intensidad debido a la reflexión superficial (Figura 4.31). La aplicación del filtro log-Gabor mencionado anteriormente (Sección 4.2.2.4) facilita enormemente esta labor al incrementar de forma abrupta las diferencias de niveles de intensidad en la superficie de la muestra.

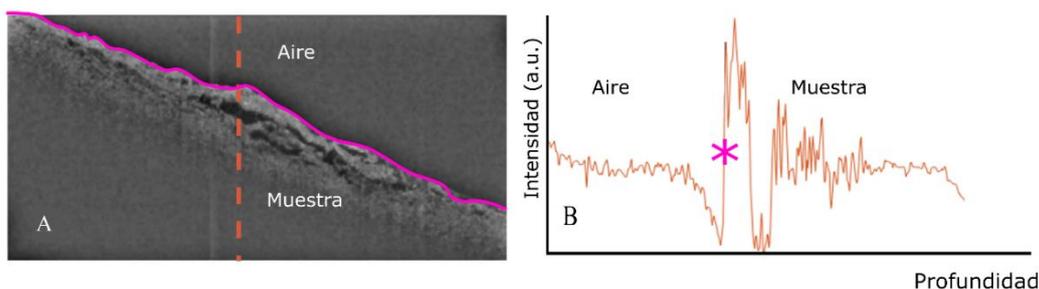


Figura 4.31. (A) B-scan tras la aplicación del filtrado de Gabor logarítmico, indicando la región de la imagen que se corresponde con la interfaz entre muestra y aire. (B) A-scan correspondiente a la región indicada del B-scan, indicando la interfaz aire-muestra obtenida mediante umbralización de niveles de intensidad. La aplicación a todos los A-scan de la imagen permite delinearlo por completo.

Para detectar el incremento de intensidad se ha de establecer un umbral, superado el cual se considera parte correspondiente con la muestra. Puesto que los niveles de intensidad pueden variar entre imágenes, e incluso entre A-scans, el umbral debe establecerse de forma dinámica para cada uno. Se ha establecido un umbral de detección de superficie como:

$$th = m + 2\sigma \quad (4.33)$$

siendo m y σ respectivamente la media y desviación típica del A-scan en cuestión [18]. Este método en general funciona correctamente, aunque depende de la estadística de cada A-scan individual. En los A-scan que presentan ruido elevado, la intensidad en la superficie no cambia tan abruptamente o cuando el rango dinámico es pobre, la detección de la superficie se ve empeorada. Una vez delimitada toda la superficie se aplica un promediado de ésta con los valores adyacentes para suavizar el efecto de los A-scan donde no se haya detectado de forma correcta.

Puesto que se trata de una imagen en dos dimensiones, se puede aprovechar la información que proporcionan los A-scan adyacentes para la detección de la superficie. La delimitación de aire y muestra se basa en el nivel de intensidad de ambas regiones, siendo la región de aire oscura, o de baja intensidad, y la región de muestra clara, de alta intensidad [14]. El algoritmo de umbralización de Otsu [24] fue desarrollado en 1979 con la intención de separar dos regiones de diferente intensidad en una imagen. Este método se basa en el histograma de intensidad de la imagen. El histograma es la representación en el eje de abscisas de los niveles de intensidad presentes en la imagen, y en el eje de ordenadas se cuenta el número de píxeles que presentan cada nivel de intensidad. Esto permite representar la distribución de niveles de intensidad. Cuando hay diferencias importantes de intensidad en el histograma entre el fondo oscuro, aquí la región de aire (y la región profunda con pérdida de sensibilidad), y el objeto, aquí la muestra, se podrán apreciar dos regiones correspondientes a cada una de las clases (Figura 4.32).

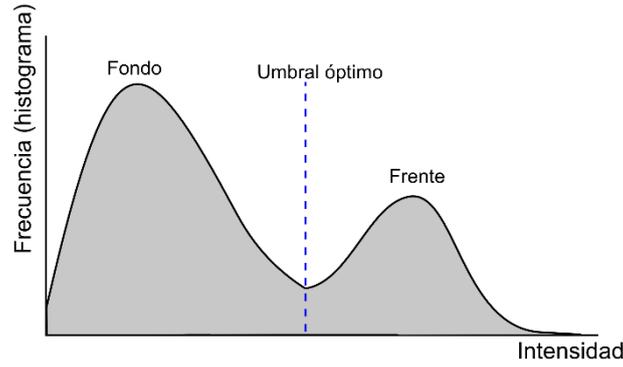


Figura 4.32. Representación ideal del histograma y el umbral óptimo establecido en el método de Otsu. La región de interés (frente) presenta niveles de intensidad más alta que el fondo. Generalmente, el fondo presenta una extensión mayor, produciendo una mayor ocurrencia de píxeles.

La umbralización óptima se encontrará en el centro de ambas clases, definiendo el umbral como el nivel de intensidades para el cual la varianza de intensidades de cada clase es mínima. Esto es equivalente a maximizar, alejar, la varianza entre las dos clases. Cuando se cumpla esta condición, se puede decir que el umbral hallado es el óptimo matemáticamente. El algoritmo de Otsu se aplica de forma iterativa: se calcula la varianza entre las clases para todos los umbrales posibles y se toma el valor que maximice dicha varianza. Otsu define la varianza entre clases 1 y 2 como:

$$\sigma_B^2 = \omega_1(\mu_1 - \mu_T)^2 + \omega_2(\mu_2 - \mu_T)^2 \quad (4.34)$$

donde ω_1 y ω_2 representan la probabilidad de ocurrencia de las clases 1 y 2 respectivamente; μ_1 y μ_2 sus valores medios y μ_T es el valor medio de intensidad en toda la imagen. Se toma como umbral óptimo aquel que maximice dicha varianza:

$$t' = \max\{\sigma_B^2\} \quad (4.35)$$

donde se cumplen las siguientes relaciones:

$$\begin{aligned} \mu_T &= \omega_1\mu_1 + \omega_2\mu_2 \\ \omega_1 + \omega_2 &= 1 \end{aligned} \quad (4.36)$$

siendo la probabilidad y la media dependientes del valor umbral t en cada caso y del número total de niveles en la imagen, N :

$$\begin{cases} \omega_1 = \sum_{i=1}^t P_i \\ \omega_2 = \sum_{i=t+1}^N P_i = 1 - \omega_1 \\ \mu_1 = \sum_{i=1}^t \frac{i \cdot P_i}{\omega_1} \\ \mu_2 = \sum_{i=t+1}^N \frac{i \cdot P_i}{\omega_2} \end{cases} \quad (4.37)$$

donde la probabilidad de ocurrencia de cada píxel i -ésimo es función del número de píxeles que presentan dicho nivel de intensidad f_i .

$$P_i = \frac{f_i}{N} \quad (4.38)$$

Para mejorar el resultado en la aorta y eliminar el ruido se aplica un filtrado de mediana antes de aplicar el algoritmo de Otsu (Figura 4.33). Hay que tener en cuenta que este filtrado modifica los niveles de intensidad en la imagen y por tanto el histograma de la imagen.

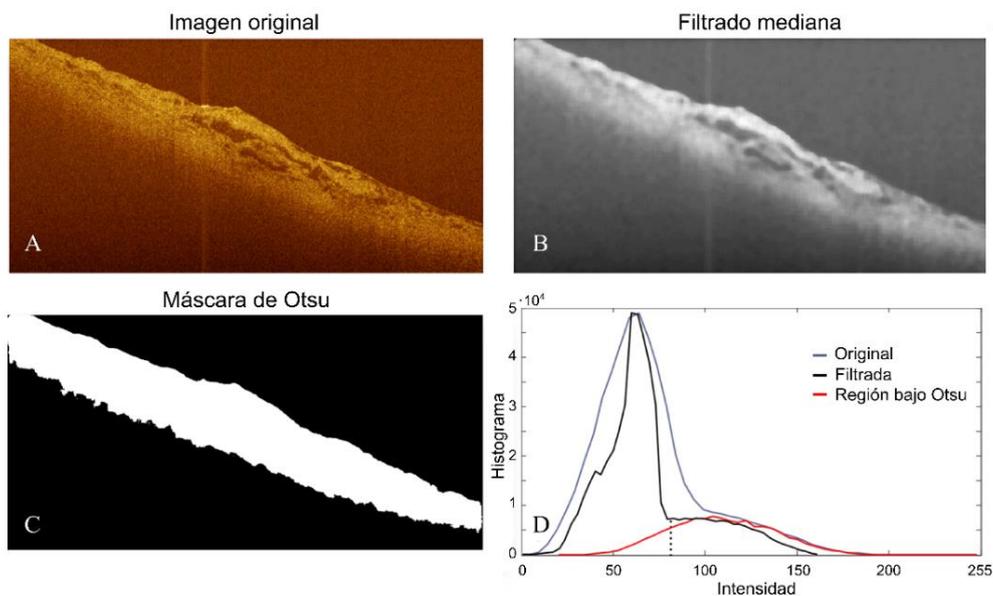


Figura 4.33. B-scan de aorta (A), aplicación del filtro mediana (B) y umbralización con Otsu (C). La aplicación del filtrado modifica el histograma haciendo más abrupta la diferencia entre las clases fondo y objeto (D). El enmascarado de Otsu se centra en la región de interés, eliminando la parte de imagen y de histograma del resto de la imagen [19].

En la Figura 4.33 se aprecia como el método de Otsu no sólo segmenta la región de la muestra frente al aire, también segmenta el fondo debido a la pérdida de sensibilidad con la profundidad. Por tanto, este algoritmo también serviría con este fin. Otra aproximación consiste en establecer una distancia fija, por ejemplo 150 píxeles a partir de la superficie en el caso de la aorta, ya que se ha comprobado cómo este tejido tiene una absorción elevada a dicha profundidad (Figura 4.34).

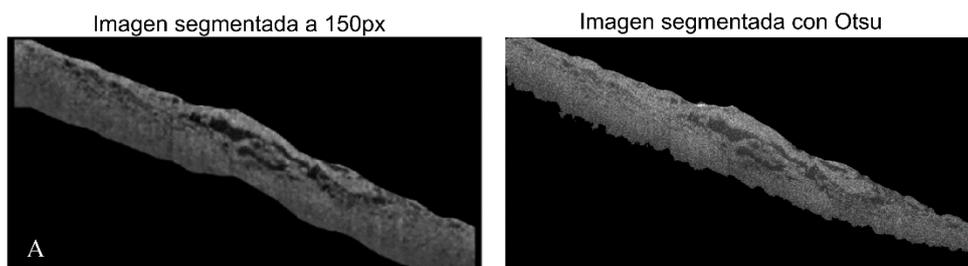


Figura 4.34. (A) Imagen resultante de aplicar la máscara considerando como zona de interés la que abarca desde la superficie hasta una profundidad de 150 píxeles. (B) Imagen resaltando de aplicar la máscara obtenida mediante el algoritmo de Otsu. En ambos casos, el resto de la imagen es descartada para el tratamiento posterior.

4.2.3 Extracción de características

La extracción de características es la parte más compleja del proceso puesto que va enfocada al problema específico en cada caso. Tras los procesos anteriores, se debe extraer información de relevancia de cara al diagnóstico, como presencia o no de ciertos patrones, áreas y formas de

regiones, niveles medios de intensidad o parámetros físicos de la muestra a partir de los niveles de intensidad. Se aplican con este objetivo algoritmos de delineación y segmentación.

Los métodos básicos son los procesos de detección de bordes mediante el gradiente de la imagen (primera derivada) o su Laplaciano (segunda derivada). En este tipo de procesados, no sólo es relevante el nivel de intensidad, esto es su magnitud, sino también la fase, esto es los incrementos de intensidad. El método de congruencia de fase, considera bordes fiables cuando múltiples fases en la transformada de Fourier de la imagen coinciden. Los métodos de contornos activos, o *snakes*, son métodos iterativos que comienzan a partir de un borde preestablecido para ir acercándolo al borde a detectar. Se basan en minimizar ecuaciones que definen la energía dentro del borde, la ecuación que describe el borde y la evolución de éste. El principal problema es que necesitan un perímetro de origen que indique donde operar. Por último, se encuentran los métodos de lógica difusa, que no establecen un umbral fijo, sino que permiten delinear degradados de intensidad.

Cuando los patrones a buscar son muy característicos, hay métodos específicos de búsqueda de patrones, pero estos deben tener formas conocidas dentro de una imagen mayor (búsqueda de patrones o *template matching*) o formas regulares, como líneas, círculos y elipses (transformada de Hough).

Por último, hay parámetros que no están enfocados a detectar elementos en la imagen, sino a caracterizar la imagen u objetos en sí. Se encuentran entre ellos los descriptores de regiones, los momentos estadísticos de la imagen y los métodos texturales. Los descriptores cuantifican elementos como área, perímetro y compacidad de una región. Los momentos son similares a los anteriores, pero permiten cuantificar de forma invariante ante rotaciones, escalados, desplazamientos, etc. Por último, las texturas son patrones que se repiten de forma ordenada en una imagen, propiedad que aprovechan los métodos texturales calculando propiedades estadísticas de regiones, como la relación de intensidades entre pixeles cercanos medida en términos de correlación contraste, energía y entropía.

4.2.3.1 Métodos de análisis de histograma

La detección de estructuras de los datos OCT se puede realizar en una o dos dimensiones. En un A-scan, las anomalías en reflectividad se pueden identificar como saltos abruptos de intensidad (Figura 4.35 B), pero debido al ruido la detección de estas regiones es compleja y poco eficiente. En dos dimensiones se puede hacer uso de la información de pixeles adyacentes para obtener una mejor detección (Figura 4.35 D).

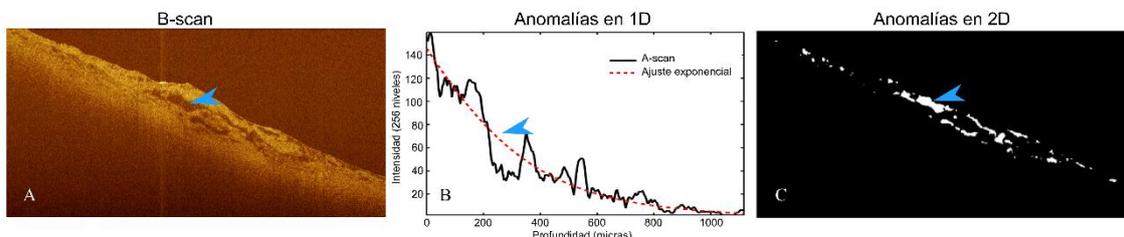


Figura 4.35. B-scan de la aorta (A) y anomalías indicadas con flecha azul, tanto en una dimensión (B) como en 2 dimensiones (C). La anomalía en una dimensión se detecta comparando con una atenuación exponencial ideal mediante ajuste.

Cuando las anomalías consisten en cambios de intensidad es aplicable el algoritmo de Otsu explicado en la Sección 4.2.2.3 como método de segmentación. En primer lugar detecta el fondo, o aire y el objeto o capa media. Sin embargo, si se aplica de forma iterativa y se van aislando las anomalías oscuras en cada ocasión, la parte de imagen restante ve modificados sus niveles de intensidad de cara a la siguiente iteración de Otsu (Figura 4.36). Tras varias aplicaciones, las anomalías quedan resaltadas [19].

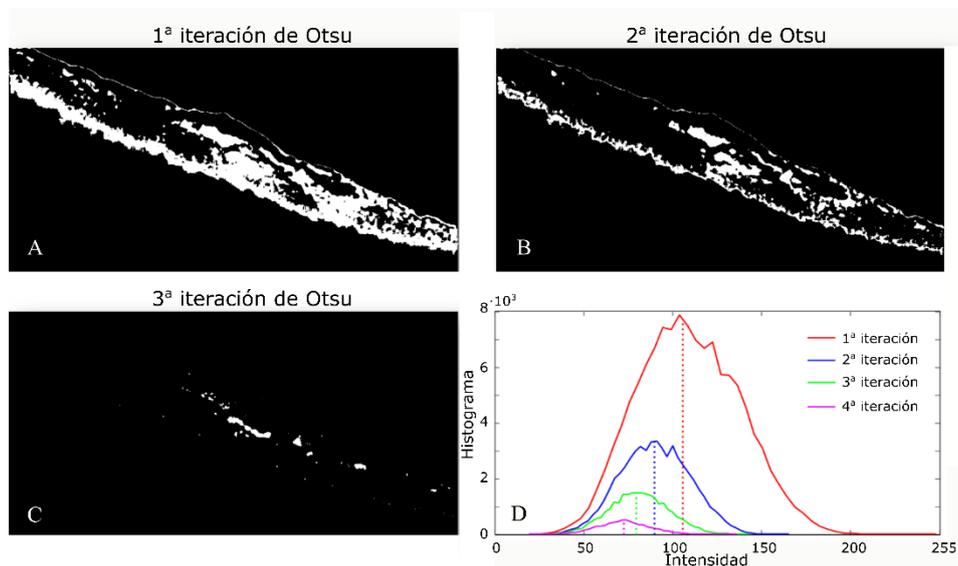


Figura 4.36. Aplicación iterativa del algoritmo de segmentación de Otsu para obtener máscaras (A), (B), (C) para delinear anomalías oscuras. En cada iteración se elimina parte de imagen modificando el histograma (D) y acercándolo al nivel de intensidad de las anomalías.

4.2.3.2 Métodos de gradiente

Cuando se trata de realzar elementos diferentes en una imagen, un patrón de búsqueda es la búsqueda de cambios o diferencias. Una forma de hacerlo es aplicando la derivada de la imagen, lo cual permite obtener un realce de bordes. Entre los métodos derivativos se encuentran los métodos de gradiente, definido como el cambio direccional de intensidad en una imagen f :

$$\nabla f = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} \\ \frac{\partial f}{\partial y} \end{bmatrix} \quad (4.39)$$

Siendo el primer elemento el gradiente en la dirección x y el segundo el gradiente en la dirección y . El operador de Prewitt es comúnmente utilizado para obtener el gradiente de una imagen. Este operador consiste en la convolución de la imagen por un núcleo especificado (en este caso de dimensión 3x3) para obtener una aproximación de la derivada en el eje x , G_x , y otro para obtener la derivada en el eje y , G_y :

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} * A$$

$$G_y = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} * A$$
(4.40)

A partir del gradiente se obtienen la magnitud y dirección de este:

$$Magnitud = \sqrt{G_x^2 + G_y^2}$$

$$Dirección = \arctan\left(\frac{G_y}{G_x}\right)$$
(4.41)

En muchos casos, la dirección se redondea para ciertos valores, típicamente 0°, 45°, 90° y 135°, cuyas direcciones coinciden con sus conjugados. Típicamente, la obtención de los parámetros magnitud y gradiente va ligada a su uso para obtener una delineación de bordes. El detector de bordes de Canny [25] hace uso de dos umbrales para mejorar el proceso de detección frente a otros procesos más sencillos. Previa aplicación de un filtrado de ruido, se obtiene la magnitud y fase del gradiente (Figura 4.37) y se aplica un proceso de supresión de valores que no sean máximos locales para afinar los bordes en la magnitud del gradiente. Este proceso consiste en que sólo se mantiene la magnitud de los píxeles con valor máximo en la dirección del gradiente (x o y). A continuación, se aplica una doble umbralización que pretende ser robusta frente a ruidos. Se establece un umbral máximo y los píxeles que lo superen se corresponden con bordes. A su vez, se establece un umbral mínimo y los píxeles que lo superen sólo se consideran borde si forman una unión con píxeles del borde anterior. La forma de establecer ambos umbrales es heurística, aunque típicamente se establece en base al histograma de la imagen, o al rango intercuartil [26].

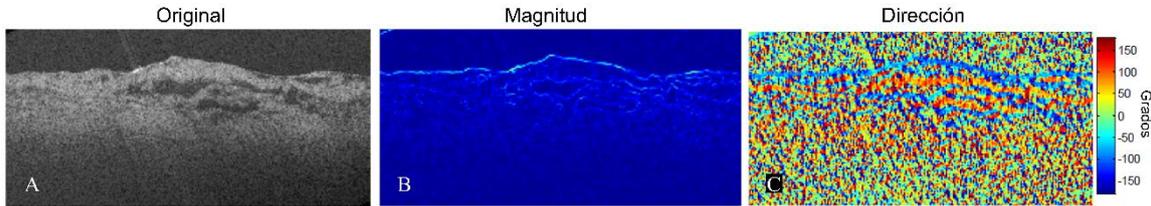


Figura 4.37. Imagen OCT (A); magnitud del gradiente (B) y dirección del gradiente respecto a la horizontal (C).

4.2.3.3 Métodos del Laplaciano

La aplicación de la derivada segunda permite realzar diferencias no sólo en bordes, como la derivada sencilla, sino también en regiones, pudiéndose utilizar para detectar formas aproximadas como es el caso de búsqueda de vasos sanguíneos de forma tubular y elongada [27],[28]. A partir del Laplaciano de una imagen, que consiste en la suma de todas las segundas derivadas parciales, se calcula la matriz Hessiana formada por dichas derivadas segundas parciales. Se define la matriz Hessiana $H_{f(x,y)}$ para la imagen $f(x,y)$ como:

$$H_{f(x,y)} = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2(f(x,y))}{\partial x^2} & \frac{\partial^2(f(x,y))}{\partial x\partial y} \\ \frac{\partial^2(f(x,y))}{\partial y\partial x} & \frac{\partial^2(f(x,y))}{\partial y^2} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} f_{xx} & f_{xy} \\ f_{yx} & f_{yy} \end{bmatrix}$$
(4.42)

Para obtener las derivadas segundas parciales se aplica el método de derivada por convolución en conjunto con un proceso de filtrado. Puesto que la convolución es un método lineal, el proceso de filtrar la imagen $f(x,y)$ con un filtro $g(x,y)$ y posteriormente derivar, es equivalente a derivar uno de los términos y convolucionar posteriormente:

$$\frac{\partial(f(x,y)*g(x,y))}{\partial x} = \frac{\partial(f(x,y))}{\partial x} * g(x,y) = f(x,y) * \frac{\partial(g(x,y))}{\partial x} \quad (4.43)$$

lo cual se cumple tantas veces como $f(x,y)$ y $g(x,y)$ sean derivables. De esta forma, se simplifica la obtención de la derivada de cada nueva imagen puesto que sólo es necesario calcular la derivada del filtro $g(x,y)$ una vez y aplicar la convolución para obtener la derivada de la imagen. El filtro elegido debe ser diferenciable, y también debe servir para realzar la morfología de los elementos a analizar. En el caso de anomalías en la aorta, carecen de una forma definida, tendiendo a redondeada o elongada en diferentes circunstancias, de diferentes tamaños y orientaciones, pero de forma suave, con bordes difuminados y ruidosos. Por esta razón el filtro elegido es la función Gaussiana bidimensional.

$$G(x,y) = \frac{1}{2\pi\sigma_x\sigma_y} e^{-\left(\frac{(x-\mu_x)^2}{2\sigma_x^2} + \frac{(y-\mu_y)^2}{2\sigma_y^2}\right)} \quad (4.44)$$

definido para cada pixel de la imagen en la posición (x,y) donde σ_x y σ_y son las desviaciones típicas en los ejes x y y respectivamente y μ_x y μ_y los valores medios o centros de ésta, que para un proceso de filtrado se les suele asignar valores nulos. Las derivadas parciales segundas quedan de la siguiente forma:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial^2 G(x,y)}{\partial x^2} = G_{xx} = \left(\frac{(2x-2\mu_x)^2}{8\pi\sigma_x^5\sigma_y} - \frac{1}{2\pi\sigma_x^3\sigma_y} \right) e^{-\left(\frac{(x-\mu_x)^2}{2\sigma_x^2} + \frac{(y-\mu_y)^2}{2\sigma_y^2}\right)} \\ \frac{\partial^2 G(x,y)}{\partial y^2} = G_{yy} = \left(\frac{(2y-2\mu_y)^2}{8\pi\sigma_x\sigma_y^5} - \frac{1}{2\pi\sigma_x\sigma_y^3} \right) e^{-\left(\frac{(x-\mu_x)^2}{2\sigma_x^2} + \frac{(y-\mu_y)^2}{2\sigma_y^2}\right)} \\ \frac{\partial^2 G(x,y)}{\partial x\partial y} = G_{xy} = \frac{(2y-2\mu_y)(2x-2\mu_x)}{8\pi\sigma_x^3\sigma_y^3} e^{-\left(\frac{(x-\mu_x)^2}{2\sigma_x^2} + \frac{(y-\mu_y)^2}{2\sigma_y^2}\right)} \\ \frac{\partial^2 G(x,y)}{\partial y\partial x} = G_{yx} = G_{xy} \end{array} \right. \quad (4.45)$$

donde se aprecia que el tamaño del filtro viene dado por las dimensiones σ_x y σ_y . Para el procesado digital, se trunca la señal a una dimensión de seis veces la desviación típica del eje mayor. En la Figura 4.38 se puede ver el efecto del tamaño del filtro y las formas de éste que producirán un realce de los bordes y anomalías en la imagen a filtrar según la disposición de valores máximos y mínimos respecto al centro del filtro.

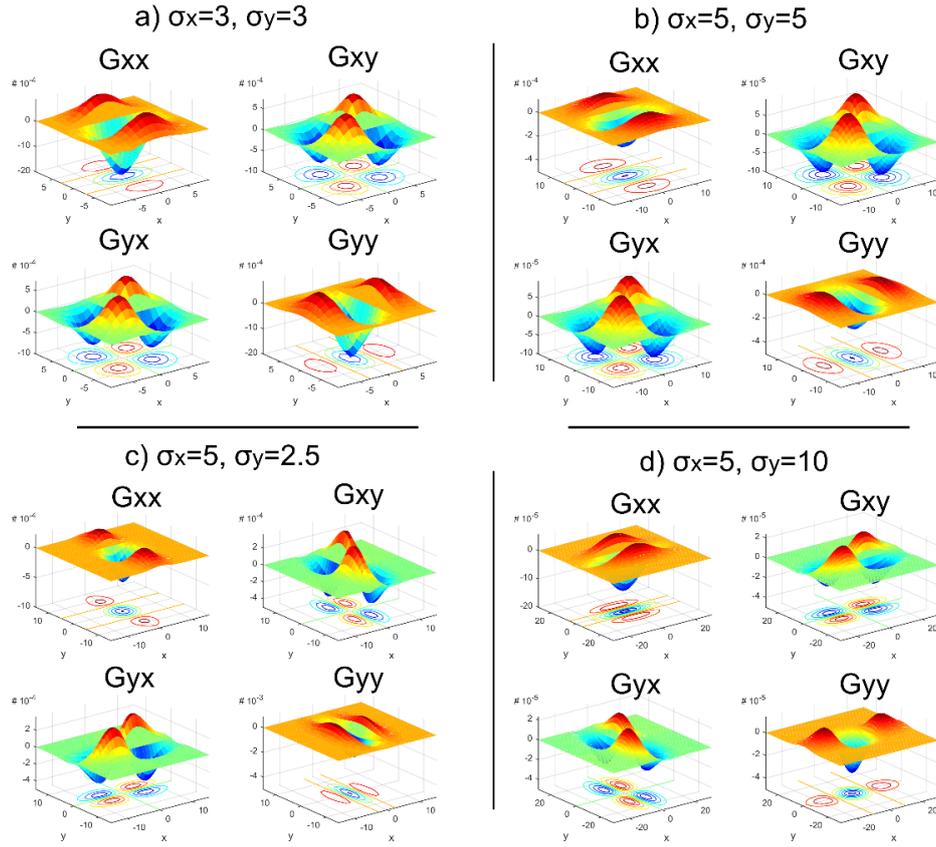


Figura 4.38. Derivadas segundas parciales del filtro Gaussiano bidimensional para diferentes valores σ_x and σ_y . Su dimensión afecta al tamaño del filtro y el ratio entre ambas a la dirección de realce de los efectos en la imagen [29].

Una vez obtenida la matriz Hessiana de la imagen, se calculan los autovalores y autovectores de esta. Para esto, se resuelve la ecuación:

$$Hv = \lambda v \quad (4.47)$$

que tendrá como solución los autovalores λ (escalar para cada pixel) y autovectores v que hagan que se cumpla la igualdad. Para calcular los autovalores se despeja:

$$Hv - \lambda v = 0 \Rightarrow (H - \lambda I)v = 0 \quad (4.47)$$

cuya solución para autovectores no nulos implica:

$$\det(H - \lambda I) = 0 \quad (4.48)$$

El determinante se resuelve de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} & \begin{bmatrix} f_{xx} - \lambda & f_{xy} \\ f_{yx} & f_{yy} - \lambda \end{bmatrix} = 0 \\ & (f_{xx} - \lambda)(f_{yy} - \lambda) - f_{xy} \cdot f_{yx} = 0 \\ & \lambda^2 - \lambda(f_{xx} + f_{yy}) + f_{xx} \cdot f_{yy} - f_{xy} \cdot f_{yx} = 0 \\ & \lambda = \frac{f_{xx} + f_{yy} \pm \sqrt{(f_{xx} + f_{yy})^2 - 4(f_{xx} \cdot f_{yy} - f_{xy} \cdot f_{yx})}}{2} \end{aligned} \quad (4.49)$$

dando como solución dos pares de autovalores (λ_1, λ_2) para cada pixel de la imagen. La magnitud y signo de estos, vendrá dada por la relación de pixeles en la imagen, indicando si hay un aumento o disminución de intensidad en la dirección indicada por los autovectores respectivos. Esto puede ser relacionado con el tipo de estructura hallada en la imagen (Tabla 4.1) [27]:

λ_1	λ_2	Patrón de orientación
Ruidoso	Ruidoso	Ruidoso, sin dirección principal
Baja	Alta (-)	Estructura tubular brillante
Baja	Alta (+)	Estructura tubular oscura
Alta (-)	Alta (-)	Estructura redondeada brillante
Alta (+)	Alta (+)	Estructura redondeada oscura

Tabla 4.1. Interpretación de los autovalores de la matriz Hessiana en función de la relación entre ambos. Se indica magnitud y signo de los autovalores entre paréntesis, relativa entre ambos.

En el caso de arterias, se pretende detectar anomalías amorfas por lo que no es relevante la relación entre ambos autovalores. El orden de λ_1 y λ_2 se establece de forma que el valor absoluto de λ_1 siempre sea el de mayor magnitud. Seleccionando sólo λ_1 se pueden ver las direcciones de mayor cambio en la imagen. Normalizando entre el valor máximo o mínimo se puede resaltar las anomalías brillantes u oscuras:

$$\lambda' \begin{cases} \frac{\lambda_1}{\min(\lambda_1)} & \text{elementos brillantes} \\ \frac{\lambda_1}{\max(\lambda_1)} & \text{elementos oscuros} \end{cases} \quad (4.50)$$

Esto produce una nueva imagen de autovalores, función de los parámetros de la Gaussiana, σ_x y σ_y (Figura 4.39):

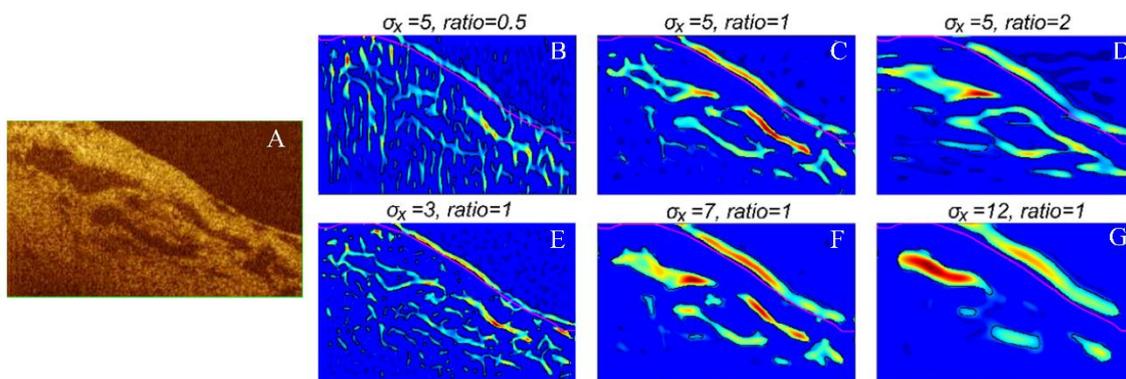


Figura 4.39. Región de una imagen de aorta obtenida con OCT (A) y autovalores producidos por de la aplicación directa de diferentes tamaños de filtro Gaussiano (B-G). Se utiliza el ratio σ_y/σ_x para facilitar la interpretación de la relación entre ambas [29].

Una vez obtenidos los autovalores de la imagen, se umbralizan mediante el algoritmo de Otsu, para producir una máscara. Los bordes de la máscara coinciden con las anomalías en la imagen, siempre y cuando el tamaño del filtro Gaussiano sea el adecuado para las dimensiones de éstas (Figura 4.40). Si bien los valores de σ_x y σ_y sirven para detectar diferentes tamaños de anomalía, si las dimensiones de ambos parámetros son muy grandes o pequeños en relación con las anomalías presentes en la imagen, el método llevará a error.

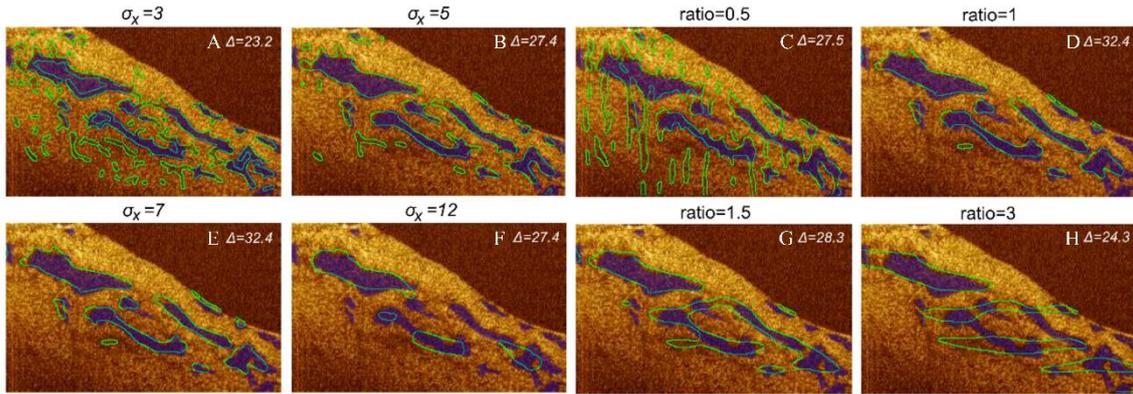


Figura 4.40. Aplicación de diferentes filtros simétricos (A, B, E, F) y asimétricos con $\sigma_x=7$ (C, D, G, H). La delineación obtenida se muestra en verde. La delineación correcta efectuada a mano se corresponde con la zona sombreada en azul [29].

Según se ve en la Figura 4.40, es necesario conocer a priori el tamaño aproximado de las anomalías o cuantificar el error cometido durante la aplicación de cada tamaño de filtro. Con este objetivo se ha desarrollado una métrica que estime la precisión de la delineación, Δ . Puesto que las anomalías son oscuras y el entorno brillante, cuando la delineación es óptima la intensidad media de la anomalía será baja y la del entorno alta (Figura 4.41 B). Por lo tanto, cuanto mayor sea la distancia entre ambas intensidades, mejor será la delineación.

$$\Delta = |\bar{I}_{anomalias} - \bar{I}_{contorno}| \quad (4.51)$$

Este parámetro estará acotado entre 0 y 255 al tratarse de 8 bits de digitalización de imagen. Para calcular la intensidad media del entorno se toma la intensidad de una corona alrededor de la anomalía (Figura 4.41 C) [29]. Dicha corona se define para un grosor igual al mayor parámetro σ_x y σ_y del filtro aplicado.

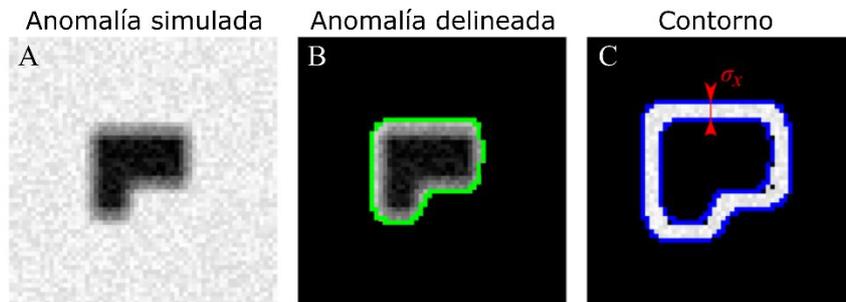


Figura 4.41. Anomalía simulada (A), delineación de la anomalía con el algoritmo propuesto en verde (B) y corona alrededor de la anomalía en azul (C).

Aplicando esta métrica a los resultados de delineación de la Figura 4.40, se obtienen sus métricas de precisión (Tabla 4.2).

σ_x (píxeles)	Ratio σ_y/σ_x				
	0,5	1	1,5	2	2,5
3	20.1	23.2	22.2	18.3	18.4
5	23.1	27.4	27.1	20.8	22.6
7	27.5	32.4	28.3	24.3	20.0
9	27.4	31.2	26.0	22.0	19.1
12	29.7	27.4	25.8	22.8	16.9

Tabla 4.2. Métrica de precisión de delineación para la aplicación del método mostrado en la Figura 4.40. La mejor delineación se produce para $\sigma_x=7$ y ratio=1.

Según los valores mostrados en la Tabla 4.2, el valor máximo para la métrica de la precisión se obtiene para el caso $\sigma_x=\sigma_y=7$. Si se analiza detenidamente la Figura 4.40E se puede apreciar que la delineación no es del todo precisa cuando se trata de anomalías con dimensiones pequeñas. Sin embargo, en esas regiones, los parámetros $\sigma_x=\sigma_y=3$ producen una delineación mejor (Figura 4.40A). Por lo tanto, sumar la delineación obtenida para ambos parámetros puede dar un mejor resultado. Siendo $A_i(\sigma_x, \sigma_y)$ la máscara binaria producida por la delineación producida para cada par (σ_x, σ_y) , cada nueva delineación A_i se añade a las anteriores según la expresión:

$$A_o = OR(A_i(\sigma_x, \sigma_y)) \quad (4.52)$$

siendo A_o la máscara fruto de la delineación resultante. El operador OR indica que cualquier pixel indicado en una u otra máscara se añade a la delineación. Puesto que no todas las delineaciones son correctas, su agregado puede no serlo. Se calcula la métrica de la precisión Δ_o para cada agregado A_o . Si su valor mejora la delineación anterior, se mantiene y se procede con la siguiente combinación. Si no mejora la delineación, no se mantiene y de igual forma se procede con la siguiente combinación (Figura 4.42).

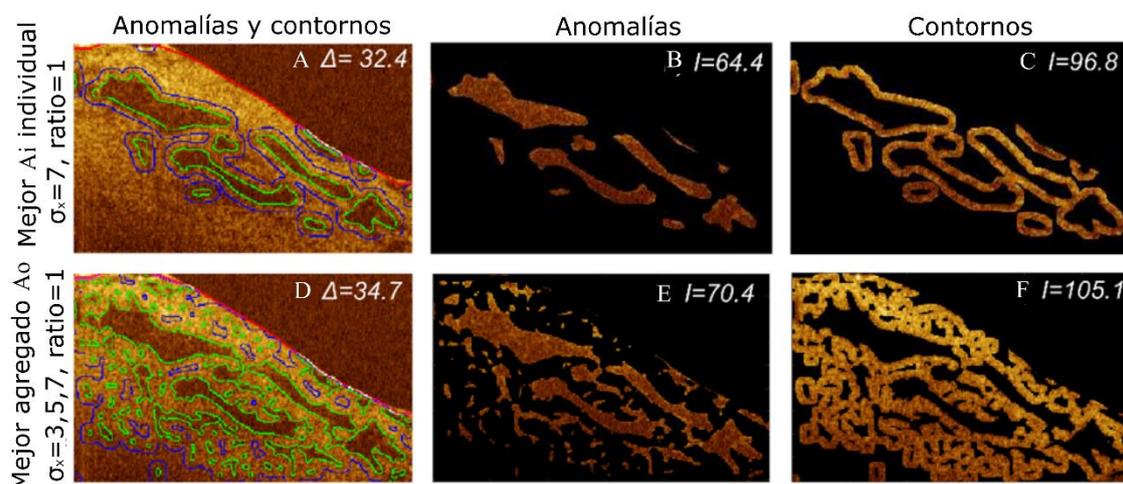


Figura 4.42. Delineación simple con $A_i(7,7)$ (A), donde se muestra la delineación de las anomalías (B) y la corona que las rodea (C). Mejor delineación agregada A_o (D), formada por $A_i(3,3)$, $A_i(5,5)$ y $A_i(7,7)$, delineación del agregado (E) y contorno del agregado (F) [29].

A la vista de la Figura 4.42, cada aplicación por separado ofrece una delineación aproximada. Sin embargo, la agregación óptima (Figura 4.42 E, Figura 4.43 C) comprende tres de las delineaciones para diferentes parámetros (σ_x, σ_y) . Comparado con la delineación manual (Figura 4.43 B), ésta última, al efectuarse a mano deja pequeñas regiones sin cubrir.

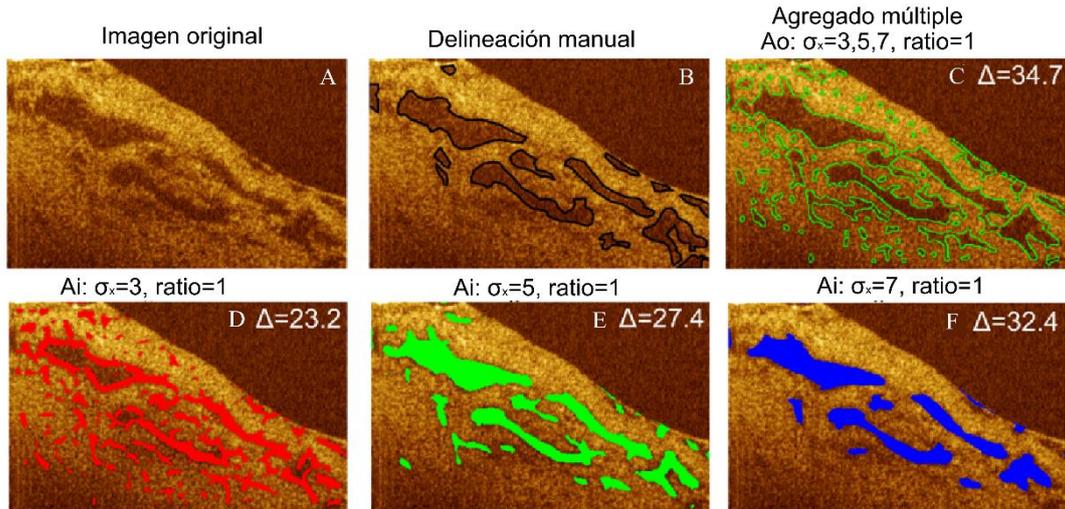


Figura 4.43. Comparativa de delineación manual (B), delineaciones simples comprendidas en el agregado (D, E, F) y agregado óptimo (C) [29].

Las dimensiones de las anomalías más pequeñas y más grandes que se desea delinear, se establecerán mediante los parámetros (σ_x, σ_y) , y éstos a su vez se establecen según la relevancia en el diagnóstico de elementos de dichas dimensiones.

4.2.3.4 Métodos texturales

Los métodos texturales se aplican en las regiones de interés una vez segmentada la imagen. Estos métodos están enfocados a caracterizar la imagen mediante elementos relacionados con el orden de patrones y la estadística de la imagen o región de interés, no a la detección de anomalías. En el caso de imágenes en escala de grises, se puede utilizar la matriz de coocurrencia de niveles de gris (GLCM, *Grey Level Co-occurrence Matrix*). Este método consiste en calcular la cantidad de veces que se repite un patrón de intensidades entre dos píxeles. Se toma un píxel central, k , y se busca su relación de intensidades con un píxel l , situado a una distancia d y un ángulo φ (Figura 4.44) [30].

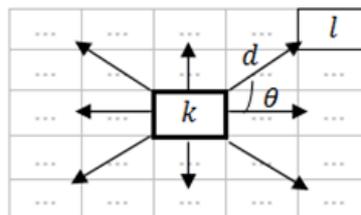


Figura 4.44. Representación de los elementos presentes en el cómputo de la matriz de coocurrencia entre los píxeles k y l .

En la matriz de coocurrencia se almacena el número de ocasiones en las que ese mismo patrón se repite en la imagen $f(i, j)$. Para cada posible combinación de intensidades x, y , se añade una cuenta a la matriz de coocurrencia de dicho valor (Figura 4.45) [18].

$$C_{x,y}(d, \varphi) = \sum_i \sum_j AND(f(i, j) = x, f(d, \varphi) = y) \quad (4.53)$$

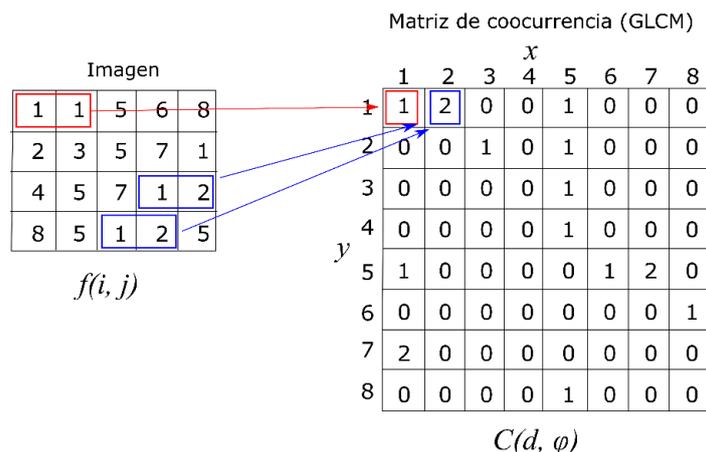


Figura 4.45. Representación de los elementos presentes en el cómputo de la matriz de coocurrencia, $C(d, \varphi)$, a partir de la imagen, $f(i, j)$. Se barren todas las posibles combinaciones de intensidades, x, y , a una distancia $d=1$ y $\varphi=0^\circ$ en este caso.

Los ángulos posibles en una matriz de pixeles adyacentes son $0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ$ y sus conjugados. Una vez obtenida la matriz de coocurrencia para una distancia y ángulo, se obtienen diferentes propiedades estadísticas de la matriz de coocurrencia. Algunos de estos parámetros son el contraste, correlación, energía y homogeneidad.

El contraste mide la diferencia de intensidades, que será 0 si la intensidad es constante [30].

$$\text{Contraste} = \sum_x \sum_y |x - y|^2 C_{x,y} \tag{4.54}$$

La correlación, será 1 cuando los valores coincidan y -1 si tienen signo opuesto. Será 0 o cercano si no coinciden en absoluto. Para valores medios μ_x, μ_y y varianzas σ_x, σ_y , se calcula la correlación como:

$$\text{Correlación} = \sum_x \sum_y \frac{xy C_{x,y} - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y} \tag{4.55}$$

La energía o uniformidad mide la suma de elementos al cuadrado:

$$\text{Energía} = \sum_x \sum_y C_{x,y}^2 \tag{4.56}$$

La homogeneidad, mide la distancia a los elementos de la diagonal:

$$\text{Homogeneidad} = \sum_x \sum_y \frac{C_{x,y}}{1+|x-y|} \tag{4.57}$$

Bibliografía

- [1] D. Huang *et al.*, «Optical Coherence Tomography HHS Public Access», *Sci. Novemb.*, vol. 22, n.º 2545035, pp. 1178-1181, 1991.
- [2] E. Regar, T. G. van Leeuwen y P. W. Serruys, Eds., *Optical Coherence Tomography in Cardiovascular Research*, 1 st. Abingdon: informa healthcare, 2007.
- [3] «Thorlabs - OCT imaging», 2013. [En línea]. Disponible en: http://www.thorlabs.com/navigation.cfm?Guide_ID=2039. [Accedido: 07-mar-2013].
- [4] E. W. Leonard Mandel, *Optical coherence and quantum optics*. Cambridge: Cambridge

- University Press, 1995.
- [5] «Wikimedia commons», 2013. [En línea]. Disponible en: <http://commons.wikimedia.org/>. [Accedido: 07-mar-2013].
 - [6] D. J. Faber, M. C. G. Aalders, E. G. Mik, B. A. Hooper, M. J. C. Van Gemert y T. G. Van Leeuwen, «Oxygen saturation-dependent absorption and scattering of blood», *Phys. Rev. Lett.*, vol. 93, n.º 2, pp. 28102-1, 2004.
 - [7] M. R. Lee, J. A. Izatt, E. A. Swanson, D. Huang, J. S. Schumun y C. P. Lin, «Optical coherence tomography for ophthalmic imaging: New technique delivers micron-scale resolution.», *Eng. Med. Biol. Mag.*, vol. 14, n.º 1, pp. 67-76, 1995.
 - [8] P. H. Tomlins y R.K.W., «Theory, developments and applications of optical coherence tomography», *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 38, n.º 15, p. 2519, 2005.
 - [9] A. F. Fercher, W. Drexler, C. K. Hitzenberger y T. Lasser, «Optical coherence tomography - principles and applications», *Reports Prog. Phys.*, vol. 66, n.º 2, p. 239, 2003.
 - [10] J. G. Fujimoto, «Optical coherence tomography», *Comptes Rendus l'Académie Des Sci.*, vol. 2, n.º IV, pp. 1099-1111, 2001.
 - [11] M. Wojtkowski, «High-speed optical coherence tomography: Basics and applications», *Appl. Opt.*, vol. 49, n.º 19, pp. D30-61, 2010.
 - [12] S.-W. Lee, H.-W. Jeong, B.-M. Kim, Y.-C. Ahn, W. Jung y Z. Chen, «Optimization for Axial Resolution, Depth Range, and Sensitivity of Spectral Domain Optical Coherence Tomography at 1.3 μm .», *J. Korean Phys. Soc.*, vol. 55, n.º 6, pp. 2354-2360, 2009.
 - [13] M. A. C. J. A. Izatt, «Theory of Optical Coherence Tomography», en *Optical Coherence Tomography*, P. D. J. G. F. Professor Dr. Wolfgang Drexler, Ed. SPRINGER, 2008.
 - [14] E. Real *et al.*, «Identification of vessel wall degradation in ascending thoracic aortic aneurysms with OCT», *Biomed. Opt. Express*, vol. 5, n.º 11, p. 4089, 2014.
 - [15] F. J. van der Meer, D. J. Faber, I. Cilesiz, M. J. C. van Gemert y T. G. van Leeuwen, «Temperature-dependent optical properties of individual vascular wall components measured by optical coherence tomography.», *J. Biomed. Opt.*, vol. 11, n.º 4, p. 41120, 2006.
 - [16] D. J. Faber, E. G. Mik, M. C. G. Aalders y T. G. van Leeuwen, «Light absorption of (oxy-)hemoglobin assessed by spectroscopic optical coherence tomography.», *Opt. Lett.*, vol. 28, n.º 16, pp. 1436-1438, 2003.
 - [17] E. Real, A. Eguizabal, A. Pontón, J. F. Val-Bernal, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. M. López-Higuera y O.M. Conde, «Optical coherence tomography assessment of vessel wall degradation in aneurysmatic thoracic aortas», en *Proc. SPIE 8802, Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques VI, 88020G*, 2013.
 - [18] E. Real, A. Eguizabal, A. Pontón, M. Calvo, J. F. Val-Bernal, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. M. López-Higuera y O.M. Conde, «Optical coherence tomography assessment of vessel wall degradation in thoracic aortic aneurysms.», *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, n.º 12, p. 126003, 2013.
 - [19] D. Alonso *et al.*, «Iterative Otsu's method for OCT enhanced delineation in the aorta wall», en *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media*, 2015, p. 95411A.
 - [20] P. B. Garcia-Allende, I. Amygdalos, H. Dhanapala, R. D. Goldin, G. B. Hanna y D. S. Elson, «Morphological analysis of optical coherence tomography images for automated classification of gastrointestinal tissues», *Biomed. Opt. Express*, vol. 2, n.º 10, p. 2821, 2011.
 - [21] R. G. Dantas y E. T. Costa, «Gabor Filters», vol. 54, n.º 3, pp. 530-538, 2007.
 - [22] J. Arróspide y L. Salgado, «Log-Gabor Filters for Image-Based Vehicle Verification», *IEEE Trans. Image Process.*, vol. 22, n.º 6, pp. 2286-2295, 2013.
 - [23] «What Are Log-Gabor Filters and Why Are They Good?», 2016. [En línea]. Disponible en: <http://www.peterkovesi.com/matlabfns/PhaseCongruency/Docs/convexpl.html>. [Accedido: 12-dic-2016].
 - [24] N. Otsu, «A threshold selection method from gray-level histograms», *IEEE Trans. Syst. Man. Cybern.*, vol. 9, n.º 1, pp. 62-66, 1979.
 - [25] J. Canny, «A computational approach to edge detection.», *IEEE Trans. Pattern Anal.*

- Mach. Intell.*, vol. 8, n.º 6, pp. 679-698, 1986.
- [26] A. Eguizabal, E. Real, A. Pontón, M. Calvo, J. F. Val-Bernal, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. M. López-Higuera y O.M. Conde, «Identification of vessel wall anomalies in thoracic aortic aneurysms through optical coherence tomography and gradient-based strategies», en *SPIE Photonics Europe*, 2014, p. 912943.
- [27] A. F. Frangi, W. J. Niessen, R. M. Hoogeveen, T. Van Walsum y M. A. Viergever, «Model-based quantitation of 3-D magnetic resonance angiographic images», *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 18, n.º 10, pp. 946-956, 1999.
- [28] D. J. Kroon, «Hessian based Frangi Vesselness filter». 2010.
- [29] E. Real, J. F. Val-Bernal, J. M. Revuelta, , A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga J. M. López-Higuera y O.M. Conde, «Hessian analysis for the delineation of amorphous anomalies in optical coherence tomography images of the aortic wall», *Biomed. Opt. Express*, vol. 7, n.º 4, pp. 1415-1429, 2016.
- [30] R. M. Haralick, K. Shanmugam, y I.H. Dinstein, «Textural features for image classification», *IEEE Trans. Syst. Man. Cybern.*, vol. 3, n.º 6, pp. 610-621, 1973.

Capítulo 5

OCT aplicado a la aorta torácica

<i>5.1 Protocolo de adquisición y manipulación de muestras</i>	98
<i>5.2 Análisis de los perfiles de atenuación</i>	99
<i>5.3 Análisis textural</i>	101
<i>5.4 Anomalías en la composición arterial</i>	105
<i>5.4.1 Delineación de anomalías en función del histograma de imagen</i>	105
<i>5.4.2 Delineación de anomalías mediante realce de bordes</i>	107
<i>5.4.3 Delineación de anomalías mediante diferenciación de imagen</i>	111
<i>5.5 Conclusiones</i>	117
<i>Bibliografía</i>	118

Las medidas obtenidas con el equipo de OCT representan niveles de intensidad retro esparcida para cada posición en profundidad de la muestra. La arteria aorta está compuesta formando capas desde el lumen hasta el exterior, pasando de la capa íntima, a la media y por último la adventicia. De las 57 muestras humanas analizadas (24 de donante, consideradas como control, 33 de aneurisma) se obtiene un grosor medio de la capa íntima de 118 μm (mínimo 11 μm , máximo 652 μm). La capa más importante es la capa media, formada por tejido muscular y que tiene un grosor medio de 1.439 μm (mínimo 984 μm , máximo 2.176 μm). Según las especificaciones del equipo OCT, el sistema puede penetrar hasta 3mm en aire, que en la pared arterial (índice de refracción $n=1,38$ [1],[2]) se reduce a 2,17 mm. Según esta característica, se podría visualizar la capa media desde la íntima por completo. Sin embargo, debido a la atenuación producida por el tejido de la pared arterial y el efecto de pérdida de sensibilidad del equipo con la profundidad, la penetración efectiva se ve reducida a algo más de 1,5 mm.

La composición de la capa media es uniforme, principalmente células musculares alineadas en capas concéntricas. También hay fibras elásticas y colágeno en menor medida. Esto proporciona una intensidad retro esparcida homogénea en el equipo OCT, con un índice de refracción constante. Por el contrario, cuando el tejido se degrada, su lugar es reemplazado por mucopolisacáridos, cuyo índice de refracción es de aproximadamente 1,35 [2],[3]. En el caso de que se produzca una fibrosis, o acumulación de colágeno, el índice puede incrementarse hasta 1,41 [4]. Estas diferencias de índice hacen que la intensidad de imagen en los mucopolisacáridos sea de menor intensidad, y en el caso de la fibrosis, de mayor intensidad.

Según las características presentadas, OCT se presenta como la herramienta idónea para la visualización de la degradación en la pared aórtica. La intensidad recibida se representa en una imagen en escala de grises (o falso color), representando el rango completo niveles entre 0 y 255. La medida ha de ir ajustada para captar la información necesaria sin aumentar el ruido. Una vez obtenida, es necesario procesarla para extraer información diagnóstica relativa a la pared arterial que puede ser de utilidad en entornos intraoperatorios.

5.1 Protocolo de adquisición y manipulación de muestras

Las muestras de arteria aorta analizadas se corresponden con secciones de la región torácica ascendente. Proceden tanto de pacientes intervenidos de aneurisma como de donantes de corazón, de acuerdo con los criterios de donantes cardíacos. Las muestras son obtenidas por cirujanos (A. Pontón, J.M. Revuelta) del Servicio de Cirugía Cardiovascular del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante la intervención, ya sea de recambio de válvula o de implantación de prótesis. En el caso de donantes, se toma una sección de aorta no necesaria para el receptor. El protocolo de manejo de muestras ha sido aprobado por la Unidad de Prevención de la Universidad de Cantabria, en el marco del proyecto de investigación DA2TOI (FIS2010-19860).

A continuación, las muestras se preservan en suero salino a una temperatura de 5° y se llevan al laboratorio del Grupo de Ingeniería Fotónica de la Universidad de Cantabria. Se divide la sección en diferentes áreas para realizar medidas con el equipo OCT en regiones de análisis de 4x10 mm o 10x10 mm según el tamaño de la muestra (Figura 5.1). Estas regiones son marcadas con tinta negra para su comparación o co-registro con la histología posterior. Las medidas tomadas son: un C-scan de la región completa y cinco B-scans equi-espaciados en cada región. Las dimensiones de los B-scan son de 512x1024 píxeles en los ejes axial y lateral respectivamente, que se corresponden con hasta 3 mm en profundidad y 10 mm en el eje lateral. A continuación, las muestras son preservadas en una solución de formol al 4% y llevadas al laboratorio del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Se realizan cortes en la región delimitada y se aplican diferentes tinciones, principalmente hematoxilina y eosina, pero también azul alción, Verhoeff-Van Gieson y la técnica de la actina alfa del músculo liso. Se toman fotografías al microscopio de los cortes con las diferentes tinciones para su diagnóstico y comparación con las imágenes obtenidas con OCT.

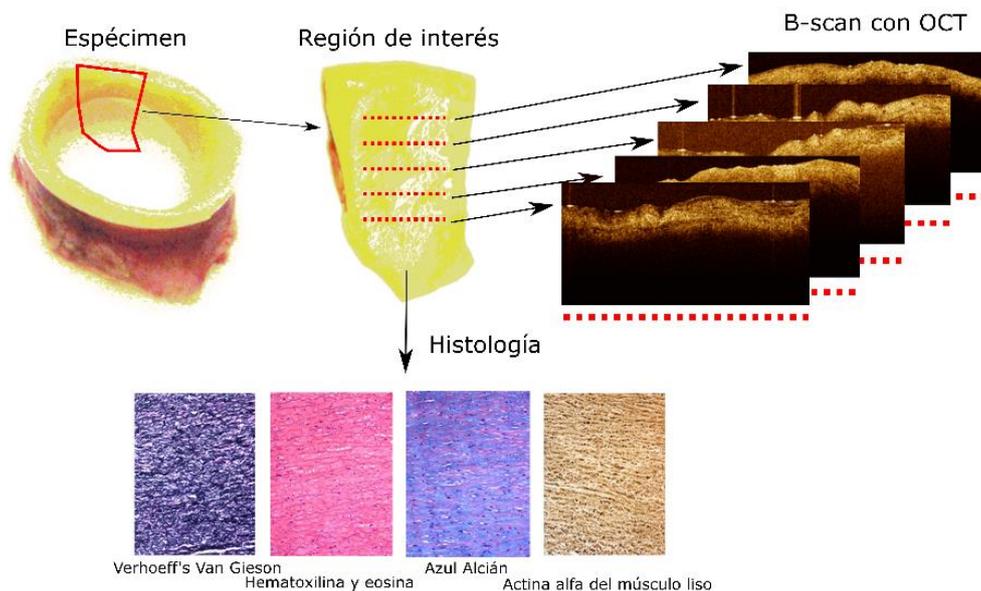


Figura 5.1. Esquema de obtención de medidas en una muestra de aorta. Tras la medida con OCT se aplican las técnicas histológicas para realizar un diagnóstico de referencia. Hematoxilina y eosina como propósito general, azul alción para realce de mucopolisacáridos, Verhoeff-Van Gieson para realce de elastina y colágeno y la actina alfa del músculo liso para realzar las células musculares.

El conjunto de muestras analizado consta de 57 muestras: 24 de donante, 33 de aneurisma (Figura 5.2). Acerca de las muestras procedentes de donante, no se conocen datos más allá de su cumplimiento de los criterios de donantes cardíacos. En cuanto a los pacientes de aneurisma, se trata de pacientes con una edad media de 64 años (mínimo 25, máximo 80). Por sexos, se corresponden con 5 mujeres y 28 varones. En la mayor parte de los casos los pacientes intervenidos presentan uno o varios factores de riesgo cardiovascular: hipertensión arterial, hipercolesterolemia, diabetes, obesidad y ser fumador o exfumador. En cuanto a la patología que provocó la intervención, se dan 2 casos de disección aórtica, 11 casos de válvula bicúspide, 3 casos de válvula calcificada, 9 casos de insuficiencia aortica. El análisis histológico llevado a cabo por patólogos (J.F. Val-Bernal, M. Mayorga) permite aplicar un método de cuantificación de las anomalías (Sección 3.1.3.3), asignando un grado de degradación o *score* a cada espécimen analizado, desde 0-sano, hasta 15-completamente degradado.

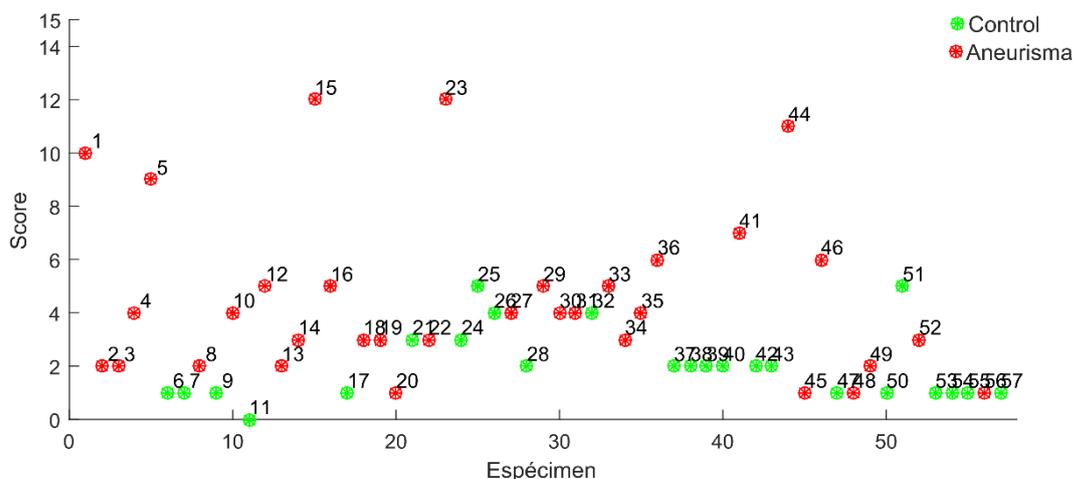


Figura 5.2. Marcador histológico según la procedencia de las muestras de aorta ascendente analizadas.

5.2 Análisis de los perfiles de atenuación

Una aorta con una composición uniforme, como es el caso de una muestra sana, presenta un perfil de atenuación uniforme. Por el contrario, una aorta con alteraciones en su estructura presenta alteraciones en su perfil de atenuación. Para poder trabajar con los perfiles limpios, primero es necesario detectar la superficie de la muestra, donde comienza la curva de atenuación. Para esto primero se ha aplicado una reducción de ruido detectando la componente de color azul (Sección 4.2.2.2) y se han detectado y eliminado los artefactos en base al rango intercuartil (Sección 4.2.2.3). A continuación se detecta la superficie de la muestra mediante umbralización (Sección 4.2.2.3). Una vez detectada la superficie se puede aplanar, esto es, eliminar el aire de la muestra, para poder así trabajar con los perfiles de atenuación del tejido de la muestra (Figura 5.3).

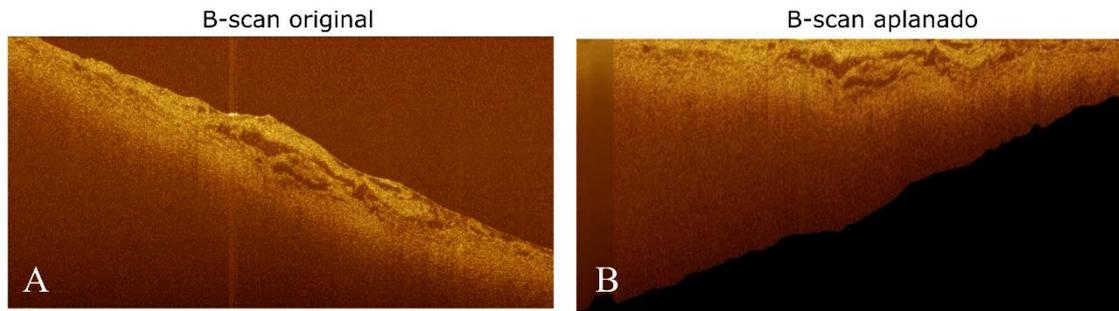


Figura 5.3. B-scan original (A) y aplanado (B) para el estudio de los B-scan en profundidad.

La curva de atenuación sigue un perfil exponencial según la ley de Beer-Lambert. Se aplica un ajuste por mínimos cuadrados para obtener los coeficientes de la siguiente expresión, así como el coeficiente de determinación R^2 [5].

$$I(z) = Ae^{\alpha z} + C \quad (5.1)$$

Al aplicar el ajuste (Figura 5.4) se puede apreciar como en el caso se muestras de control la desviación del A-scan frente a el ajuste es menor, consiguiendo un coeficiente de ajuste R^2 mayor.

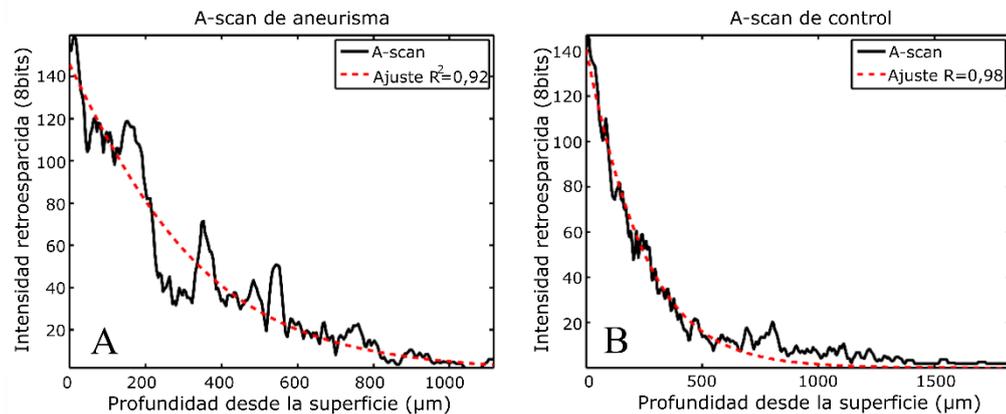


Figura 5.4. A-scan de una muestra de aneurisma (A) y de una muestra de control (B). En el caso de controles, se ajustan mejor a una atenuación exponencial ideal [6].

Se han analizado A-scan de 21 regiones de diferentes pacientes, correspondientes a 17 regiones de aneurisma y 4 regiones correspondientes a controles. Los coeficientes obtenidos para cada uno, se asignan a la clase control o aneurisma para ver los resultados estadísticos. Al realizar un diagrama de cajas o *boxplot* con la amplitud (Figura 5.5 A), el exponente (Figura 5.5 B) y el coeficiente de ajuste (Figura 5.5 C), se puede apreciar como las clases de aneurisma y control se solapan, con lo que no es posible detectar la pertenencia de un A-scan a una clase sin error. Esto se debe a que en las muestras degradadas, no todos los A-scan muestran daños, por lo que en promedio la estadística de todos los A-scan de una misma región de análisis se acerca a la del tejido sano.

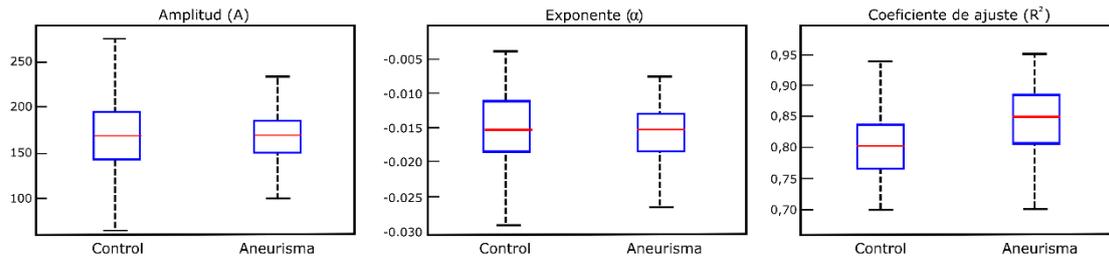


Figura 5.5. Representación en diagramas de cajas de los valores obtenidos para el ajuste propuesto en la ecuación 5.1, comparando los A-scan correspondientes a muestras de aneurisma y de control [6].

Se ha aplicado la característica operativa del receptor o ROC (del inglés *Receiver Operating Characteristic*) para medir la capacidad de discriminación de los parámetros del ajuste propuesto como elemento clasificador de muestras en las clases aneurisma o control. La curva ROC representa en el eje vertical la *Sensibilidad* y en eje horizontal el parámetro *1-Especificidad*. La sensibilidad indica la probabilidad de detectar todas las muestras patológicas y la especificidad representa la probabilidad de falsa detección de patología en una muestra sana. Para cada parámetro del ajuste (ecuación 5.1), amplitud, exponente, término independiente y coeficiente de ajuste, se barren sus valores a modo de umbral de asignación de una u otra clase (Figura 5.6).

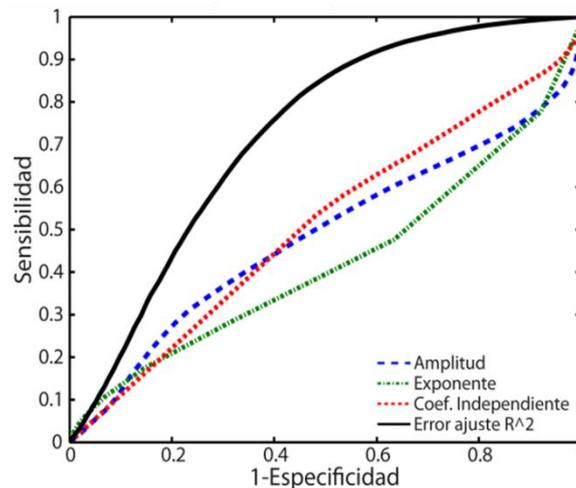


Figura 5.6. Curva ROC para los coeficientes obtenidos en el ajuste exponencial.

En la curva ROC, el área bajo la curva da una medida de la bondad del clasificador. Un área en torno a 0,5 implica que el parámetro probado produciría una clasificación baja, en torno al 50% de aciertos y errores. El coeficiente de determinación R^2 que mide la bondad del ajuste, proporciona mejores resultados de sensibilidad y especificidad, con un área bajo la curva de 0,72. El motivo por el que este método no produce una respuesta más alta es que no todos los A-scan de muestras de aneurisma presentan perfiles abruptos, ya que muchas de las regiones de la medida presentan un perfil de atenuación normal, igual a la de muestras de control [6].

5.3 Análisis textural

Las diferencias de homogeneidad que se percibe tras el análisis visual pueden ser calculadas por medio de un método textural que sea capaz de percibir diferencias en la morfología de las muestras. Después de limpiar la imagen, detectar la superficie y eliminar los artefactos de medida, se aplica el cálculo de la matriz de coocurrencia en escala de grises GLCM (Sección 4.2.3.4). A

continuación, se pueden calcular los estadísticos de esta matriz como elementos de diferenciación de muestras sanas y enfermas: contraste, correlación, energía y homogeneidad. En este caso, no se puede aplanar la imagen puesto que es necesario analizar los píxeles en conjunto con sus vecinos. Se seleccionan en cada imagen recuadros en la capa media (Figura 5.7), 20 píxeles por debajo de la superficie y de dimensión variable para estimar así el tamaño que produzca mejores resultados en cuanto a la diferenciación de muestras sanas y enfermas [6].

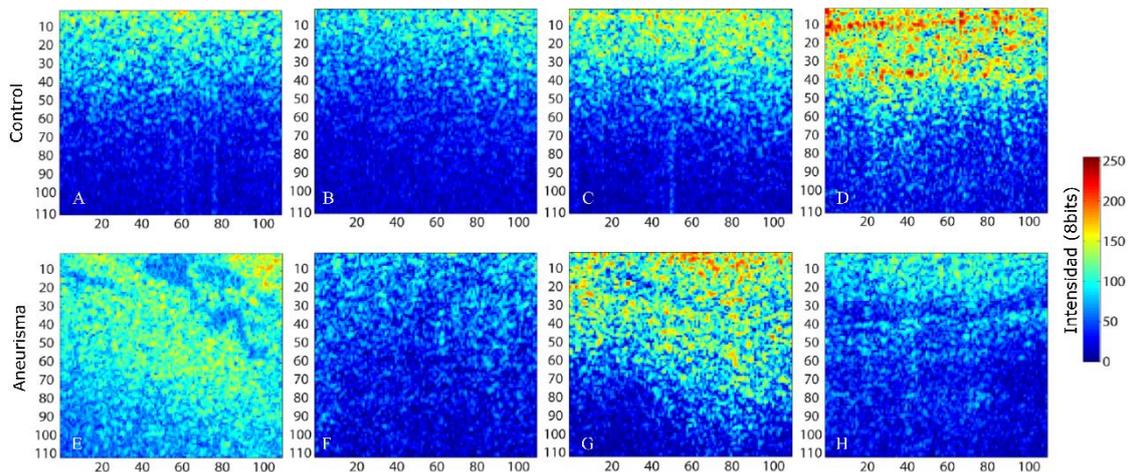


Figura 5.7. Segmentos de tamaño de 110x110 píxeles seleccionados en muestras de control-donante (superior) y aneurisma (inferior) para el cálculo de su matriz de co-ocurrencia. Los aneurismas presentan alteraciones apreciables frente a la atenuación suave de los controles [6].

Para el cálculo de los niveles de co-ocurrencia es necesario establecer ciertos parámetros. En primer lugar, hay que definir el tamaño de la ventana de análisis dentro de la imagen. A continuación, hay que definir la distancia de co-ocurrencia y la orientación de ésta. La orientación de los píxeles parece presentar más variación en los ejes vertical y horizontal, debido a la organización de la muestra en capas. En cuanto a la distancia de co-ocurrencia, las agregaciones de píxeles que se aprecian son pequeñas, de unos pocos píxeles. Se seleccionan tamaños de ventana de entre 10 y 150 píxeles, distancias de 2, 6 y 10 píxeles y orientación vertical y horizontal (90° y 0°). Se toman para cada B-scan tantas ventanas como quepan dado el tamaño en cada caso. Barriando estos parámetros se obtiene la curva ROC y el área bajo esta curva como parámetro que caracteriza la clasificación entre muestras de aneurisma y de control (Figura 5.8).

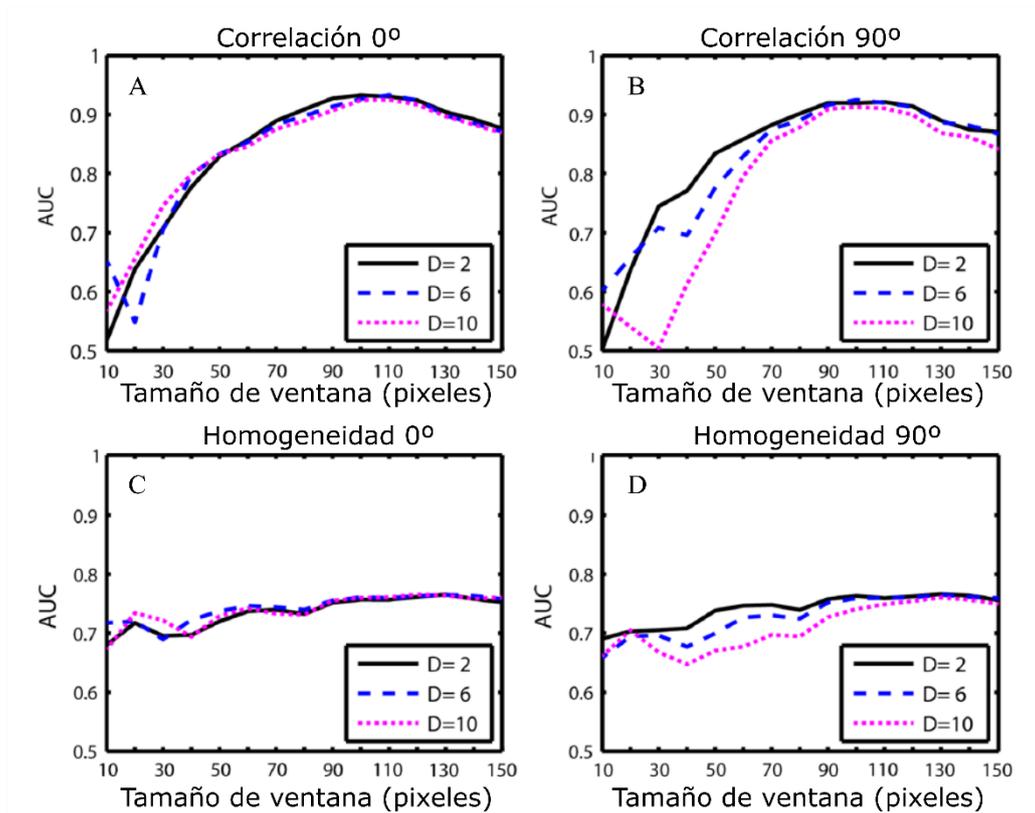


Figura 5.8. Área bajo la curva ROC (AUC) calculado para diferentes valores de tamaño de ventana, de distancia de co-ocurrencia y diferentes orientaciones [6]. Cuanto mayor es el valor AUC mejor será la capacidad de clasificación del parámetro en cuestión.

Se aprecia como la homogeneidad (Figura 5.8 C y 5.8 D) es relativamente uniforme y la correlación (Figura 5.8 B) es muy dependiente del tamaño de ventana, aunque no tanto de la orientación ni de la distancia de co-ocurrencia. El contraste y energía de la matriz GLCM no presentan áreas bajo la curva ROC relevantes y no han sido representados. Los parámetros que maximizan el área bajo la ROC son un tamaño de ventana de 110x110 píxeles (aproximadamente 467 μm) y una distancia de co-ocurrencia de 2 píxeles (aproximadamente 8 μm), indistintamente del ángulo. Seleccionando estos valores se obtienen diagramas de cajas para cada parámetro estadístico de la matriz de co-ocurrencia para orientaciones a 0° y 90° (Figura 5.9).

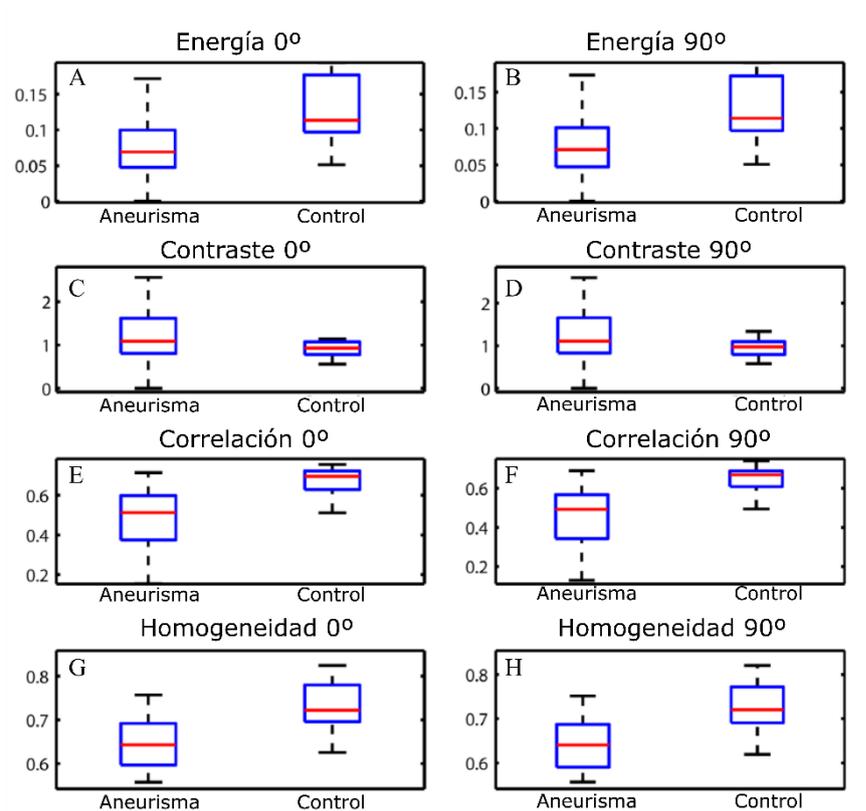


Figura 5.9. Diagramas de cajas de los parámetros estadísticos de las matrices de coocurrencia para ventanas de 110 píxeles y distancia de coocurrencia de 2 píxeles [6].

En estos diagramas de cajas se aprecia como, efectivamente, la energía (Figura 5.9 A y 5.9 B) y el contraste (Figura 5.9 C y 5.9 D) tienen demasiado solapamiento entre las cajas, lo que indica que no presentan capacidad de clasificación. La correlación (Figura 5.9 E y 5.9 F) y la homogeneidad (Figura 5.9 G y 5.9 H) presentan cajas más separadas, lo que implica una mayor separación entre las clases de control y aneurisma. Para estos parámetros se representa la curva ROC (Figura 5.10).

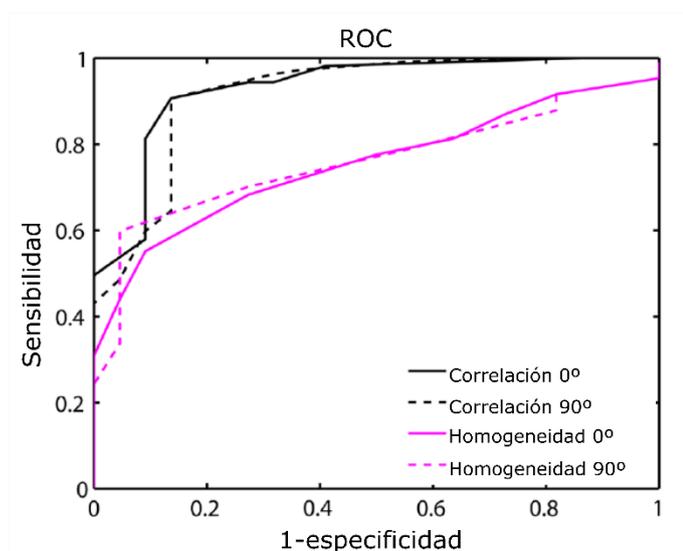


Figura 5.10. Curva ROC para los estadísticos que proporcionan mejores valores de clasificación. En todos los casos se presenta una elevada sensibilidad y especificidad [6].

El mejor clasificador se consigue para el parámetro de correlación, obteniendo unos valores de sensibilidad de 90,6% y especificidad de 86,4% tanto calculados para una co-ocurrencia a 0° (horizontal) como a 90° (vertical). El valor que proporciona este resultado en la ROC es una correlación igual a 0,63. Este valor se toma como valor umbral de clasificación para asignar la pertenencia a la clase control o aneurisma en función de si sobrepasa o no dicho umbral. La clasificación obtenida mediante esta umbralización se compara con la degradación establecida por el patólogo según el criterio de cuantificación de la degradación, consiguiendo una clasificación sin errores de las 14 muestras analizadas (Figura 5.11).

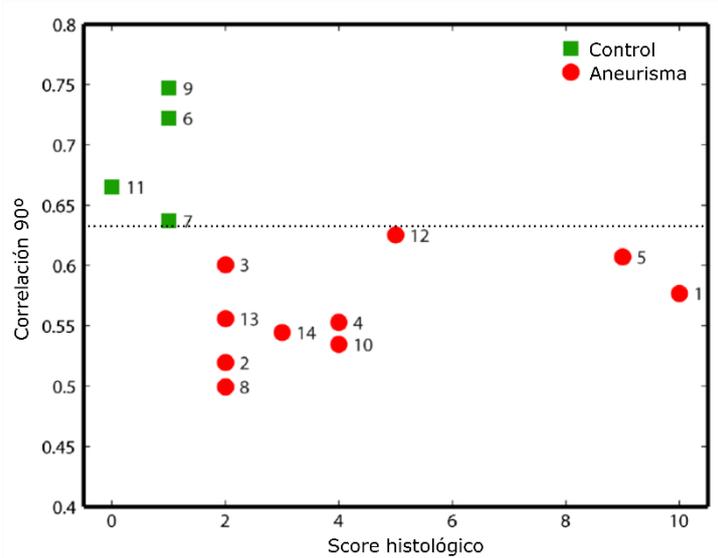


Figura 5.11. Clasificación según el valor de correlación representada frente a la clasificación establecida por el patólogo en cuanto al marcador histológico. Se muestra el valor umbral en línea punteada [6].

5.4 Anomalías en la composición arterial

La cuantificación histológica se basa en la detección de anomalías y sus dimensiones en la pared arterial. Puesto que las imágenes tomadas con el equipo OCT permiten obtener una imagen similar a la imagen histológica, la cuantificación de las anomalías y sus dimensiones con OCT pueden proporcionar un criterio de clasificación similar. De esta manera, OCT podría convertirse en una especie de “biopsia virtual” para realizar en tiempo real en entornos intraoperatorios. Mientras que en el análisis histológico se pueden percibir los elementos que forman el tejido de la pared, en la imagen OCT sólo se percibe diferencias en nivel de intensidad. La detección se enfoca a la delineación de niveles de baja intensidad rodeadas por regiones de intensidad más elevada y homogénea. La detección de anomalías en las imágenes se puede afrontar desde diferentes perspectivas, en función de la forma, tamaño, distribución, etc. En el caso de las anomalías de la aorta, presentan patrones amorfos, de diferentes tamaños y en ocasiones alargadas en la dirección horizontal [7].

5.4.1 Delineación de anomalías en función del histograma de imagen

Puesto que las anomalías suponen una intensidad fuera de lo común, esto se ve reflejado en el histograma de la imagen en escala de grises. Tras aplicar un filtro de mediana asimétrico para

suavizar la imagen, se aplica el algoritmo de Otsu una primera vez para delimitar la interfaz entre muestra y aire (Sección 4.2.3.1). A continuación, se rellena la imagen para no dejar huecos en su interior y se utiliza como máscara para aplicar a la imagen original. De esta forma se elimina la parte de imagen irrelevante y se vuelve a aplicar el algoritmo de Otsu para conseguir otra máscara binaria. Se repite el proceso hasta delinear las anomalías de forma satisfactoria (Figura 5.12) [8].

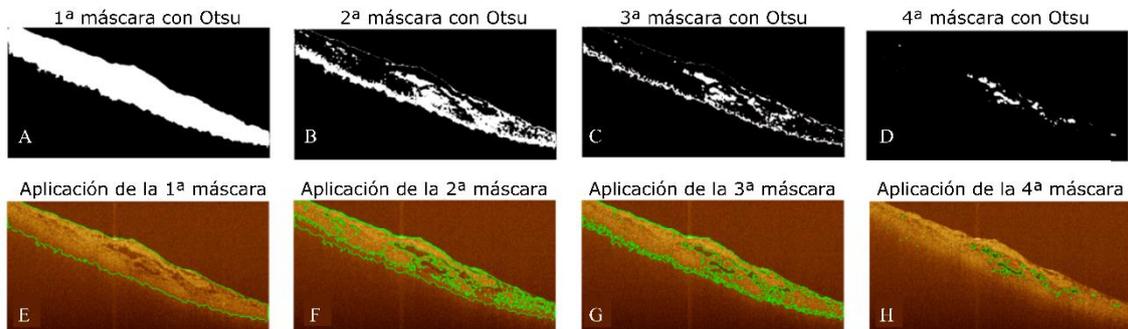


Figura 5.12. Máscaras obtenidas al aplicar el algoritmo de Otsu (superior) de forma iterativa y la delineación obtenida tras su aplicación (inferior) [8].

Con cada aplicación de Otsu se eliminan regiones de alta intensidad, hasta llegar a niveles de intensidad del entorno de las anomalías que se pretende delinear. La aplicación de este método iterativo a las imágenes que presentan una elevada degradación produce una delineación de anomalías grandes (Figura 5.13 B, 5.13 D, 5.13 F). En el caso de muestras con baja degradación, se realzan pequeños puntos que son fácilmente diferenciables en tamaño frente a las muestras muy degradadas (Figura 5.13 A, 5.13 C, 5.13 E).

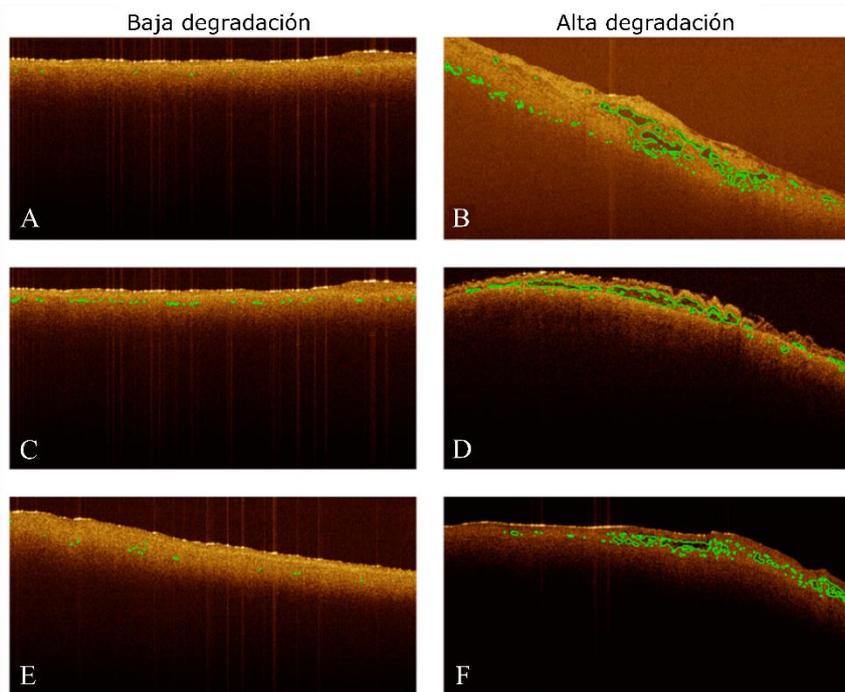


Figura 5.13. Delineación obtenida con el método iterativo de Otsu en muestras que presentan baja degradación (izquierda) y alta degradación (derecha) en el análisis histológico) [8].

5.4.2 Delineación de anomalías mediante realce de bordes

El principal inconveniente de la delineación de anomalías en imagen OCT es el elevado ruido y el hecho de que las anomalías no presentan bordes bien definidos, sino difuminados y amorfos. El realce de estos bordes puede facilitar la delineación. Los filtros de Gabor (Sección 4.2.2.4) realzan los bordes de forma abrupta a la vez que reducen el nivel de ruido, lo cual ayuda tanto a la segmentación de la superficie de la muestra como a la delineación de anomalías. Una vez hecho esto, se aplica la corrección de la respuesta del sistema: la función de dispersión de punto axial (PSF) y de la pérdida de sensibilidad con la penetración (*roll-off*) (Sección 4.2.1.4, ecuación 4.21, 4.25). Este paso ayuda a realzar las anomalías presentes en la zona más profunda de la muestra. Una vez realizada la imagen, se aplica el algoritmo de umbralización de Otsu para delinear las anomalías (Figura 5.14) [9].

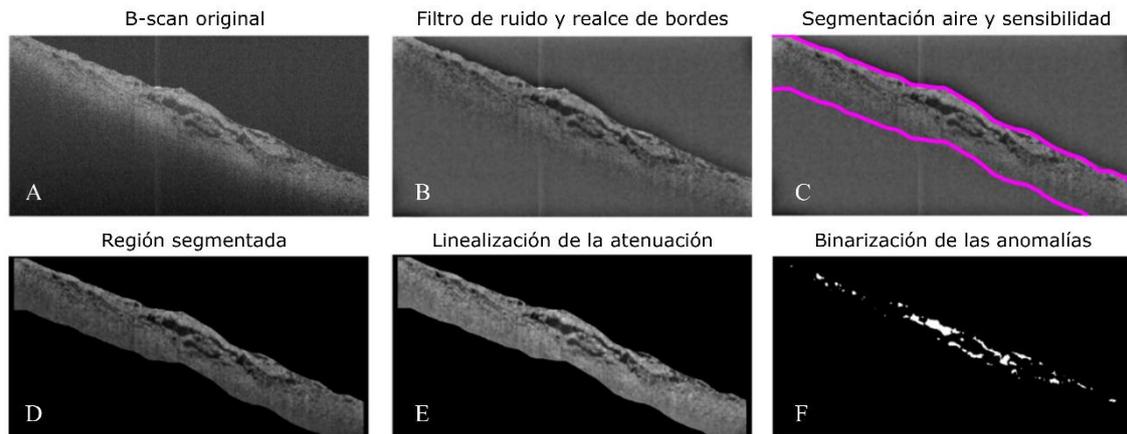


Figura 5.14. Proceso de detección de anomalías: 1) se aplica un filtro de Gabor logarítmico para eliminar ruido y realce de bordes (B); 2) se detecta la región de aire por umbralización; 3) se selecciona un límite a 150 píxeles en profundidad (C); 4) se linealiza la respuesta del B-scan para mejorar la respuesta en intensidad (E) y 5) se binariza la imagen con Otsu (F) [9].

Una vez detectada la superficie y las anomalías, se pueden obtener diferentes parámetros. A partir de la línea de la superficie se establece el eje horizontal, paralelo a la superficie, puesto que la pared arterial está organizada en capas horizontales. Posteriormente se analiza el área en píxeles de cada anomalía y se descartan las más pequeñas, correspondientes a ruido en la medida. Para cada anomalía detectada en un B-scan se calcula su área en píxeles y micras, localización, longitud del eje mayor y del eje menor y ángulo respecto a la superficie de la muestra (Figura 5.15).

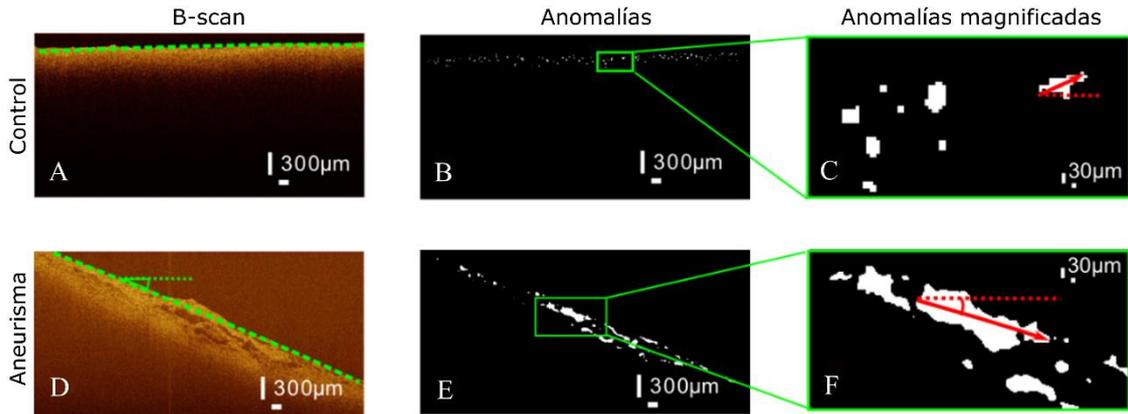


Figura 5.15. Análisis de anomalías halladas en una imagen correspondiente a una muestra de control (superior) y a una muestra de aneurisma (inferior). El tamaño de las anomalías es mayor en el segundo caso, y su forma tiende a ser más alargada y no tan esférica [9].

Se organizan las muestras según su marcador o *score* histológico en dos categorías: categoría 1, de baja degradación, cuando el marcador va entre 0 y 7 puntos, y categoría 2, de alta degradación, cuando el marcador va desde 8 hasta 15 puntos. Puesto que la degradación varía de una región a otra del mismo espécimen, se computa el área máxima para cada B-scan de forma independiente. Un parámetro relevante es el área de la mayor anomalía encontrada en cada B-scan. Con los datos obtenidos, se calcula una curva ROC barriendo el umbral de área máxima hallada a partir del cual un B-scan se considera categoría 1 o 2. Si para una muestra más del 50% de los B-scan son considerados categoría 1, la muestra será considerada de categoría 1. Si se consideran categoría 2 el 50% o más de los B-scan, la muestra se considerará como de categoría 2.

A partir de esta premisa, se calcula la curva ROC de clasificación de muestras en categoría 1 o 2 para un conjunto de datos que comprende 28 muestras: 10 procedentes de donantes y 18 procedentes de casos de aneurisma. Se logra un valor máximo de 100% de sensibilidad y de un 91,6% de especificidad (Figura 5.16 A) obtenido para un tamaño umbral de anomalía de 120 píxeles.

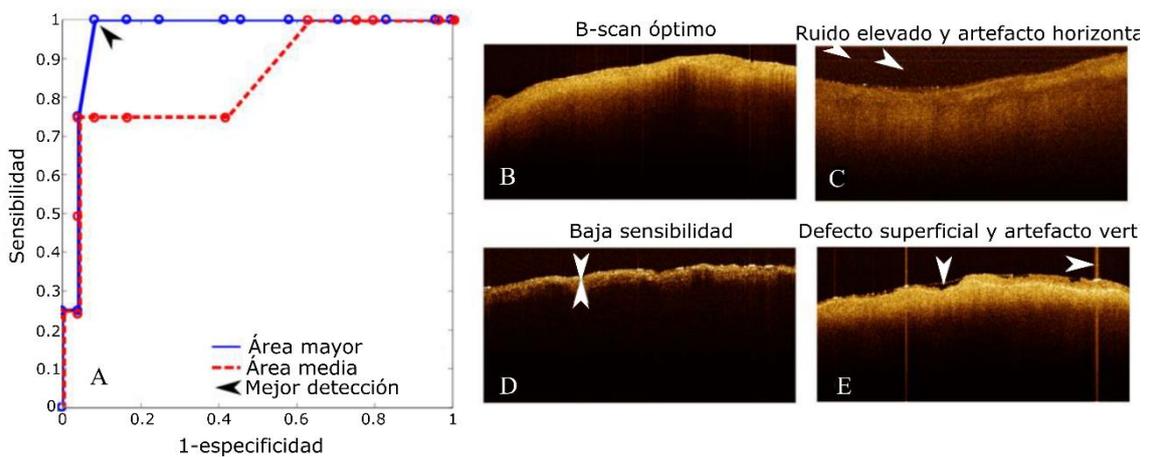


Figura 5.16. Curva ROC para los tamaños de área máxima en cada B-scan y el tamaño medio de áreas en cada B-scan. Las muestras mal clasificadas se deben a alto ruido en el B-scan (C), baja sensibilidad en la medida (D) y defectos en la medida (E) [9].

Los B-scan que producen error en la clasificación se han analizado por separado y se corresponden con dos muestras. La primera, la muestra 7 (Figura 5.16 C), presenta baja calidad en las medidas: elevado ruido ($SNR < 50dB$ en la medida) y/o bajo rango dinámico (menor que $40dB$). La segunda muestra, la 17 (Figura 5.16 D, E), presenta fuertes irregularidades en la superficie que hacen compleja la detección de la interfaz entre el aire y la muestra. Estas dos muestras se consideran mal medidas.

Más allá de comprobar si se sobrepasa un tamaño de anomalía para clasificar las muestras en dos categorías, el área máxima detectada produce una cuantificación de la degradación de las muestras. Cuanto mayor es el área, mayor es la degradación, lo que parece coincidir con el marcador histológico obtenido en patología (Figura 5.17). El ajuste lineal consigue un ajuste de valor $R=0,659$, lo cual no es elevado, aunque el valor p es suficiente bajo ($p=0,00025$) para asumir que el valor obtenido no se debe al azar.

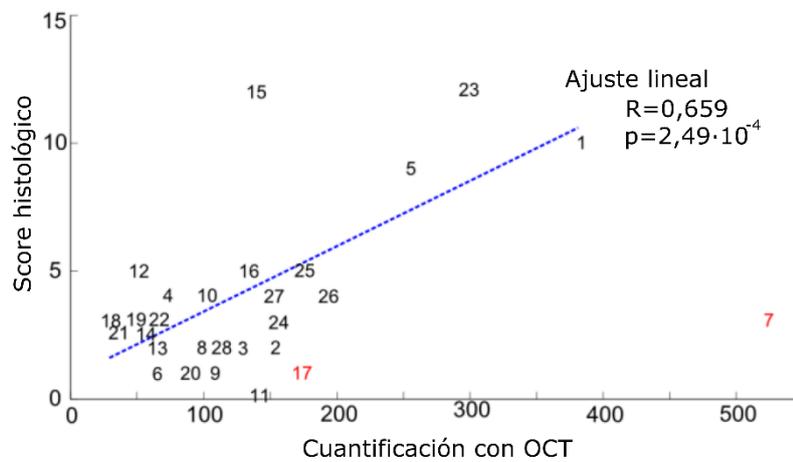


Figura 5.17. Comparativa entre la cuantificación del área máxima en píxeles y el marcador histológico. Las muestras mal medidas (7 y 17) no se consideran en el ajuste [9].

Analizado el tipo de anomalías detectadas, se puede considerar que el marcador histológico no se puede reproducir completamente con OCT. Este marcador recoge valores de fibrosis, necrosis, cambios quísticos, fragmentación de fibras elásticas y orientación de células musculares, asignando una cuantificación de 0 a 3 a cada uno, sumando un total de hasta 15 puntos. En el caso de OCT, la fibrosis y la necrosis no pueden ser cuantificadas según el método propuesto como anomalías puesto que afectan a áreas grandes de la muestra, ocupando una gran porción del B-scan (Figura 5.18).

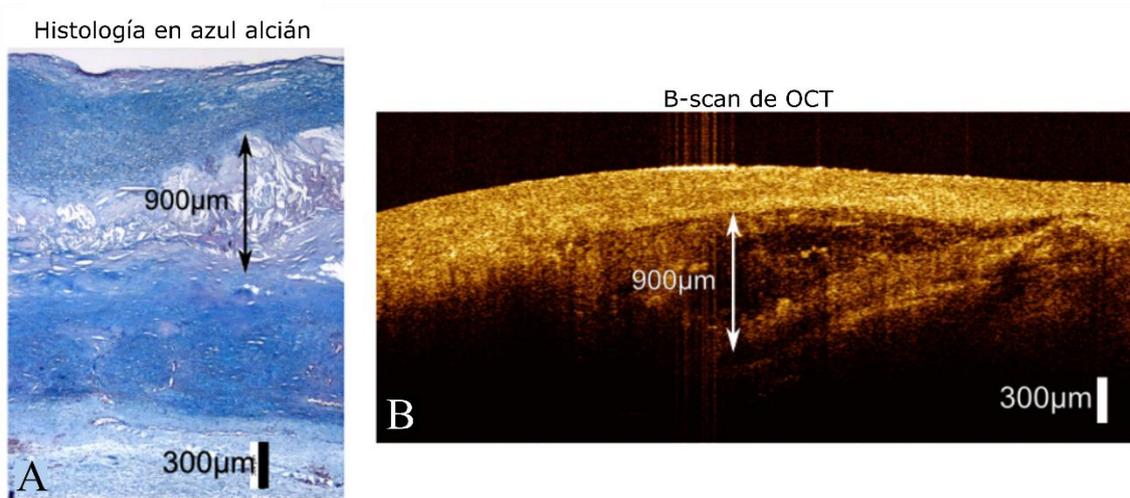


Figura 5.18. Comparación entre una imagen histológica (A) y una imagen de OCT (B) de la misma muestra en la que se ha co-registrado el daño producido por necrosis y fibrosis [9].

Para realizar una comparación más fiel entre la cuantificación histológica y OCT, se considera un semi-marcador histológico o *score* reducido. Este marcador cuenta sólo con las degradaciones de cambios quísticos, fragmentación de fibras elásticas y orientación de células musculares. Se comprueba que estos tres parámetros son los más influyentes, no sólo en OCT, sino también en el marcador histológico total (Figura 5.19 A), puesto que producen un ajuste lineal con éste de coeficiente $R=0,947$. Esto indica que la fibrosis y necrosis tienen una relevancia menor en la cuantificación histológica de la degradación en las muestras estudiadas. Comparando el área máxima visto en OCT con este semi marcador, se ve como la linealidad aumenta frente a la comparación con el marcador histológico completo.

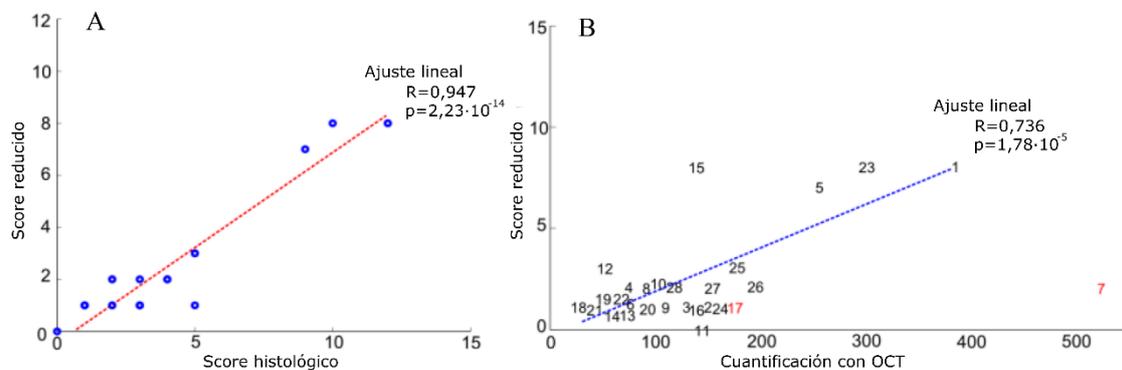


Figura 5.19. Reducción y comparación del marcador histológico completo a un semi-marcador reducido a sólo tres de los cinco factores de degradación (A). Este semi marcador produce un ajuste más lineal con el tamaño del área máxima detectado en los B-scan (B) [9].

El análisis de las áreas de anomalía no sólo da información acerca de la pertenencia a las categorías 1 o 2. También permite analizar la forma de éstas y su orientación. Se ha comprobado que el 75% de las anomalías detectadas presentan una forma aproximadamente circular (Figura 5.20 A). En canto a la orientación de las áreas grandes, el 56,7% de las áreas tiene una orientación prácticamente paralela a la superficie de la muestra (Figura 5.20 B) debido a que la degradación en la arteria se produce entre capas y a lo largo de estas [10].

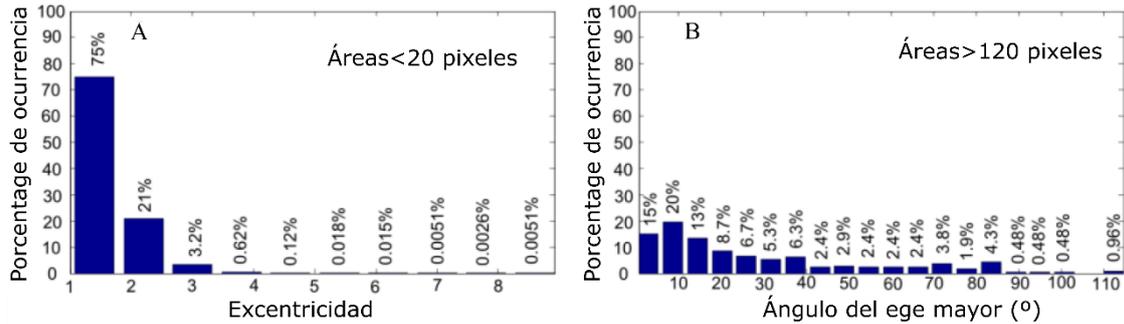


Figura 5.20. Análisis de la excentricidad de las anomalías pequeñas, menores de 20 píxeles consideradas como ruido (A) y de la orientación de las áreas grandes, mayores que 120 píxeles (B) [9].

Finalmente, se analizan los C-scan completos, ya que presentan una medida conjunta de 1024 B-scan cada uno. Para cada B-scan comprendido en el C-scan se calcula el área máxima de degradación. A cada B-scan se le asigna un mapa de color que comprende los valores máximos hallados en el análisis previo (*Cuantificación con OCT* de 0 a 400 píxeles Figura 5.19 B). De esta forma, se puede obtener un mapa de degradación de cada región y un promedio de la región completa, que podrá servir como ayuda a la toma de decisiones en quirófano para indicar el nivel de degradación de la muestra al cirujano (Figura 5.21).

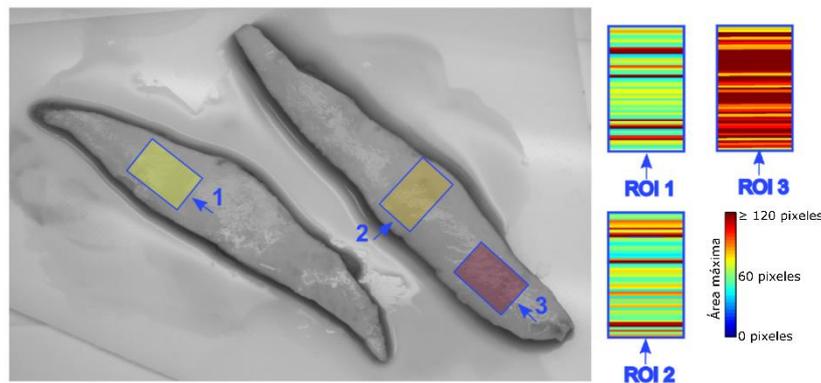


Figura 5.21. Mapa de degradación de las regiones medidas en una muestra de aorta. Sobreimpresionado sobre la imagen se ha dibujado el área medida con OCT y el color correspondiente a la degradación media. A la derecha se ha asignado a cada B-scan de la región su color correspondiente según las dimensiones del área máxima hallada [9].

5.4.3 Delineación de anomalías mediante diferenciación de imagen

El realce de bordes visto anteriormente produce una mejora considerable como ayuda a la delimitación. Sin embargo, el método de detección de anomalías sigue siendo la umbralización empleando la distribución de intensidades de la imagen. Los métodos de diferenciación se basan en la magnitud y dirección de los cambios producidos en el contorno del píxel, y no de toda la imagen. La aplicación de la primera derivada de la imagen, en el caso discreto la diferenciación entre píxeles cercanos, permite resaltar las diferencias entre píxeles. Se aplica un filtro mediana para eliminar el ruido seguido del operador de Prewitt para obtener la derivada en los ejes vertical y horizontal (Sección 4.2.3.2) [11]. Para este paso, es necesario haber alineado la superficie horizontalmente. Puesto que la dirección del gradiente varía considerablemente de un píxel a otro (Figura 5.22 C), se aplica un suavizado con un filtro Gaussiano de dimensiones de 25x25 píxeles (Figura 5.22 D).

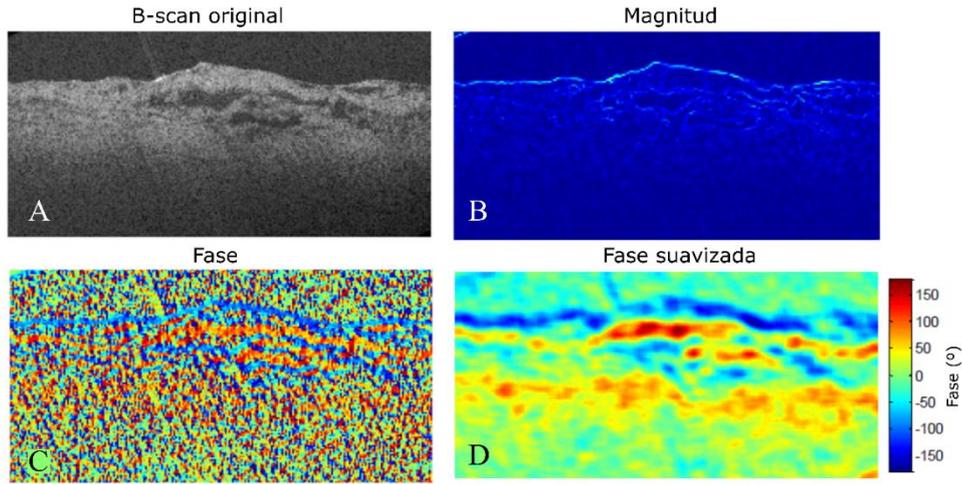


Figure 5.22. Imagen original (A), magnitud del gradiente (B), dirección del gradiente (C) y dirección suavizada con un filtro Gaussiano [11].

Tras la diferenciación mediante el operador de Prewitt se puede obtener información tanto de la magnitud como de la fase. En primer lugar, se resaltan los bordes de la magnitud con el detector de bordes de Canny. En segundo lugar, la dirección de las anomalías en la aorta se alinea horizontalmente, en torno a 180° (equivalente a 0°), por lo que se umbraliza para valores cercanos a este nivel (Figura 5.23).

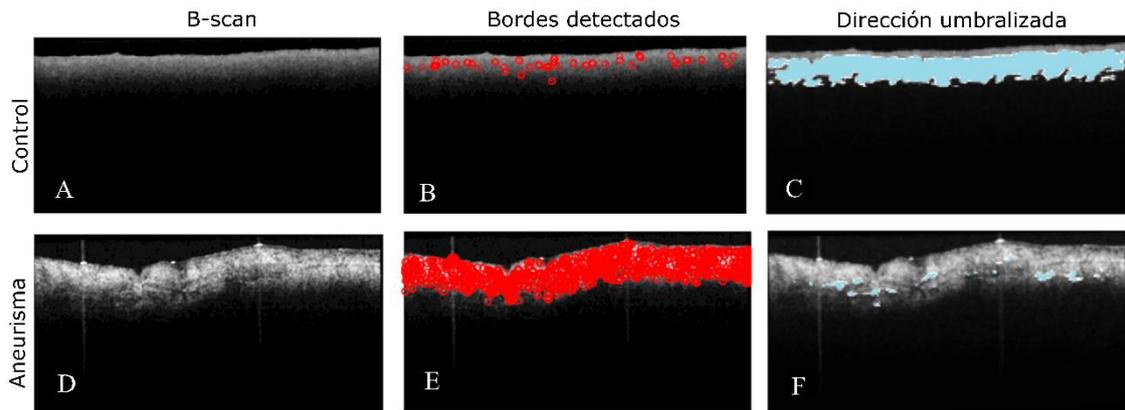


Figura 5.23. Imagen de una muestra con baja degradación, para un marcador histológico=1 (A), bordes detectados (B) y dirección umbralizada en torno a 180° (C). Imagen de una muestra con alta degradación, para un marcador histológico=12 (D), bordes detectados (E) y dirección umbralizada (F) [11].

Aplicando este procedimiento a un conjunto de 3 muestras de donante y 12 de aneurisma se obtiene una relación lineal y proporcional entre el número de bordes detectados en la magnitud y la degradación (Figura 5.24 A). A su vez, para la dirección de las muestras se computa el área de estas regiones que comparten dirección de gradiente. Áreas grandes indican homogeneidad de toda la muestra (Figura 5.23 C) mientras que áreas pequeñas indican que hay mucha variación de direcciones, y por tanto habrá áreas más pequeñas (Figura 5.23 F). En área de las zonas de magnitud similar es inversamente proporcional a la degradación de la muestra (Figura 5.24 B).

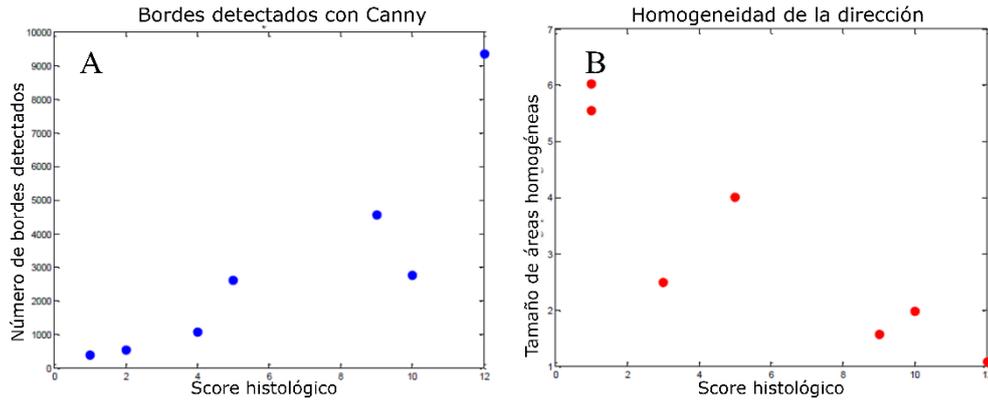


Figura 5.24. Métricas de gradiente comparadas con el marcador histológico para las muestras analizadas. El número de bordes hallados se relaciona de forma proporcional a la degradación (A). El área de regiones homogéneas (fase cercana a 180°) se relaciona de forma inversamente proporcional con la degradación (B) [11].

Estos resultados parciales sugieren que el método de gradiente facilita la delimitación de las áreas. A su vez, el número de estas y su tamaño guardan relación con la degradación en la muestra. Un proceso más avanzado puede producir mejores resultados.

La aplicación de la segunda derivada mediante la obtención de la matriz Hessiana de la imagen permite, en primer lugar, realzar bordes y anomalías y en segundo lugar identificar anomalías de áreas y dimensiones que entren dentro de un patrón identificado previamente [12]. El primer paso, igual que en casos anteriores, consiste en aplicar un filtro mediana asimétrico, de dimensiones 30x60 píxeles vertical por horizontal respectivamente. A esta imagen se le aplica el algoritmo de segmentación de Otsu para detectar la superficie de la muestra [13],[14]. El resultado de la aplicación de la matriz Hessiana depende fuertemente de los parámetros σ_x y σ_y que definen el filtro Gaussiano aplicado en el proceso de filtrado y convolución (Sección 4.2.3.3). Los elementos detectados por los autovalores en la imagen serán del tamaño definido por ambos parámetros, y su forma, será función de la relación entre ellos. Así, si σ_x es mayor que σ_y , se detectarán elementos de forma alargada verticalmente. Si ocurre a la inversa, se detectan elementos de forma alargada horizontalmente. Tras la obtención de la derivada mediante convolución y los autovalores de la imagen, éstos se representan a modo de imagen (Figura 5.25). La binarización de la matriz de autovalores mediante el método de Otsu permite delinear las anomalías del tamaño especificado con σ_x y σ_y .

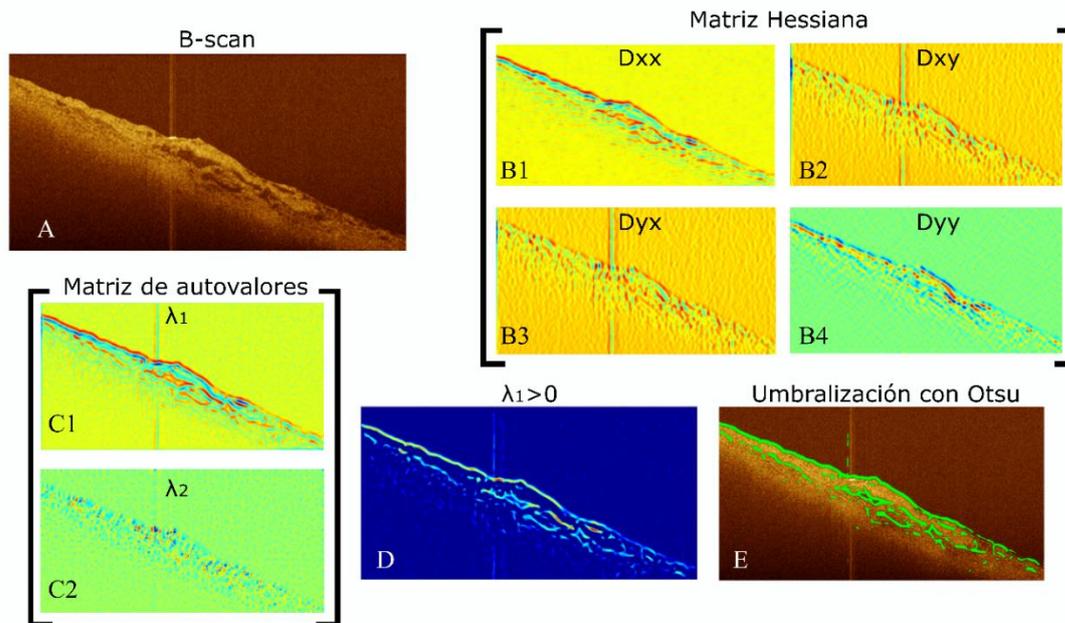


Figura 5.25. Proceso de realce de anomalías mediante la matriz Hessiana. Tras construir dicha matriz a partir de las derivadas parciales en cada pixel (B), se obtienen los autovalores de la matriz Hessiana para cada pixel (C) y se toman sólo los valores para el primer autovalor positivo (D). Otsu permite detectar las áreas más relevantes en el paso anterior (E) [14].

El procesado propuesto se aplica a 32 muestras de aorta, de las cuales 11 proceden de donantes y 21 proceden de pacientes intervenidos de aneurisma. La inspección visual indica que la delineación funciona correctamente. Además, la aplicación de este mismo algoritmo a imágenes histológicas permite obtener la misma delineación en ellas (Figura 5.26 A, 5.26 D) facilitando también su cuantificación automatizada ayudando a obtener parámetros similares a los obtenidos mediante imagen OCT. Sin embargo, la correlación entre muestras obtenidas con ambas técnicas es complicada debido al procesado en el laboratorio de anatomía patológica. Aunque el co-registro no es siempre exacto, se puede apreciar la similitud entre imágenes y los daños similares en ambas cuando se corresponden con la misma región de un espécimen (Figura 5.26).

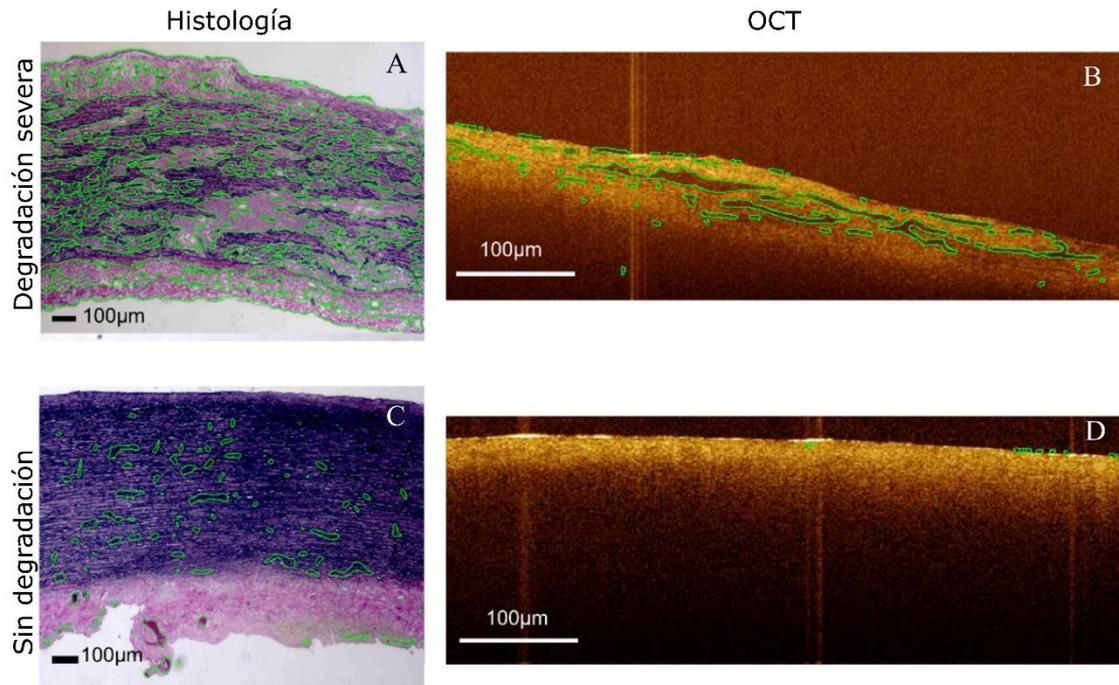


Figura 5.26. Aplicación del procesado a través de la matriz Hessiana en imágenes histológicas y de OCT, tanto en una muestra con elevada degradación (A)(B) como en una muestra con baja degradación (C)(D) [14].

Una vez obtenida la delineación de las anomalías se cuantifica la degradación. En el estudio del marcador histológico se considera que cuanto mayores son las anomalías, y cuanto mayor es su tamaño, mayor es la degradación. Sin embargo, es más perjudicial una degradación de un gran área que pequeñas regiones que puedan acumular en su conjunto un tamaño grande. Por este motivo, la cuantificación de la degradación en la imagen se hace a través de una función exponencial. Se ha propuesto la siguiente fórmula para convertir las áreas delimitadas en la imagen OCT en una métrica de degradación OCT para cada B-scan, M_B :

$$M_B = \sum_{k=1}^{N_a} e^{\frac{a_k}{512 \cdot 1024}} \quad (5.2)$$

donde N_a representa el número de áreas halladas en el B-scan y a_k representa su área, que es normalizada por el tamaño total de la imagen (512x1024 píxeles). Analizando así cada B-scan por separado, se puede ver la variabilidad de los A-scan de cada región (Figura 5.27).

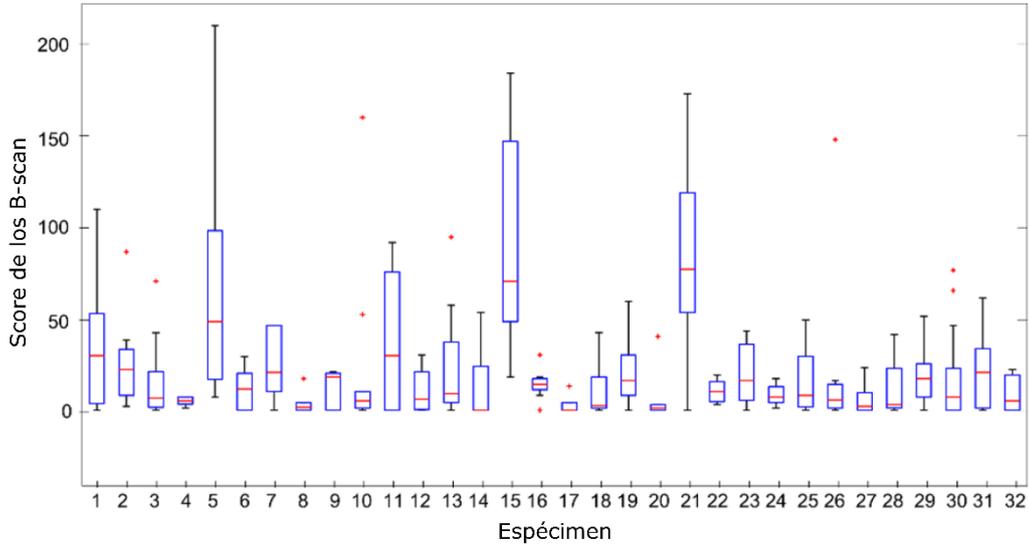


Figura 5.27. Diagrama de cajas representando la distribución de la métrica M_B propuesta de todos los B-scan medidos para cada muestra [14].

Analizando las métricas para cada muestra (Figura 5.27), se observa como en algunas muestras la dispersión de la métrica es mucho mayor que en otras. Una caja más concentrada indica que todos los B-scan analizados para dicha muestra proporcionan métricas similares. Sin embargo, una caja alargada indica que las métricas son muy dispares. Los casos 1, 5, 11, 15 y 21 presentan una dispersión mayor que el resto. Estos casos, salvo la muestra 11, se corresponden con muestras que presentan una elevada degradación (Figura 5.2). La dispersión de las cajas se debe a que, si bien algunos de sus B-scan presentan gran degradación, otros de los B-scan no presentan ninguna o muy baja degradación. Esto es debido a que la degradación de la propia pared no es uniforme en la arteria y tiene mucho de patología puntual. La muestra 11, aunque no presenta degradación histológica, presenta algunos B-scan con daños superficiales en una región.

Dada la dispersión de la degradación en cada muestra, la cuantificación de la muestra completa debe incluir dicha variabilidad. A partir de la métrica de degradación de los B-scan se obtiene la métrica para la muestra completa, M_{OCT} , como un promediado de las anteriores.

$$M_{OCT} = \frac{1}{N_b} \sum_{N_b} M_B \quad (5.3)$$

donde N_b es el número de B-scan cuantificados para la muestra en cuestión. A partir de esta cuantificación se pueden clasificar las muestras y comparar la cuantificación obtenida con la cuantificación histológica de referencia (Figura 5.28).

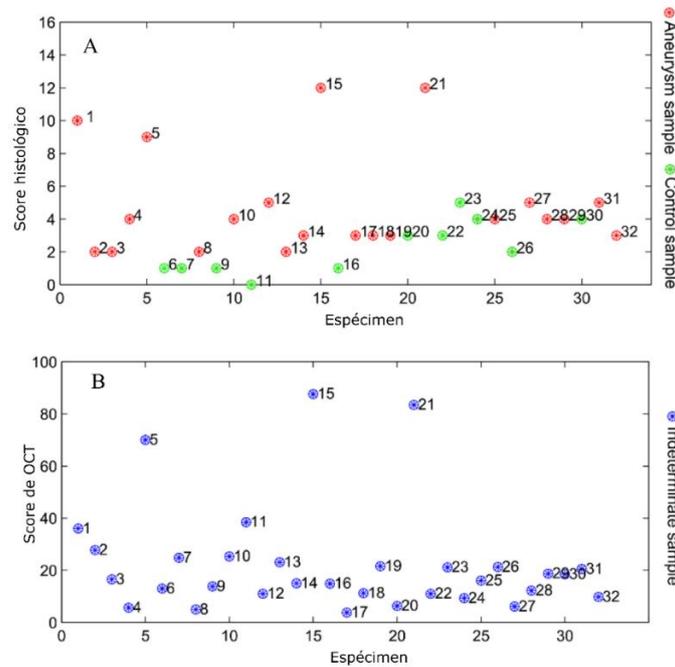


Figura 5.28. Métrica de degradación histológica de referencia (A) comparada con la métrica de degradación M_{OCT} obtenida mediante el análisis de anomalías con OCT (B) [14].

5.5 Conclusiones

El aneurisma de aorta es una patología producida por la degradación de la pared arterial. Este proceso de degradación conlleva la pérdida de células musculares en la capa media del vaso, produciendo un cambio de estructura y composición del tejido que refleja cambios en las propiedades ópticas medibles mediante OCT: índice de refracción y coeficiente de atenuación. La degradación se produce en regiones en la propia capa media y con el paso del tiempo se van extendiendo paulatinamente, deteriorando el resto del vaso, primero en la propia capa y subcapas (capas lamelares), produciendo anomalías alargadas. La técnica de tomografía de coherencia óptica permite visualizar el interior de la pared arterial hasta una profundidad efectiva algo inferior a los 2 mm de profundidad que resulta suficiente para la caracterización de la degradación basada en cambios morfológicos.

Las técnicas histológicas producen información muy precisa acerca de la composición de la pared arterial y su estado de degradación, llegando a visualizar los núcleos celulares. Sin embargo, esta es una técnica laboriosa que implica, en primer lugar la escisión de tejido a analizar y en segundo lugar, conlleva tiempo de procesado para la aplicación de cortes y tinciones. La tomografía de coherencia óptica es una técnica no invasiva, por lo que se puede aplicar in-vivo y en ambientes intraoperatorios. Su velocidad de adquisición es de varias imágenes por segundo, con lo que ofrece visualización del interior del tejido en tiempo real.

El trabajo expuesto en este capítulo confirma que, en primer lugar, la degradación vista durante el análisis histológico puede ser visualizada también con OCT. El análisis en este caso ofrece una resolución y penetración limitada, sin embargo, son suficientes para cuantificar la degradación producida, produciendo un marcador OCT que concuerda con el marcador histológico. En segundo lugar, OCT permite obtener de forma rápida y sencilla imágenes de diferentes regiones del vaso, que como se ha visto en el análisis histológico, presentan diferentes niveles de degradación. Esto facilita la caracterización de diferentes regiones de una misma arteria, lo que produce información más precisa del estado global de la muestra.

El co-registro entre las imágenes histológicas y las imágenes tomadas con OCT es difícil de conseguir debido a las limitaciones de la histología, que ha de aplicar un número limitado de cortes de forma laboriosa, en contraposición con la rapidez y alta resolución de análisis de OCT. OCT consigue resoluciones de 25 micras en el eje lateral por lo que puede muestrear mayor cantidad de tejido, en menor tiempo y, lo más importante, de forma no invasiva e inocua evitando las secciones de la pared necesarias para realizar el análisis histológico. Por esta razón, OCT supone una ventaja como herramienta histológica, permitiendo elaborar un mapa de degradación que puede ser de gran utilidad durante cirugía abierta. Se ha demostrado en este capítulo la viabilidad de OCT para la caracterización de la pared arterial ex-vivo.

Bibliografía

- [1] F. J. van der Meer, D. J. Faber, I. Cilesiz, M. J. C. van Gemert y T. G. van Leeuwen, «Temperature-dependent optical properties of individual vascular wall components measured by optical coherence tomography.», *J. Biomed. Opt.*, vol. 11, n.º 4, p. 41120, 2006.
- [2] R. Drezek, A. Dunn y R. Richards-Kortum, «Light scattering from cells: finite-difference time-domain simulations and goniometric measurements», *Appl. Opt.*, vol. 38, n.º 16, pp. 3651-3661, 1999.
- [3] I. Fine, E. Lowinger, A. Weinreb y D. Weinberger, «Optical properties of the sclera», *Phys. Med. Biol.*, vol. 30, n.º 6, p. 565, 1985.
- [4] E. A. Genina, A. N. Bashkatov y V. V Tuchin, «Tissue optical immersion clearing», *Expert Rev. Med. Devices*, vol. 7, n.º 6, pp. 825-842, 2010.
- [5] E. Real, A. Eguizabal, A. Pontón, M. Calvo, J. F. Val-Bernal, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. López-Higuera y O.M. Conde, «Optical coherence tomography assessment of vessel wall degradation in aneurysmatic thoracic aortas», en *Proc. SPIE 8802, Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques VI, 88020G*, 2013.
- [6] E. Real, A. Eguizabal, A. Pontón, M. Calvo, J. F. Val-Bernal, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. M. López-Higuera y O.M. Conde «Optical coherence tomography assessment of vessel wall degradation in thoracic aortic aneurysms.», *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, n.º 12, p. 126003, 2013.
- [7] E. Real, J. F. Val-Bernal, A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga, J.M. Revuelta, J.M. López-Higuera y O.M. Conde, «OCT assessment of aortic wall degradation for surgical guidance», *Proc. SPIE*, vol. 9157. p. 91575H-91575H-4, 2014.
- [8] D. Alonso, E. Real, J. F. Val-Bernal, J. M. Revuelta, A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Iterative Otsu's method for OCT enhanced delineation in the aorta wall», en *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media*, 2015, p. 95411A.
- [9] E. Real, J. F. Val-Bernal, J. M. Revuelta, A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Identification of vessel wall degradation in ascending thoracic aortic aneurysms with OCT», *Biomed. Opt. Express*, vol. 5, n.º 11, p. 4089, 2014.
- [10] E. Real, J. F. Val-Bernal, A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «OCT for anomaly detection in aortic aneurysm resection», *IEEE SENSORS 2014 Proceedings*. pp. 694-697, 2014.
- [11] A. Eguizabal, E. Real, A. Pontón, M. Calvo, J. F. Val-Bernal, M. Mayorga, J. M. Revuelta, J. M. López-Higuera y O.M. Conde, «Identification of vessel wall anomalies in thoracic aortic aneurysms through optical coherence tomography and gradient-based strategies», en *SPIE Photonics Europe*, 2014, p. 912943.
- [12] E. Real, J. F. Val-Bernal, J. M. Revuelta, A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Enhanced delineation of degradation in aortic walls through OCT», *Proc. SPIE*, vol. 9312. pp. 931233-931235, 2015.
- [13] E. Real, J.F Val-Bernal, J. M. Revuelta, A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga, J.M. López

- Higuera y O.M. Conde, «Detección de anomalías en la pared aortica a través de análisis Hessiano de imágenes de Tomografía de Coherencia Óptica», en *XI Reunión Nacional de Óptica, 2015*, 2015, p. 40.
- [14] E. Real, J. F. Val-Bernal, J. M. Revuelta, , A. Pontón, M. Calvo, M. Mayorga J. M. López-Higuera y O.M. Conde,«Hessian analysis for the delineation of amorphous anomalies in optical coherence tomography images of the aortic wall», *Biomed. Opt. Express*, vol. 7, n.º 4, pp. 1415-1429, 2016.

Capítulo 6

OCT aplicado a las cuerdas tendinosas

<i>6.1 Protocolo de adquisición y manipulación de muestras</i>	121
<i>6.2 Interpretación de imágenes OCT de las cuerdas tendinosas</i>	122
<i>6.3 Análisis del índice de refracción y parámetro de birrefringencia</i>	123
<i>6.4 Comparativa entre muestras sanas y patológicas</i>	125
<i>6.5 Co-registro con tomografía axial computarizada</i>	128
<i>6.6 Conclusiones</i>	129
<i>Bibliografía</i>	130

En las cuerdas tendinosas, las medidas tomadas con el equipo OCT sensible a la polarización adquieren gran relevancia. Las imágenes OCT convencionales proporcionan información acerca del tejido, en función de su coeficiente de atenuación e índice de refracción. Cuando el tejido es homogéneo, la señal retro esparcida no presenta eventos. Las cuerdas tendinosas están compuestas en su mayor parte por colágeno, y su composición es homogénea cuando son sanas. Cuando la degradación avanza, se producirán cambios estructurales importantes cambiando las proporciones de elementos constituyentes de la cuerda y esto hará los defectos visibles ante OCT convencional.

La técnica sensible a la polarización mide el retardo de fase producido por la luz que atraviesa el tejido. Un medio homogéneo tendrá un retardo homogéneo. En el caso de tejidos ordenados como son las fibras de colágeno, los retardos de fase son periódicos y característicos, tanto de la composición del material, como de la ordenación y densidad de éste. Allí donde se rompa ese orden, se verá reducida o desaparecerá la birrefringencia. Se puede caracterizar un tejido por su coeficiente de atenuación, sin embargo, el parámetro de birrefringencia de un tejido es un parámetro más sensible a cambios en la ordenación de las fibras y exclusivo de ciertos tejidos. En este caso, es representativo del estado de las fibras de colágeno, ya que otros elementos propios de las cuerdas tendinosas como las fibras elásticas, los mucopolisacáridos o las áreas calcificadas no presentan una birrefringencia tan alta como las fibras de colágeno. A partir del retardo de fase medido con el equipo PS-OCT se obtiene el parámetro de birrefringencia de cada cuerda para ser utilizado como herramienta diagnóstica de su estado de forma individualizada.

6.1 Protocolo de adquisición y manipulación de muestras

Las muestras de cuerdas mitrales analizadas se corresponden con cuerdas sanas, reumáticas y degenerativas. Las muestras se obtienen en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en quirófano. Se conservan en una solución de glutaraldehído al 1% que evita el endurecimiento de la muestra sin dañar su estructura. Las muestras son llevadas a laboratorio del Grupo de Ingeniería

Fotónica, donde son analizadas con el sistema OCT, tanto en el modo de intensidad como en el modo sensible a la polarización.

6.2 Interpretación de imágenes OCT de las cuerdas tendinosas

Al igual que sucede con la pared de la arteria aorta, OCT permite visualizar cortes transversales de las cuerdas tendinosas. Dichas cuerdas presentan un diámetro generalmente inferior al milímetro, permitiendo ser observadas completamente en toda su sección. Además, se pueden observar varias cuerdas simultáneamente en una medida típica de 10x10 mm (Figura 6.1).

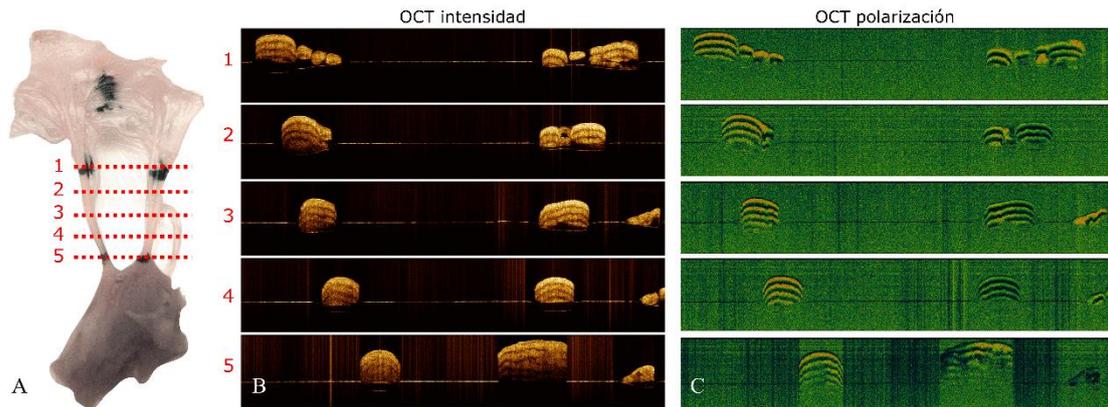


Figura 6.1. Fotografía de una parte del complejo valvular (A) que comprende dos cuerdas completas, parte de velo (superior) y parte de músculo papilar (inferior). Se muestran medidas de cinco regiones adquiridas tanto con OCT en intensidad (B), como en diferencia de fase (C).

En las imágenes OCT en intensidad retro esparcida se perciben los cortes de las fibras de colágeno. En estado relajado de la cuerda, estos haces presentan una ondulación, que hace que la imagen transversal obtenga secciones de los haces en diferentes posiciones. En el caso de cuerdas sanas, la imagen producida presenta una textura uniforme debida a la organización de las fibras de colágeno (Figura 6.2).

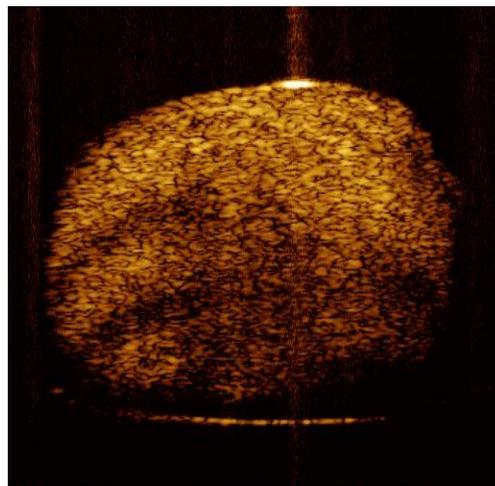


Figura 6.2. Sección de una cuerda tendinosa medida con OCT en intensidad. En el corte transversal de una cuerda sana se aprecian motas producidas por la sección transversal de los haces de colágeno.

Las imágenes en intensidad presentan un artefacto de medida, con mayor o menor incidencia, a modo de franjas periódicas de atenuación de intensidad (Figura 6.3 A). Este patrón no se debe a que el tejido esté estructurado en capas, sino al efecto de la birrefringencia del material en el sistema detector del equipo OCT. En el módulo sensible a la polarización hay dos canales calibrados para medir la polarización vertical y horizontal. Esta respuesta calibrada permite aprovechar el efecto de las bandas para medir el retardo de fase (Figura 6.3 B). El único elemento birrefringente en las cuerdas es el colágeno, y por lo tanto sólo se producen franjas en los lugares donde este tipo de tejido es un componente de la estructura. Las franjas de birrefringencia son características no sólo del tejido, sino también de su estructura. La alteración de la estructura alterará la periodicidad de las franjas.

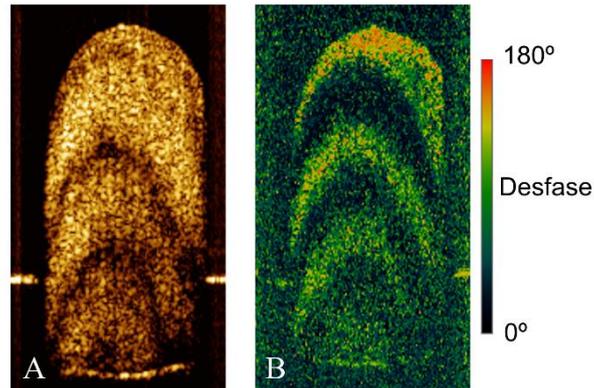


Figura 6.3. Efecto de bandas en una imagen medida con el módulo de intensidad (A) y con el módulo sensible a la polarización (B). En la imagen en intensidad es un artefacto, mientras que en la imagen sensible a la polarización, con los dos canales de medida calibrados, permite medir birrefringencia del material.

6.3 Análisis del índice de refracción y parámetro de birrefringencia

Las cuerdas tendinosas están mayormente formadas por colágeno tipos I y II, que presentan un índice de refracción de 1,4671 y 1,435 [1] respectivamente, medidos a una longitud de onda de 546 nm. El índice efectivo de las cuerdas se ve reducido por la elastina y endotelio. Además, el equipo OCT trabaja a una longitud de onda central de 1325 nm, por lo que el índice de refracción será menor a esta longitud de onda. Para conocer el índice de refracción de las cuerdas a la longitud de onda de trabajo se mide el índice de refracción que percibe el equipo [2] midiendo el incremento producido en el eje de profundidad:

$$n = \frac{z+\Delta z}{z} \quad (6.1)$$

donde z es la dimensión real y Δz el incremento visto en el equipo OCT. Para aplicar esta medida se coloca la cuerda sobre una superficie plana y transparente (Figura 6.4). La zona donde no hay tejido, la correspondiente al aire, presenta las dimensiones reales hasta la superficie plana que sirve de soporte (z). En la región donde se deposita la muestra, el eje de profundidad se distorsiona en un factor igual al índice de refracción de la muestra, incrementando las dimensiones en un factor Δz .

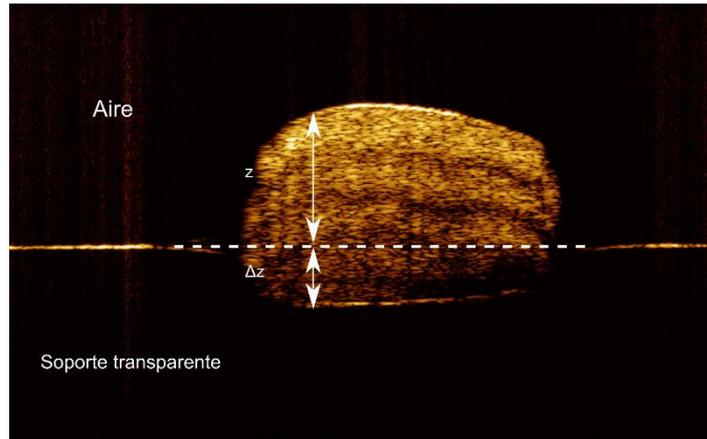


Figura 6.4. Sección de una cuerda tendinosa medida con OCT sobre un soporte plano y transparente. Se indica la dimensión real de la cuerda (z) y el incremento producido por la técnica de medida (Δz).

El índice promedio medido para 6 cuerdas es de aproximadamente $n = 1,3897$ [3]. Estas cuerdas están conservadas en glutaraldehído y medidas en aire, por lo que los resultados se verán modificados para otro tipo de conservante. La exactitud y precisión en el cálculo viene dado por la resolución de un pixel en la digitalización y la capacidad de discriminación óptica producida por la lente. La medida precisa del índice de refracción es compleja y ha de ser precisa, sin embargo, el índice aquí medido con el propio sistema es clave para transformar las dimensiones medidas en términos de pixel en dimensiones reales expresadas en μm . Este hecho es fundamental para poder calcular el diámetro de la cuerda y las dimensiones de elementos internos tales como la sección de los haces individuales de colágeno.

El equipo OCT sensible a la polarización permite calcular el parámetro de birrefringencia del material, definido como la diferencia de índices de refracción entre el eje lento y rápido en la muestra. Las amplitudes de la señal OCT en los ejes vertical y horizontal están desfasadas 90° , siendo proporcionales al cuadrado del seno y coseno [4]:

$$\begin{aligned} I_H(z) &\propto \cos^2(k_0 z \delta) \\ I_V(z) &\propto \sin^2(k_0 z \delta) \end{aligned} \quad (6.2)$$

donde k_0 es la velocidad de la luz a una longitud de onda λ_0 ; z representa la profundidad en la muestra y δ la birrefringencia de la misma. Las franjas en la imagen OCT sensible a la polarización (Figura 6.5) se corresponden con periodos de las señales seno y coseno cuadráticos, que se dan cada 180° , lo que implica $k_0 z \delta = \pi$.

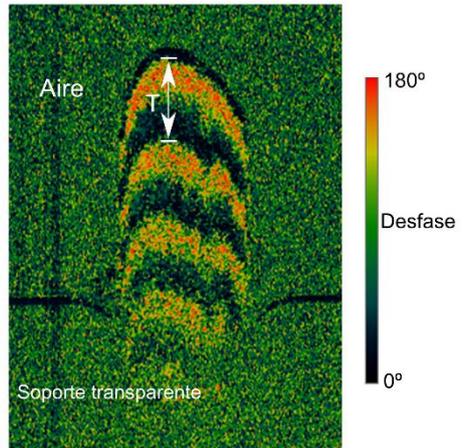


Figura 6.5. Sección de una cuerda tendinosa medida con OCT sensible a la polarización. La imagen representa la diferencia de fase entre los dos canales de medida ortogonales. Se identifica una periodicidad T en las franjas de desfase.

Tomando en la imagen anterior la dimensión de los periodos, $z=T$, se obtiene el parámetro de birrefringencia como [4]:

$$\delta = \frac{\pi}{k_0 T} = \frac{\pi \lambda_0}{2\pi T} = \frac{\lambda_0}{2T} \quad (6.3)$$

6.4 Comparativa entre muestras sanas y patológicas

Los tipos de cuerda analizados son: cuerdas sanas a modo de control, cuerdas degenerativas generalmente de menor diámetro que las de control y cuerdas reumáticas, que presentan un recubrimiento calcificado [5]. Se ha descubierto que las cuerdas patológicas, las degenerativas y reumáticas, presentan además alteraciones en el núcleo, presentando desorden y pérdida de los haces de colágeno y aparición de bolsas de mucopolisacáridos y elastina. Esto produce en la imagen OCT diferentes efectos tal y como se muestra en la Figura 6.6.

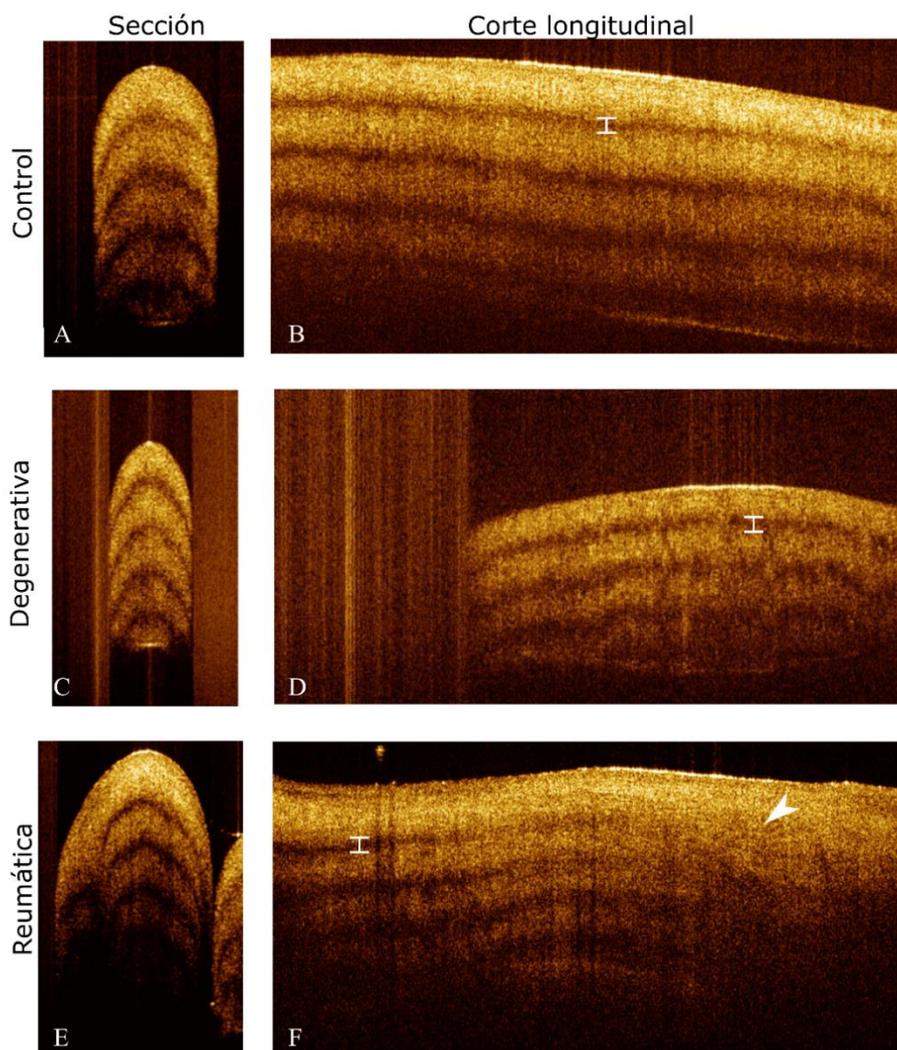


Figura 6.6. Comparativa de imágenes en intensidad de secciones y cortes longitudinales de una muestra de control (A, sección transversal; B, sección longitudinal), una muestra degenerativa (C, sección transversal; D, sección longitudinal) y una muestra reumática (E, sección transversal; F, sección longitudinal). Se indican en barras las diferencias en las bandas y la flecha indica la carencia de estas [5].

En la medida en intensidad las cuerdas presentan una textura uniforme debido al estado de relajación de los haces de colágeno (Figura 6.6A, 6.6 B). En las degenerativas (Figura 6.6 C, 6.6 D), el patrón es similar, pero el diámetro de las cuerdas suele ser más fino y se producen alteraciones que alteran la homogeneidad de la textura hacia el interior de la cuerda. En el caso de las cuerdas reumáticas (Figura 6.6 E, 6.6 F), en el tejido cercano a la superficie desaparecen los mencionados artefactos debidos a la birrefringencia. En estos dos últimos casos, las bandas no son tan suaves como en el caso de control.

En el caso de imágenes de diferencia de fase, la cuerda sana muestra un patrón de franjas paralelas muy marcado (Figura 6.7A, 6.7 B). Las cuerdas degenerativas (Figura 6.7 C, 6.7 D) muestran un patrón similar, pero más difuminado y con pérdida de paralelismo, con alteraciones en las franjas. La muestra reumática (Figura 6.7 E, 6.7 F) presenta franjas más difuminadas y un engrosamiento superficial carente de dichas franjas. Esto se debe a la presencia de colágeno en el núcleo de la cuerda, pero no en la capa externa.

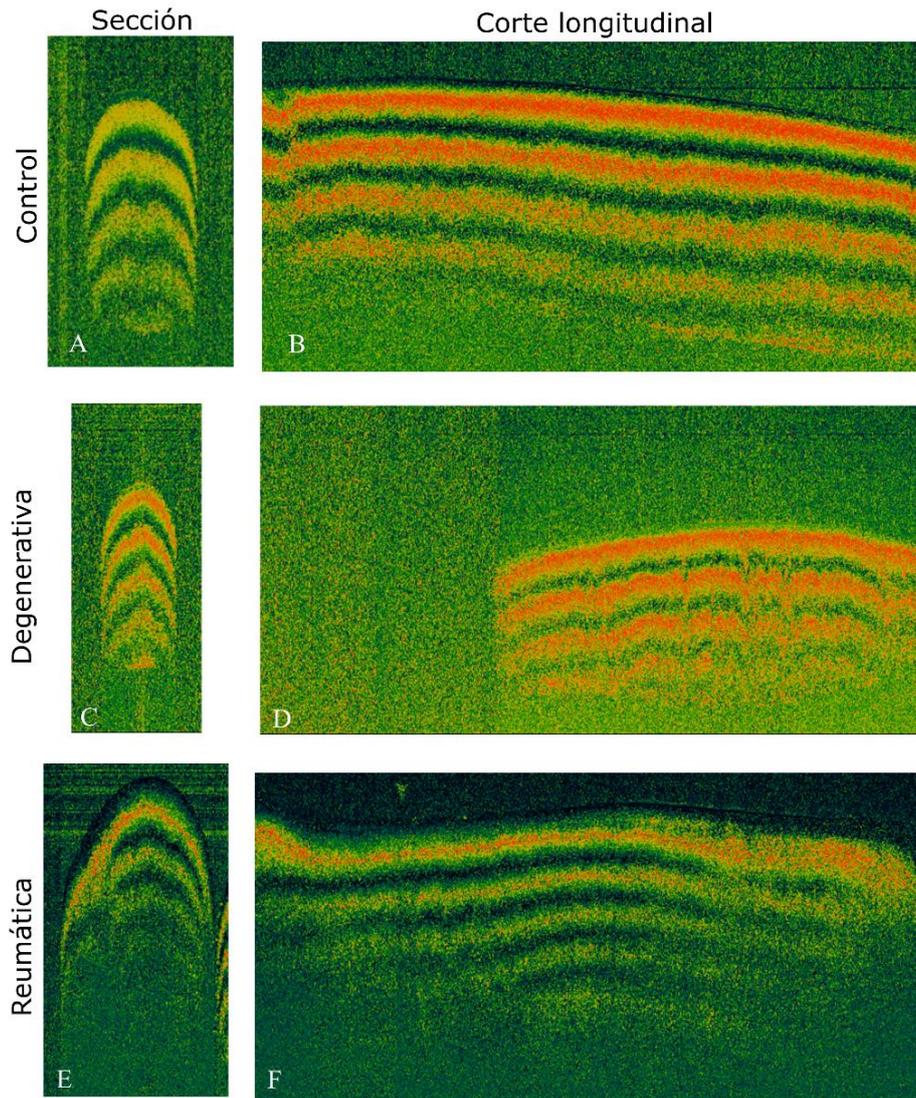


Figura 6.7. Comparativa de imágenes en diferencia de fase de las muestras analizadas en intensidad en la Figura 6.6 una muestra de control (A, sección transversal; B, sección longitudinal), una muestra degenerativa (C, sección transversal; D, sección longitudinal) y una muestra reumática (E, sección transversal; F, sección longitudinal) [5].

Los resultados anteriores confirman la capacidad de OCT de visualizar el interior, no sólo de las cuerdas degeneradas delgadas, sino también de las cuerdas reumáticas, visualizando el núcleo y pudiendo detectar la presencia de colágeno. En las medidas realizadas sobre cuerdas humanas, el análisis de las franjas y de su valor de birrefringencia ofrece unos valores de $\delta=3,3 \cdot 10^{-3}$ en las cuerdas normales, siendo menor en el caso reumático, $\delta=2,8 \cdot 10^{-3}$ y en el caso degenerativo $\delta=2,6 \cdot 10^{-3}$ [6]. Este mismo método se ha utilizado para medir la birrefringencia de tendón bovino [4], rico en colágeno de tipo I, con una birrefringencia $\delta=3,7 \cdot 10^{-3}$ medidos para una longitud de onda de 862 nm. Trasladando esta última medida a 1325 nm implica un factor entre longitudes de onda de 0,65 (ecuación 6.3), quedando la birrefringencia en $\delta=2,4 \cdot 10^{-3}$.

En cuanto a las cuerdas tendinosas humanas sanas, se han medido con el método de Sénarmont [7], obteniendo una birrefringencia entre $\delta=6 \cdot 10^{-4}$ y $\delta=11 \cdot 10^{-4}$ medida a 546 nm. Aplicando de nuevo un factor de 0,41 debido al cambio de rango espectral, estos valores de birrefringencia se convertirían en $\delta=2,46 \cdot 10^{-3}$ y $\delta=4,51 \cdot 10^{-3}$ a la longitud de onda de trabajo de 1325 nm. Como en el caso del presente trabajo, en cuerdas enfermas la birrefringencia también desciende al rango a $\delta=4 \cdot 10^{-4}$ y $\delta=7 \cdot 10^{-4}$ [7], esto es $\delta=1,65 \cdot 10^{-3}$ y $\delta=2,8 \cdot 10^{-3}$ a 1325 nm. Esto confirma que los valores

obtenidos mediante OCT en este trabajo están en el rango correcto y que las cuerdas que presentan desorden ven disminuido su valor de birrefringencia debido al desorden del colágeno en el interior. En el caso límite donde el colágeno esté completamente desordenado, la birrefringencia será nula y el índice de refracción de los tejidos será igual en ambos ejes.

6.5 Co-registro con tomografía axial computarizada

En colaboración con el grupo de Laboratorio de la División de Ciencia e Ingeniería de los Materiales (LADICIM) de la Universidad de Cantabria se han realizado medidas de cuerdas mitrales con un sistema de tomografía axial computarizada (TAC) compacto. Este sistema toma medidas de atenuación radiológica, utilizando una fuente de rayos X. La muestra se gira para tomar medidas de atenuación en diferentes ángulos y, a continuación, se reconstruye la atenuación en cada punto del volumen (Figura 6.8 A). El valor de atenuación en cada posición del volumen puede ser segmentado para resaltar o representar elementos con diferentes atenuaciones mediante diferentes colores (Figura 6.8 B, 6.8 C). Esto permite, en el caso de las cuerdas tendinosas, diferenciar el endotelio (en color rojo) de los haces de colágeno (en color rojo y rosáceo) y la elastina (en color verde).

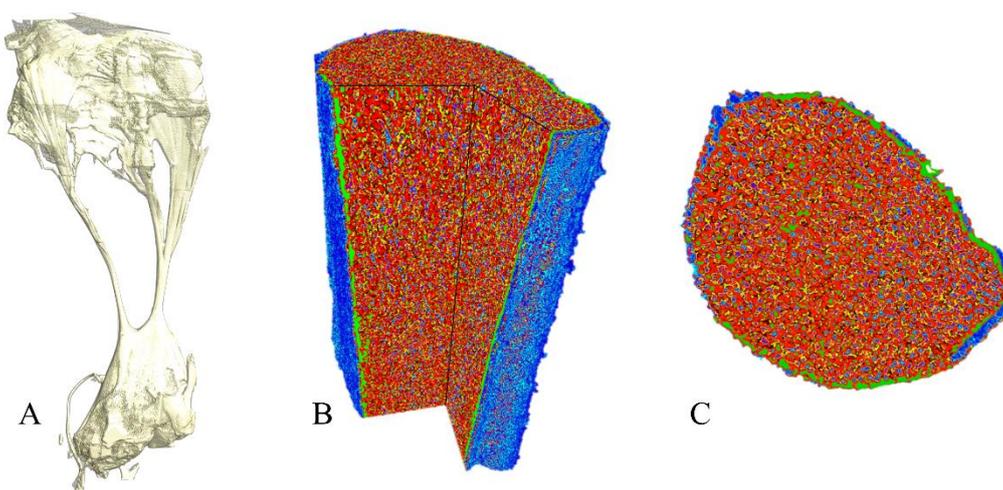


Figura 6.8. Medidas con TAC de una parte del complejo valvular comprendiendo dos cuerdas, parte del velo y parte de músculo papilar (A). Tras la medida se representan las regiones que presentan diferentes valores de atenuación en la región de la cuerda tendinosa con diferentes rangos de colores en volumen (B) o una sección (C). En azul se ha segmentado de forma manual y aproximada el endotelio, en verde la elastina y en rojo y rosáceo el colágeno.

Las secciones de las cuerdas medidas con TAC son comparables a las secciones tomadas con OCT, ambas consisten en la medida de la atenuación de diferente radiación electromagnética. En el caso del TAC, el índice de refracción no modifica la resolución en imagen, que es de $0,5\mu\text{m}/\text{pixel}$. En el caso de OCT, teniendo en cuenta el índice de refracción medido en la sección 6.3 de 1,3897, la resolución obtenida es de $4,2\mu\text{m}/\text{pixel}$. La comparativa entre secciones medidas con ambas técnicas permite ver las secciones de los haces de colágeno (Figura 6.9).

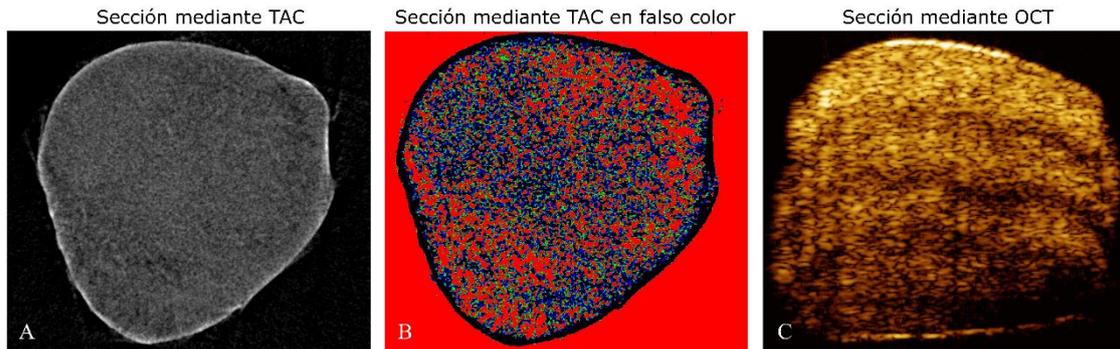


Figura 6.9. Secciones de la misma cuerda mitral medidas con TAC (A) y segmentada en falso color (B) comparada con tomografía de coherencia óptica (C). El grosor de la cuerda medido con TAC en (A, B) es de 0,3 mm, en (C) es de 0,5 mm.

Del análisis de las medidas tomadas con ambas técnicas se comprueba que el grosor difiere considerablemente (Figura 6.9) pasando de estimarse 0,3 mm con TAC a 0,5 mm con OCT. Esto se debe a la influencia de la exposición de la muestra al aire durante el tiempo de medida, que en el caso de OCT es de pocos minutos y en el caso del TAC de aproximadamente 4 horas.

Aplicando la técnica OCT, se ha estudiado el efecto del secado al aire de las cuerdas tanto en la medida del grosor de la cuerda (Figura 6.10 A) como en el factor de birrefringencia (Figura 6.10 B). El grosor disminuye de forma considerable los primeros 30 minutos debido a la pérdida de líquidos. En el caso de la birrefringencia, su valor varía fuertemente, perdiéndose dicha propiedad a partir de los 30 minutos. En ambos casos, se ha comprobado experimentalmente que, tras rehidratar la muestra durante 24 horas, se recuperan los valores normales.

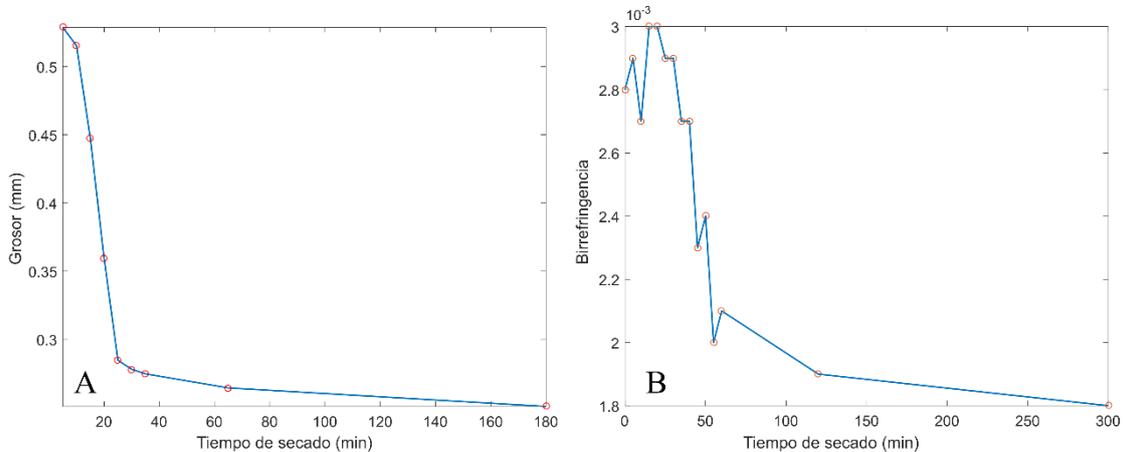


Figura 6.10. Efecto del secado al aire de una cuerda preservada en glutaraldehído. Se mide el grosor (A) y su valor de birrefringencia (B) al exponer la muestra al aire a temperatura y humedad ambiente (25°, 60% humedad). Tras la rehidratación en glutaraldehído durante 24 horas se recuperan los valores normales.

6.6 Conclusiones

La aplicación de OCT a las cuerdas tendinosas demuestra su capacidad para obtener imagen completa del interior de éstas en condiciones de tiempo real, llegándose a visualizar el núcleo de las cuerdas incluso en el caso patológico de cuerdas reumáticas. La técnica de OCT en intensidad permite ver la morfología, al igual que ocurre con TAC, ofreciendo una resolución suficiente para visualizar los haces de colágeno. La técnica de OCT en polarización, PS-OCT, permite además

cuantificar la birrefringencia del tejido, que está íntimamente ligada con la densidad y composición de éste. Se han medido y caracterizado cuerdas sanas frente a cuerdas reumáticas y degenerativas, mostrando las últimas menor birrefringencia debido a la disminución del orden de los haces de colágeno en las cuerdas en caso de dichas patologías. Estos resultados de medidas experimentales de birrefringencia se han validado con los encontrados en literatura y se ha comprobado que los valores de birrefringencia medida con OCT concuerdan con los obtenidos con otras técnicas.

De los resultados obtenidos, se puede decir que la técnica OCT presenta un claro potencial de cara a su aplicación y traslación clínica para la visualización de cuerdas tendinosas y cuantificación de la densidad de colágeno en intervenciones de reparación de la cuerda mitral. La información extraída de las medidas facilitaría la toma de decisión de los cirujanos a la hora de sustituir o mantener las cuerdas del complejo valvular. Los parámetros visualizados se corresponden con los obtenidos mediante TAC demostrando que la resolución de OCT es suficiente para la visualización de los haces de colágeno. Frente al TAC y la histología, la técnica OCT tiene la capacidad única de obtener imagen de una cuerda completa en pocos segundos sin necesidad de extirparla del complejo valvular ni de que pierda sus propiedades y estructura fisiológica. La visualización de su núcleo permitiría caracterizar la salud estructural de todas las cuerdas del complejo valvular en un ambiente intraoperativo. Por similitud, la válvula bicúspide puede ser estudiada con esta misma técnica.

Bibliografía

- [1] B. de Campos Vidal y M. L. S. Mello, «Structural organization of collagen fibers in chordae tendineae as assessed by optical anisotropic properties and Fast Fourier transform», *J. Struct. Biol.*, vol. 167, n.º 2, pp. 166-175, 2009.
- [2] G. J. Tearney, M. E. Brezinski, J. F. Southern, B. E. Bouma, M. R. Hee y J. G. Fujimoto, «Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography», *Opt. Lett.*, vol. 20, n.º 21, p. 2258, 1995.
- [3] E. Real, J. M. Revuelta, N. González-Vargas, A. Pontón, M. Calvo, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Collagen birefringence assessment in heart chordae tendineae through PS-OCT», *Proc. SPIE*, vol. 10053. p. 1005334, 2017.
- [4] J. F. de Boer, T. E. Milner, y J. S. Nelson, «Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography», *Opt. Lett.*, vol. 22, n.º 12, pp. 934-936, 1997.
- [5] E. Real, J. M. Revuelta, A. Pontón, M. Calvo-Díez, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «OCT inspection of degenerative and rheumatic tendinous cords», en *European Conferences on Biomedical Optics*, 2017.
- [6] N. González Vargas, «Caracterización de birrefringencia de cuerdas tendinosas mediante PS-OCT». Trabajo fin de grado, Universidad de Cantabria, Santander, 2016.
- [7] P. Whittaker, D. R. Boughner, D. G. Perkins y P. B. Canham, «Quantitative structural analysis of collagen in chordae tendineae and its relation to floppy mitral valves and proteoglycan infiltration.», *Br. Heart J.*, vol. 57, n.º 3, pp. 264-269, 1987.

Capítulo 7

OCT y dermatoscopia en lesiones cutáneas

<i>7.1 Procesado de imagen por dermatoscopia</i>	131
7.1.1 <i>Eliminación de pelo</i>	132
7.1.2 <i>Detección de color</i>	134
7.1.3 <i>Segmentación de lesiones</i>	135
<i>7.2 Procesado de imagen OCT</i>	139
<i>7.3 Conclusiones</i>	141
<i>Bibliografía</i>	142

En la actualidad, gran parte del diagnóstico de melanoma y otras lesiones cutáneas se realiza en la consulta de dermatología y se ayuda de la realización de biopsias para resolver las limitaciones de la inspección visual. El método convencionalmente empleado para el diagnóstico se basa en la cuantificación de diferentes parámetros. En la mayoría de las ocasiones, esa cuantificación resulta subjetiva y, en muchos casos, los criterios no coinciden entre dermatólogos. Las técnicas de procesado digital pueden ser útiles como herramienta de apoyo de cara al análisis objetivo de parámetros tales como delineación de lesiones y análisis colorimétrico. Además, la técnica OCT permite inspeccionar la sección del tejido bajo su superficie, lo que puede proporcionar información estructural que complementa la información obtenida mediante dermatoscopia.

7.1 Procesado de imagen por dermatoscopia

La imagen por dermatoscopia se captura con una cámara apoyada por lentes (Figura 7.1 A, 7.1 C) y luz polarizada (Figura 7.1 B, 7.1 D) en algunos casos. La luz polarizada produce una imagen de una calidad mayor gracias a que evita la reflexión especular en la superficie de la piel, permitiendo capturar la reflexión que penetra ligeramente en el tejido. Esto permite visualizar la forma y color de las lesiones y extraer sus patrones, necesarios para establecer un correcto diagnóstico.

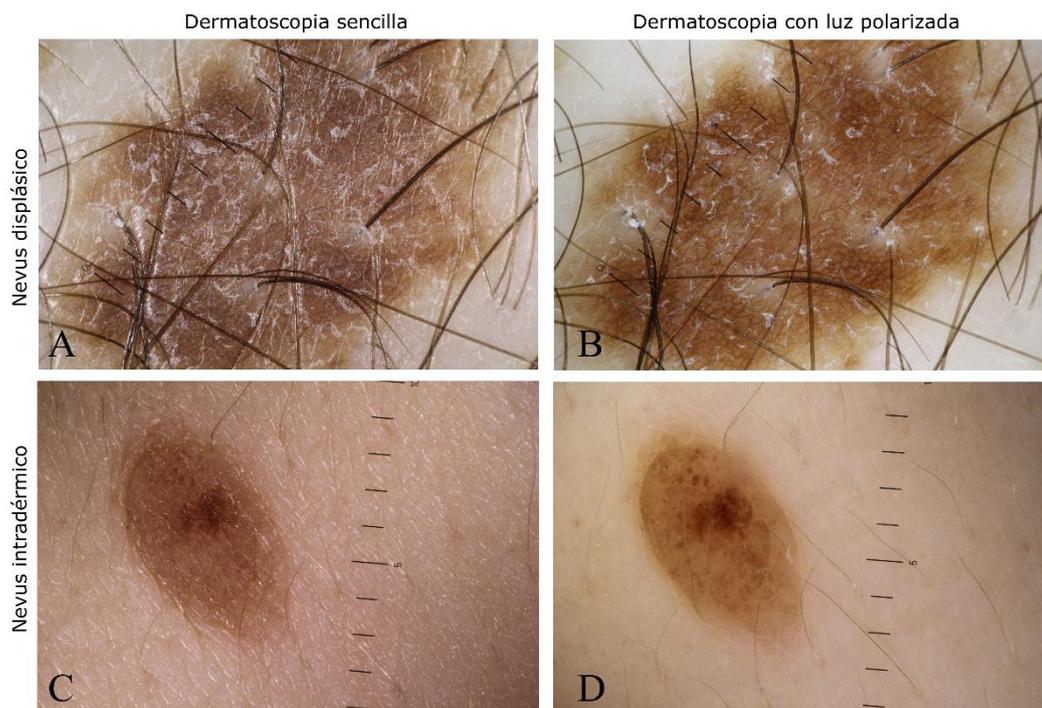


Figura 7.1. Comparativa de dos lesiones capturadas por dermatoscopia convencional (A, C) y por dermatoscopia con luz polarizada (B, D).

El análisis de las imágenes dermatoscópicas está dedicado a obtener parámetros de asimetría, bordes, color, diámetro y evolución de la lesión dermatológica (ABCDE [1]). Para evitar sesgos visuales, y el consiguiente error humano, es recomendable poder cuantificar estos parámetros de forma automatizada. Debido a los diferentes estados en los que se puede encontrar la lesión, la extracción automatizada de los parámetros ABCD debe acompañarse de procedimientos iniciales enfocados, en primer lugar, a la segmentación de la lesión y, a continuación, a la obtención de los parámetros de esta.

7.1.1 Eliminación de pelo

El pelo presente en las lesiones supone un gran inconveniente de cara al procesado automatizado debido a su color (negro oscuro o más claro, tipo blanquecino) y forma alargada. Dadas esta forma alargada se ha aplicado una modificación del algoritmo de Frangi (Sección 4.2.3.3, Tabla 4.1), de igual forma al aplicado en el caso de las anomalías de aorta. Para dicha delineación, se convierte la imagen dermatoscópica en formato RGB al espacio de color CIE-1976 llamado CIE-Luv, establecido por la Comisión Internacional de Iluminación (International Commission on Illumination [2]). Este espacio de color divide las componentes en un elemento de luminancia (L) y dos elementos de cromaticidad (u, v).

La luminancia es aquí utilizada para la segmentación de pelos [3] ya que realza los pelos oscuros (Figura 7.2 B). La obtención de la matriz Hessiana y los autovalores de ésta (Figura 7.2 C) permiten delinear con el algoritmo de Otsu los pelos empleando el primer autovalor, obteniendo una máscara binaria de presencia de pelos en la lesión (Figura 7.2 D). Un algoritmo muy utilizado para este propósito es el algoritmo de DullRazor [4],[5]. Dicho algoritmo se basa en la operación de cerrado morfológico a 0°, 45° y 90° en los canales de color RGB y la superposición de las máscaras obtenidas. Tras esta detección de pelo y su eliminación, se interpola el valor de los píxeles eliminados y se suaviza la imagen con un filtro mediana. El algoritmo de

Hessiano propuesto en esta tesis produce resultados similares y, en algún caso, mejores al Dullrazor (Figura 7.2 D). Para la reconstrucción de la imagen, una vez eliminado el pelo, se ha utilizado el algoritmo *inpaint* [6],[7], basado en la transformada de coseno discreta. Esta transformada se basa en la descomposición de señales en una suma de cosenos. Este algoritmo considera una malla de datos de entrada y rellena los huecos considerando la respuesta de la suma de cosenos en las posiciones conocidas. *Inpaint* reconstruye puntos en imágenes multidimensionales a partir de un conjunto reducido de puntos conocidos. En la reconstrucción del área bajo los pelos (Figura 7.2 F), los puntos son suficientes de cara a la segmentación y produce resultados más suaves que la interpolación y el filtro de mediana adaptativo aplicado por Dullrazor (Figura 7.2 E).

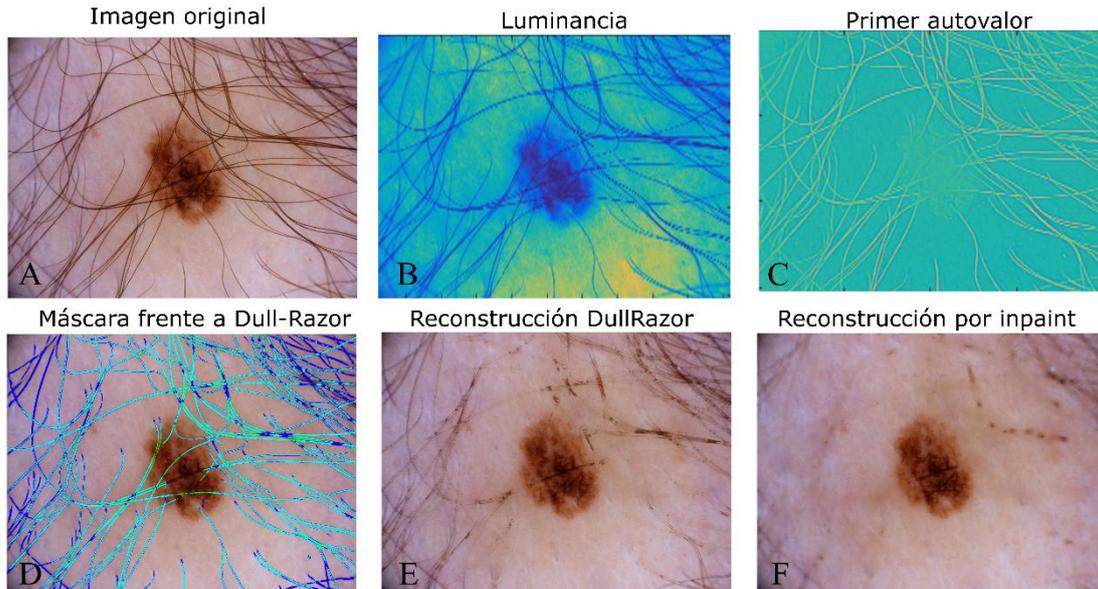


Figura 7.2. Proceso de identificación de pelo y reconstrucción por filtrado Gaussiano. Se utiliza la componente de luminancia (B) para detectar los pelos mediante la matriz Hessiana (C) y umbralizar con Otsu comparado con Dullrazor (D). La segmentación propuesta se representa en azul, Dullrazor en verde, la coincidencia de ambos en aguamarina. Reconstrucción final de la lesión: Dullrazor (E), algoritmo *inpaint* (F) [3].

Frente al método de Dullrazor que opera en tres ángulos diferentes, el método basado en el Hessiano se basa en los incrementos en cualquier dirección (Figura 7.2 C). Esto mejora la detección de pelos en la imagen (Figura 7.2 D), detectando además pelos de diferentes grosores. La reconstrucción (Figura 7.2 E y 7.2 F), deja imágenes más limpias al utilizar *inpaint*.

Este algoritmo se ha aplicado a diferentes imágenes de la base de datos del proyecto ISIC (*International Skin Imaging ColLaboration: Melanoma Project*) [8], en comparación con el algoritmo de detección y rellenado de Dullrazor (Figura 7.3).

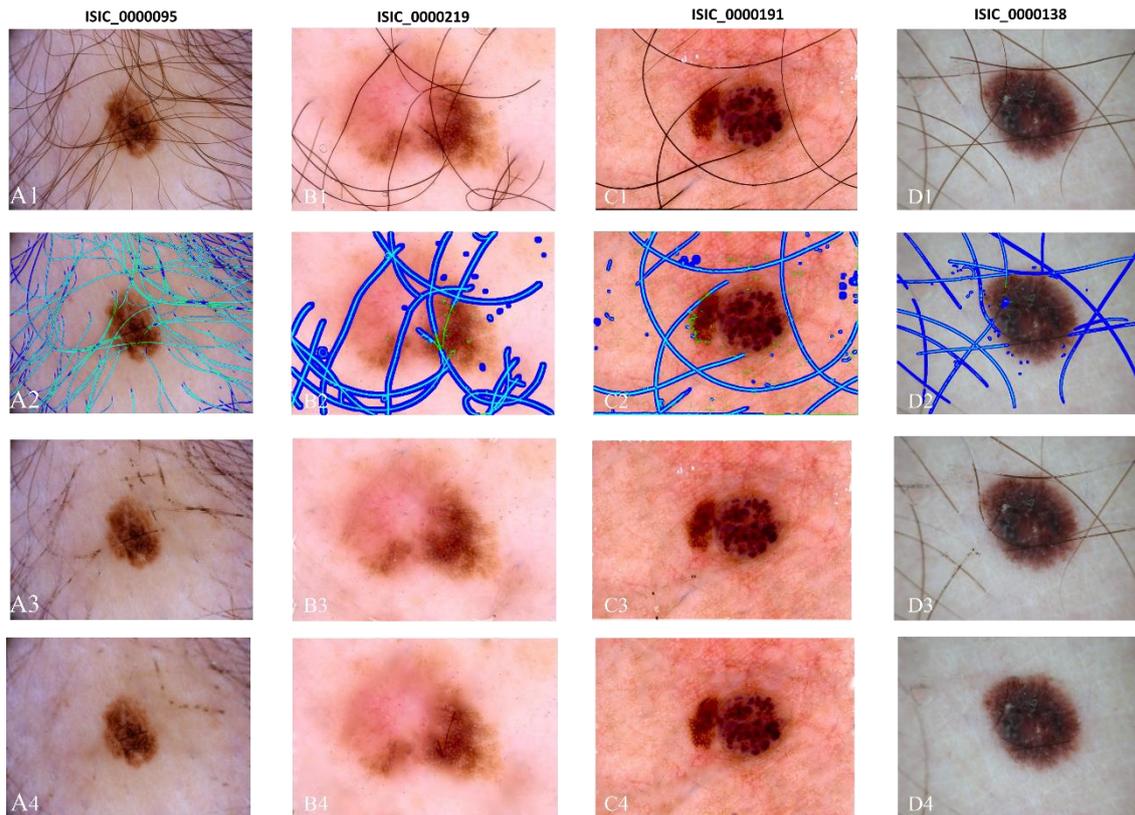


Figura 7.3. Resultados de delineación y rellenado de pelos en imágenes de la base de datos de ISIC [9]. Se muestran las imágenes originales (fila 1) y la detección de pelos (fila 2) mediante el método de matriz Hessiana (azul), Dullrazor (verde) y el solapamiento de ambos métodos (aguamarina). Se compara el rellenado de los pelos por el método de Dullrazor (fila 3) y por el método *inpaint* (fila 4).

En la Figura 7.3 se puede comparar la detección mediante el método propuesto y el método de Dullrazor para cuatro imágenes diferentes. La escasez de regiones verdes indica que el método mediante la matriz Hessiana produce una mejor delineación de pelos (azul) o un solapamiento entre ambos métodos (aguamarina). Comparando la reconstrucción, se producen imágenes más limpias con *inpaint* (Figura 7.3 fila 4) que con Dullrazor (Figura 7.3 fila 3).

7.1.2 Detección de color

El color es uno de los elementos clave en el diagnóstico[1]. Los colores típicos de lesiones en la piel se pueden dividir en 6 grupos de color [10]: marrón oscuro, marrón claro, blanco, negro, rojo y azul grisáceo. Se han tomado los valores RGB de cada uno de esos 6 colores como coordenadas en tres dimensiones del centroide de sendas clases de color. A continuación, para cada valor posible RGB se calcula la distancia euclídea a cada uno de los centroides y se asigna la clase del centroide más cercano (Figura 7.4).

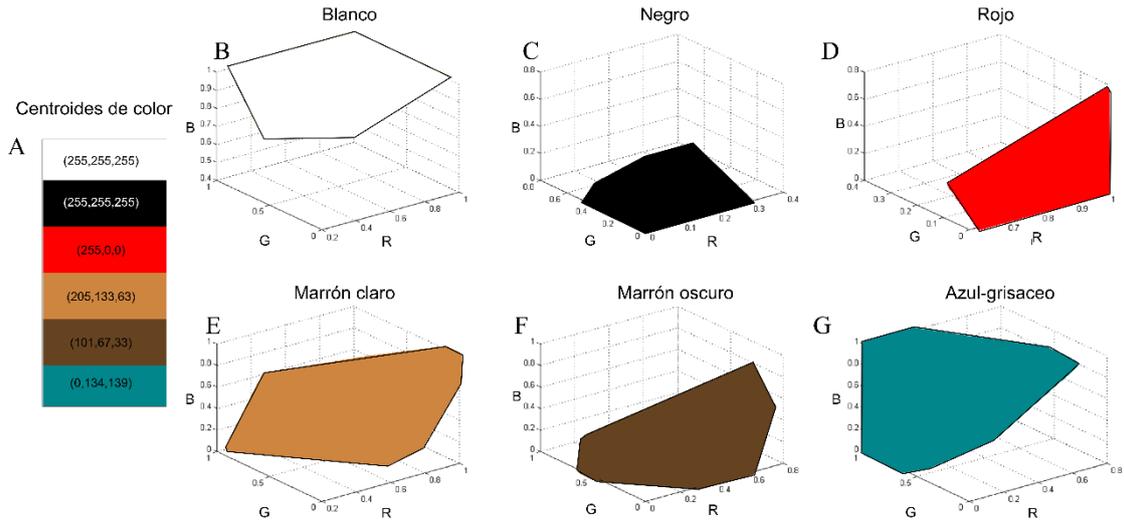


Figure 7.4. Colores principales a clasificar considerados centroides de las 6 clases de color (A) y regiones del espacio RGB que presentan distancia mínima a cada centroide (B-G). Se indica entre paréntesis el valor R, G; B de los colores principales.

El estudio del espacio de color RGB comprende en la fotografía convencional 256 valores para cada canal de color, lo que implica 256^3 colores posibles. Esto conlleva un tiempo de cálculo de distancias elevado para una imagen de 16 megapíxeles como son las tomadas, por lo que se calcula la distancia al conjunto completo de colores y se asigna la clase a priori. A la hora de clasificar el color de una lesión, se toman sus valores R, G, B como coordenadas y se asigna la clase almacenada en dicha posición. Esto permite barrer de forma rápida los píxeles de una imagen y asignar la pertenencia individual a una clase (Figura 7.5).

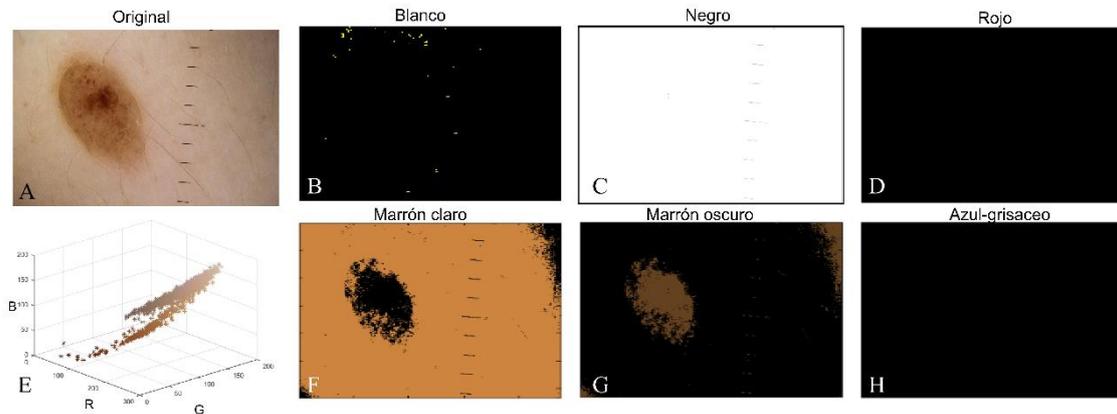


Figura 7.5. Clasificación en clases de color de una lesión (A) en las 6 clases de color propuestas (B-D, F-H). Se muestra la representación tridimensional de todos los píxeles en el espacio de color RGB (E).

7.1.3 Segmentación de lesiones

La delineación manual se basa en la percepción del color y las lesiones a simple vista. Si bien dos personas no producirán la misma segmentación de una lesión, sí que producirán una segmentación similar. La automatización de este proceso se ve afectada por las modificaciones de la iluminación, el color de piel, reflexiones en la piel u otros artefactos, siendo una labor compleja [11]. Aquí se ha propuesto una transformación en canales de color, a partir del formato RGB

original. Se han obtenido las componentes en los canales XYZ, HSV, CIE-Lab y CIE-Luv [12], seleccionando los dos últimos ya que separan la luminancia y cromaticidad de forma que la representación independiente de los canales de color permiten una buena segmentación de lesiones típicas (Figura 7.6).

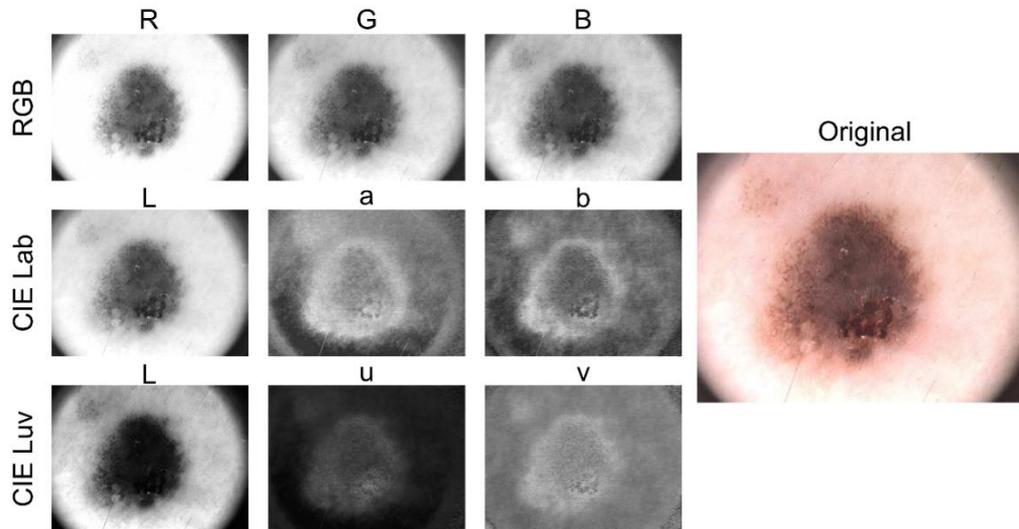


Figura 7.6. Representación en escala de grises, y en color original, de una imagen dermatoscópica [13] y sus diferentes canales de color en los espacios RGB, CIE-Lab y CIE Luv [14].

El canal de luminancia L del espacio de color CIE-Luv es utilizado para la segmentación del efecto de viñeteado mediante el algoritmo de Otsu. Este efecto consiste en un oscurecimiento en las esquinas de la imagen debido al sistema de lentes y que ocurre en muchas de las imágenes dermatoscópicas (Figura 7.7 A)

El canal u^* del mismo espacio de color CIE-luv se segmenta para producir una primera aproximación de la máscara de la lesión (Figura 7.7 B), de la cual se selecciona el área mayor y se erosiona para evitar seleccionar píxeles dudosos, consiguiendo así la máscara de la lesión (Figura 7.7 C).

A partir de la máscara de lesión y la máscara de viñeteado, se obtiene la región restante como máscara de no lesión, es decir, zona de la imagen que se corresponde con piel normal (Figura 7.7 D).

Finalmente, se toman muestras de 100 puntos, seleccionados de forma aleatoria, tanto de la región de lesión como de la región de no lesión (Figura 7.7 E, 7.7 F) para estimar la distribución estadística que define las regiones de lesión (H_0) y de no lesión (H_1) [15],[16].

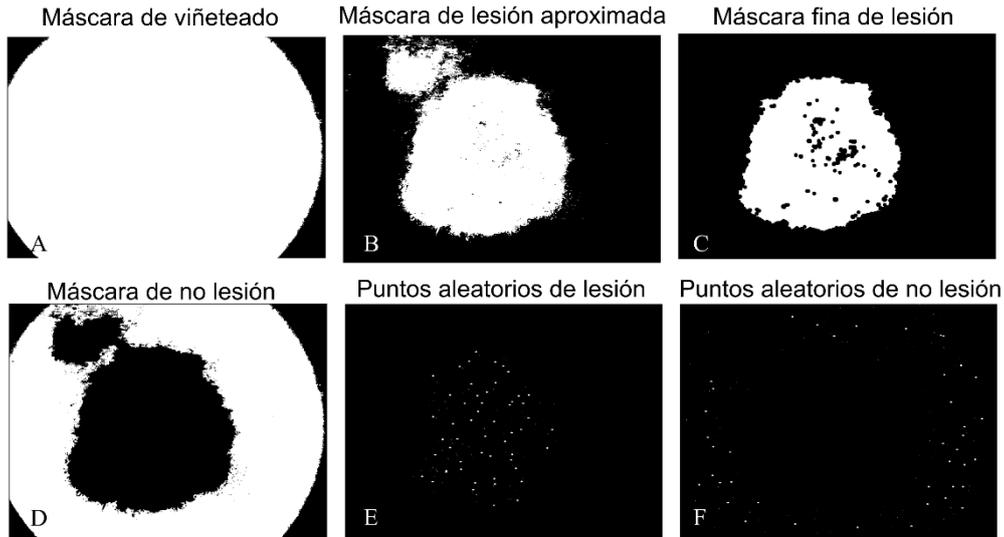


Figura 7.7. Representación del proceso de enmascarado de la lesión y la región de no lesión. Se hace una primera segmentación del viñeteado (A) y la lesión (B) empleando canal de luminancia. La región de lesión se erosiona para obtener una máscara de lesión. A partir de la negación de estas se obtiene la máscara de la región de no lesión (D). Finalmente, se seleccionan 100 puntos de forma aleatoria en la máscara de lesión (E) y en la máscara de no lesión (F). En la figura se indica un número de puntos a modo de ilustración ya que los pixeles originales son demasiado pequeños para ser apreciados.

Con el fin de segmentar la región de forma automatizada y no supervisada se propone el uso de la estimación de la función de distribución (KDE, del inglés *Kernel Density Estimation*) mediante el método de Parzen [17],[18]. Este método está orientado a obtener la función densidad de probabilidad (FDP) de unos datos dados a partir de un subconjunto seleccionado. En este caso, serán los 100 puntos seleccionados en la lesión para caracterizar la FDP de la lesión, H_0 , y los 100 puntos seleccionados para la región de no lesión para caracterizar la FDP de la no lesión, H_1 . El método de Parzen se basa en la asunción de que la FDP en cada caso se puede descomponer en las FDP de los diferentes puntos que la forman. Asumiendo una FDP Gaussiana para cada punto, se selecciona una ventana y se estima la FDP para su entorno, añadiendo dicha FDP a la global. Cada FDP individual se estima como:

$$P(x) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{(\sigma\sqrt{2\pi})^d} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-x_i}{\sigma}\right)^2} \quad (7.1)$$

donde σ es la desviación típica; n el número de puntos en los datos (aquí se han seleccionado 100 puntos en cada clase) y d la dimensión del espacio de datos. En este caso la dimensión es 4 ya que se utilizan 4 canales de color: u , v , a y b , que son los que dan mejores resultados de cara a la segmentación [19],[20]. A partir de los 100 puntos obtenidos para lesión y 100 para no lesión se calcula la FDP para cada pixel de la imagen global, suponiendo que ambas hipótesis son ciertas: suponiendo que el pixel i -ésimo pertenece a la clase H_0 , se calcula la FDP para H_0 . Suponiendo que el pixel pertenece a H_1 , se calcula la FDP del pixel para H_1 . A continuación se dará como verdadera la hipótesis que produzca una FDP mayor, clasificando así el pixel i -ésimo en la clase de lesión o no lesión. Esto se repite para cada pixel de la imagen obteniendo así a la segmentación de toda la imagen (Figura 7.8).

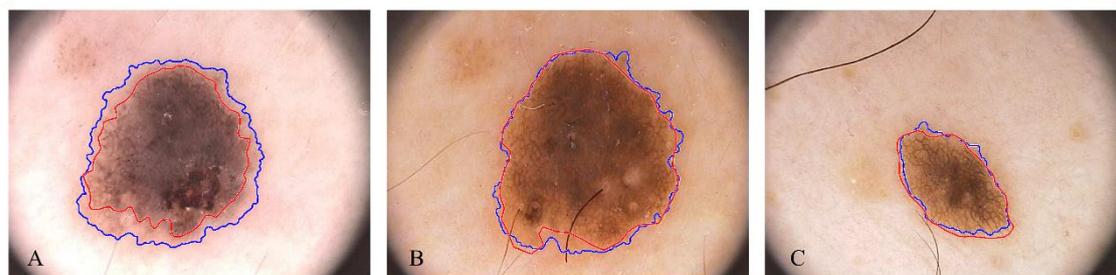


Figura 7.8. Representación obtenida mediante el algoritmo de segmentación propuesto para algunas muestras de la base de datos PH² [13]. Se indica en rojo la segmentación propuesta por PH² como referencia y en azul la segmentación del método propuesto.

La aplicación del método propuesto a imágenes de la base de datos PH² produce una segmentación similar a la suministrada por la base de datos, que ha sido obtenida mediante delineación manual por dermatólogos y se considera referencia correcta. Se ha probado también para la base de datos de ISIC [8] que cuenta con 2.000 imágenes con su máscara de segmentación. Para cada imagen se ha obtenido una máscara de segmentación por el método propuesto y se ha comparado con la máscara propuesta tomando diferentes métricas (Figura 7.9). Las métricas elegidas son la sensibilidad, especificidad, precisión, coeficiente de Jaccard y coeficiente Dice. La sensibilidad indica la capacidad de detectar todos los casos positivos, aquí, todos los píxeles con lesión y se define como:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos Positivos}}{\text{Verdaderos Positivos} + \text{Falsos Negativos}} \quad (7.2)$$

La especificidad indica la capacidad de detectar los casos negativos, aquí, píxeles que no son lesión. Queda definida como:

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos Negativos}}{\text{Verdaderos Negativos} + \text{Falsos Positivos}} \quad (7.3)$$

La exactitud indica lo cerca que se está del resultado real, midiendo sólo los aciertos:

$$\text{Exactitud} = \frac{\text{Verdaderos Positivos} + \text{Verdaderos Negativos}}{\text{Total}} \quad (7.4)$$

Los coeficientes de Jaccard, J , y de Dice o Sørensen–Dice, D , miden el solapamiento entre regiones. En este caso, las regiones serían la máscara calculada por la segmentación automatizada y la provista en la base de datos considerada como referencia:

$$J = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} = \frac{|A \cap B|}{|A| + |B| - |A \cap B|} \quad (7.5)$$

$$D = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|} \quad (7.6)$$

Donde A y B son las regiones de las dos máscaras a comparar.

Se aplica el algoritmo de segmentación a la base de datos completa y se computan las métricas anteriores para comparar la máscara obtenida con la máscara provista en la base de datos. Dada la cantidad de imágenes se opta por una representación estadística de los datos en forma de diagramas de cajas para cada métrica (Figura 7.9). Estas cajas representan el rango intercuartil en las cajas azules y la mediana en la línea roja. Los marcadores en negro representan entre un 5% y

un 95% de los datos, y en rojo se marca el resto de medidas que representa menos de un 5% de los datos.

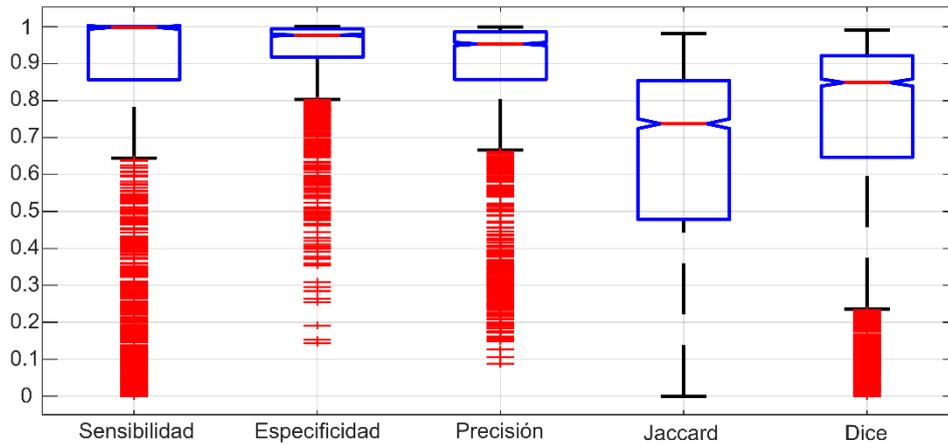
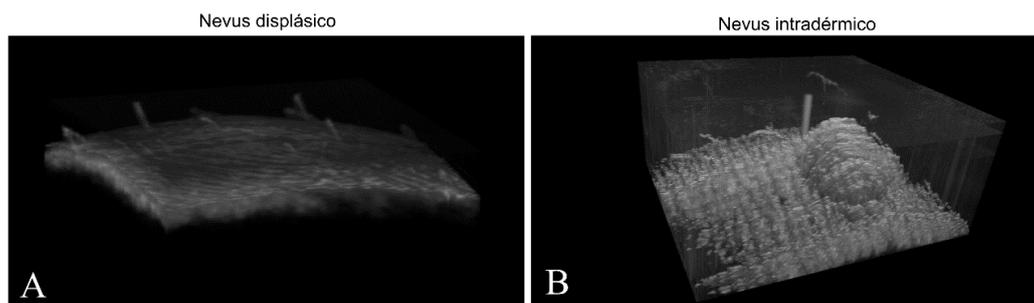


Figura 7.9. Métricas obtenidas para la comparación de la máscara calculada con el método propuesto frente a la máscara provista en la base de datos de ISIC [8].

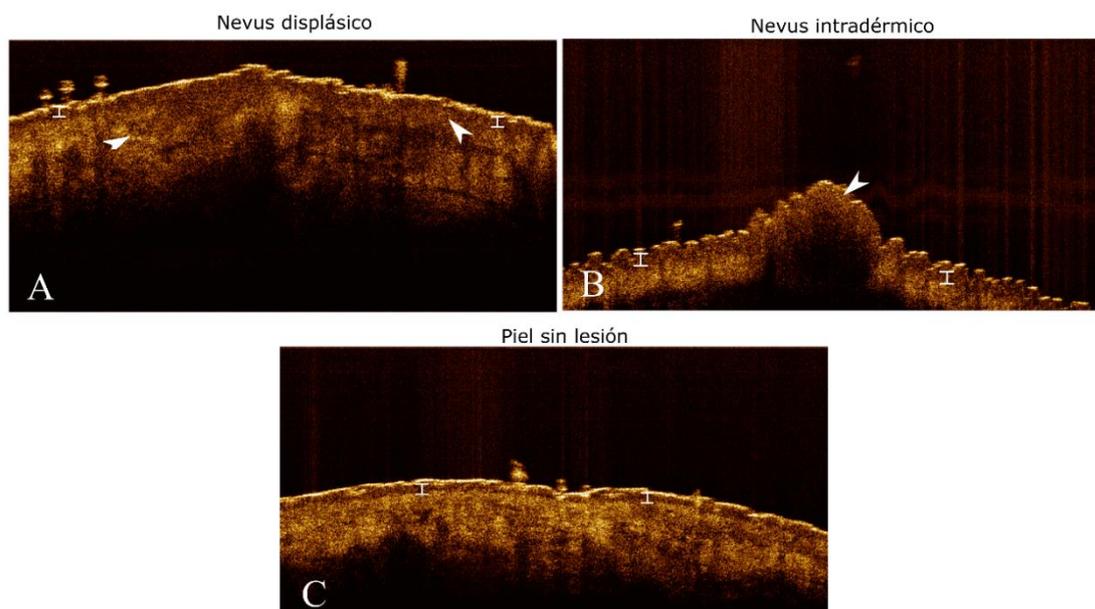
La sensibilidad media de 0,81 y especificidad media de 0,93 suponen valores elevados, lo cual implica respectivamente una tasa de detección alta de píxeles pertenecientes a la lesión con una baja falsa alarma o falsa detección de píxeles normales como de lesión. La precisión también es alta, con un valor medio de 0,87. Los coeficientes de Jaccard y Dice son más exigentes, penalizando considerablemente las diferencias entre las máscaras. Proporcionan unos valores medios de 0,63 y 0,72 respectivamente.

7.2 Procesado de imagen OCT

El estudio de OCT se toma como complemento estructural a la imagen por dermatoscopia. La principal ventaja es que OCT permite ver el volumen superficial y la penetración de la muestra. En primer lugar, tomando un cubo completo se puede obtener el relieve de la lesión. Al ser a nivel superficial, no se ve afectado por el índice de refracción de la piel y se puede hacer una traducción de píxeles a micras. Esto permite corroborar si las lesiones son planas o abultadas y su extensión (Figura 7.10), facilitando la medida de las dimensiones de éstas con el paso del tiempo para ver su evolución. La Figura 7.10 representa la medida OCT en las dos lesiones benignas cuyas imágenes dermatoscópicas se muestran en la Figura 7.1. El nevus displásico presenta una superficie plana similar a la piel circundante (Figura 7.10 A) mientras que el nevus intradérmico presenta un engrosamiento de la epidermis y un abultamiento (Figura 7.10 B).



El análisis en dos dimensiones permite ver secciones transversales en el tejido. Estas permiten distinguir la dermis de la epidermis en el caso de piel sana y medir su grosor (Figura 7.11 C). En la lesión pigmentada se deja de percibir la diferencia entre ambas (Figura 7.11 A). En la lesión intradérmica se percibe el engrosamiento de la epidermis (Figura 7.11 B). En cualquier caso, la epidermis presenta más homogeneidad que la dermis.



El análisis de los A-scan complementa la información suministrada por los B-scan ya permite visualizar la pendiente de las regiones relevantes. Se puede apreciar cómo la epidermis presenta un perfil de atenuación diferente a la dermis (Figura 7.12 C). En la lesión más pigmentada (Figura 7.12 A) no se percibe la epidermis, pero sí una pendiente diferente tanto a la dermis como a la epidermis. Esta lesión presenta un color oscuro y por lo tanto una elevada presencia de melanocitos que modifican el perfil de atenuación. En el nevus intradérmico (Figura 7.12 B) se observa cómo el perfil de atenuación por completo se corresponde con la atenuación de la epidermis debido a su engrosamiento anómalo, con un coeficiente de atenuación medido mediante ajuste (Sección 4.2.1.4, Ecuación 4.25) 40cm^{-1} de media, algo superior a la bibliografía que indica 28cm^{-1} medido a 700nm [21]. En el caso de la dermis, se ha medido un coeficiente de atenuación medio de 76cm^{-1} frente a la bibliografía que indica 100cm^{-1} a 1.300nm [21]. La zona con melanocitos da valores situados entre ambos, abarcando desde unos cm^{-1} hasta unos 89cm^{-1} .

Dichos valores se han obtenido considerando un índice de refracción de la piel de 1,42 a 1300 nm [22].

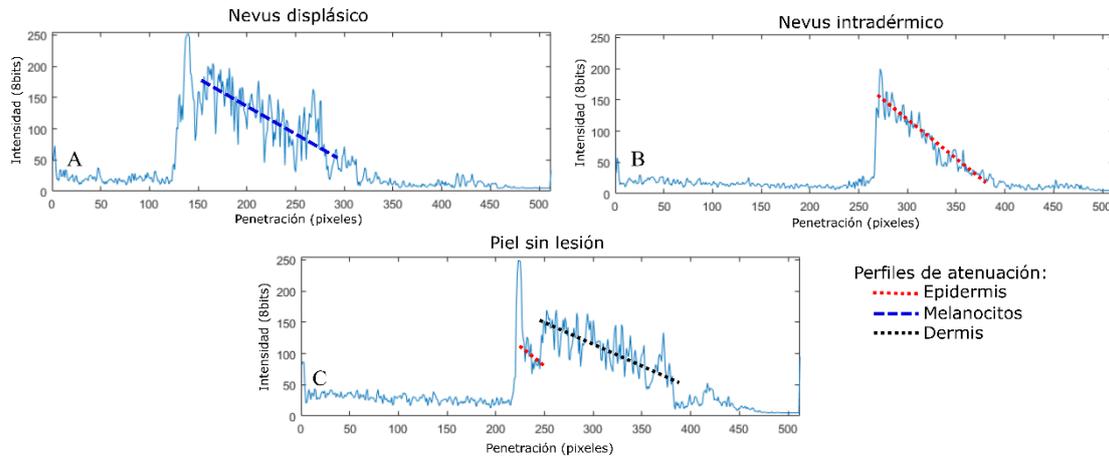


Figura 7.12. A-scan de las lesiones mostradas en la Figura 7.1. Se distinguen los perfiles de atenuación de la dermis, epidermis y la región con alta pigmentación.

7.3 Conclusiones

El análisis de las imágenes obtenidas por dermatoscopia presenta un gran campo de estudio de cara a la asistencia al diagnóstico clínico. En este documento se ha presentado una primera aproximación de cara a la fusión de la tomografía de coherencia óptica con las técnicas de dermatoscopia, combinando el procesado de imagen en color con el procesado de perfiles de atenuación. Hasta el momento la falta de una campaña de medidas extensas en el hospital ha impedido la corroboración de los resultados previos aquí expuestos. Sin embargo, estos resultados indican que dicha fusión tiene el potencial de convertirse en una herramienta de diagnóstico precoz del melanoma y/o otras lesiones cutáneas.

El trabajo en segmentación mediante el algoritmo de Parzen tiene la ventaja de que extrae los parámetros de clasificación de la propia imagen sin necesidad de entrenamiento previo. Esto implica una gran versatilidad y potencial sin limitaciones del entrenamiento previo o de requerimiento de equipos especiales o de condiciones específicas de iluminación, cámaras, etc. facilitando no sólo la implantación en las consultas de dermatología sino también en atención primaria y el tele-diagnóstico.

El estudio de color ha demostrado ser de gran relevancia, tanto como elemento clave en el diagnóstico como en su papel como elemento de segmentación en el algoritmo de KDE. Optimizar la selección de los diferentes canales de color en función del histograma de color de las lesiones puede proporcionar una mejor segmentación, adaptada a cada lesión.

Finalmente, el co-registro con precisión de la imagen dermatoscópica y OCT puede aportar una capa más de información que ha de ser procesada en conjunto de cara no sólo a la segmentación de la lesión, sino al diagnóstico del tipo de lesión y su posible nivel de malignidad. La segmentación de imagen por dermatoscopia delimita la extensión en superficie, mientras que OCT permite visualizar y cuantificar la extensión en profundidad de la lesión, permitiendo visualizar la profundidad de Barlow y obtener un nuevo marcador complementario al borde y asimetría superficiales.

Bibliografía

- [1] N. S. Ramteke y S. V. Jain, «ABCD rule based automatic computer-aided skin cancer detection using MATLAB», *IJCTA*, vol. 4, n.º 4, pp. 691-697, 2013.
- [2] «International Commission on Illumination», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.cie.co.at>.
- [3] E. Real, G. Fernandez-Barreras, A. Pardo, F.J. Madruga, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Hessian filter for automatic hair removal in dermoscopic images», en *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*, 2017.
- [4] T. Lee, V. Ng, R. Gallagher, A. Coldman y D. McLean, «Dullrazor™: A software approach to hair removal from images», *Comput. Biol. Med.*, vol. 27, n.º 6, pp. 533-543, abr. 2017.
- [5] «DermWeb DullRazor». [En línea]. Disponible en: http://www.dermweb.com/dull_razor/. [Accedido: 01-ene-2017].
- [6] G. Wang, D. Garcia, Y. Liu, R. de Jeu y A. Johannes Dolman, «A three-dimensional gap filling method for large geophysical datasets: Application to global satellite soil moisture observations», *Environ. Model. Softw.*, vol. 30, pp. 139-142, abr. 2012.
- [7] D. Garcia, «Robust smoothing of gridded data in one and higher dimensions with missing values», *Comput. Stat. Data Anal.*, vol. 54, n.º 4, pp. 1167-1178, abr. 2010.
- [8] «ISIC archive: International Skin Imaging Collaboration: Melanoma Project», 2017. [En línea]. Disponible en: <https://isic-archive.com/>.
- [9] «ISIC archive: International Skin Imaging Collaboration: Melanoma Project», 2017. [En línea]. Disponible en: <https://isic-archive.com/>.
- [10] G. Grammatikopoulos, «Automated malignant melanoma detection using MATLAB», en *Proc. 5th Int. Conf. Data*, 2006, pp. 91-94.
- [11] C. Carrera *et al.*, «Validity and Reliability of Dermoscopic Criteria Used to Differentiate Nevi From Melanoma», *JAMA Dermatology*, vol. 10022, n.º 7, pp. 798-806, 2016.
- [12] «International Color Consortium», 2017. [En línea]. Disponible en: <http://www.color.org/index.xalter>.
- [13] T. Mendonça, P.M. Ferreira, J. S. Marques, A. R. Marcal y J. Rozeira, «PH² - A dermoscopic image database for research and benchmarking», en *35th International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2013.
- [14] T. Vo-Dinh, Ed., *Biomedical Photonics Handbook*. Boca Raton: CRC Press, 2003.
- [15] A. Pardo, E. Real, G. Fernandez-Barreras, F.J. Madruga, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Automated skin lesion segmentation with kernel density estimation», en *European Conferences on Biomedical Optics*, 2017.
- [16] A. Pardo, E. Real, G. Fernandez-Barreras, F.J. Madruga, J. M. López-Higuera y O. M. Conde, «Skin lesion segmentation with kernel density estimation», en *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*, 2017.
- [17] E. Parzen, «On the estimation of a probability density function and the mode», *Ann. Math. Stat.*, vol. 33, pp. 1065-1076, 1962.
- [18] A. Pardo, E. Real, V. Krishnaswamy, J.M. Lopez-Higuera, B.W. Pogue y O. M. Conde «Directional Kernel Density Estimation for Classification of Breast Tissue Spectra.», *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 36, n.º 1, pp. 64-73, 2017.
- [19] R. Garnavi, M. Aldeen, M. E. Celebi, G. Varigos, y S. Finch, «Border detection in dermoscopy images using hybrid thresholding on optimized color channels», *Comput. Med. Imaging Graph.*, vol. 35, n.º 2, pp. 105-115, 2011.
- [20] G. Schaefer, M. I. Rajab, M. Emre Celebi, y H. Iyatomi, «Colour and contrast enhancement for improved skin lesion segmentation», *Comput. Med. Imaging Graph.*, vol. 35, n.º 2, pp. 99-104, 2011.
- [21] E. Regar, T. G. van Leeuwen y P. W. Serruys, Eds., *Optical Coherence Tomography in Cardiovascular Research*, 1 st. Abingdon: informa healthcare, 2007.
- [22] H. Ding, J. Q. Lu, W. A. Wooden, P. J. Kragel y X.-H. Hu, «Refractive indices of human skin tissues at eight wavelengths and estimated dispersion relations between 300 and 1600 nm», *Phys. Med. Biol.*, vol. 51, n.º 6, p. 1479, 2006.

Capítulo 8

Conclusiones y líneas futuras

<i>8.1 Conclusiones</i>	143
<i>8.2 Líneas futuras</i>	144
<i>8.2.1 Ámbito cardiovascular</i>	144
<i>8.2.2 Ámbito dermatológico</i>	145

8.1 Conclusiones

La aplicación de nuevas técnicas de diagnóstico en el ámbito médico es un proceso laborioso que comienza por una prueba de viabilidad de la técnica para la caracterización de las propiedades que permitan discernir tejidos sanos y enfermos. Las técnicas empleadas en este documento son inocuas para el organismo humano y no requieren la preparación específica de las muestras para su caracterización. El proceso que va desde el laboratorio hasta el ámbito clínico o el quirófano no es posible a no ser que se pruebe la viabilidad, seguridad y, en cualquier caso, comodidad y facilidad de uso del médico especialista en su uso diario. En este documento se ha aplicado diferentes tecnologías para la caracterización de tejidos, comprobando la viabilidad de todos ellos de forma positiva.

- Se ha aplicado por primera vez la tomografía de coherencia óptica para caracterizar y cuantificar la degradación de la pared arterial en aorta humana. Este método permite producir suficiente información diagnóstica, cuya exactitud y validez diagnóstica se ha comparado satisfactoriamente con las técnicas histológicas convencionales. Su rapidez de adquisición, la facilidad de medida sin realizar cortes histológicos o tinciones y su sencillez de interpretación hacen de esta técnica una herramienta con un gran potencial de ser utilizada para la caracterización de tejidos en tiempo prácticamente real en el ámbito intraoperatorio.

Además, la rápida y sencilla aplicación de esta técnica, permite visualizar múltiples cortes sobre el tejido en diferentes regiones de una muestra, obteniendo un mapeo tridimensional completo del tejido. Esto ha permitido la caracterización de multitud de muestras en gran detalle y su análisis demuestra que la degradación en la pared arterial no es uniforme ni longitudinalmente ni sectorialmente en el vaso. Se ha comprobado cómo la cuantificación histológica de la degradación es útil pero no infalible puesto que la degradación de la pared arterial es un fenómeno que ocurre en todo el vaso a niveles diferentes de forma discontinua. Según se recoge del análisis de las muestras, tanto mediante OCT como mediante técnicas histológicas, ni siquiera la patología de la válvula aórtica bicúspide implica una degradación total de la pared.

- Se ha aplicado por primera vez la tomografía de coherencia óptica, y su variable sensible a la polarización, para la caracterización de las cuerdas tendinosas humanas. Estas cuerdas son esenciales para el correcto funcionamiento de las válvulas mitral y tricúspide, y su caracterización mediante OCT aporta conocimiento de un componente esencial para el correcto funcionamiento del corazón. La tomografía de coherencia óptica permite ver tanto la parte externa como el núcleo de estas cuerdas tendinosas. Esto permite, en primer lugar, comprobar la salud estructural de las cuerdas y en segundo lugar, calcular el parámetro de birrefringencia obtenido mediante la técnica sensible a la polarización. La birrefringencia está asociada a la estimación de la densidad de las cuerdas y permite conocer con precisión las zonas de localización de haces de colágeno. La disminución del factor de birrefringencia producido por la desalineación de las cuerdas de colágeno es indicativa de la patología de la cuerda. La carencia absoluta de colágeno en algunas regiones de las cuerdas implica una pérdida de propiedades que debe ser valoradas por el cirujano.
- La detección precoz del melanoma es una tarea complicada por la variabilidad de síntomas que pueden presentar, o peor aún, no presentar dichos tumores. La combinación de diferentes técnicas permite una caracterización de más propiedades del tejido: absorción, dispersión, estructura, forma y color, etc. que ayudan a conocer el tumor bajo análisis antes de la realización de una biopsia. En este trabajo se ha utilizado la dermatoscopia con luz polarizada y la tomografía de coherencia óptica para la caracterización de lesiones cutáneas. La dermatoscopia aporta información de forma, color y textura de gran utilidad diagnóstica y la automatización del análisis de estas ayuda a consensuar criterios, evitar subjetividad y facilitar la teleasistencia. La aplicación de la tomografía de coherencia óptica permite diferenciar dermis y epidermis e incluso regiones con alto contenido en melanocitos gracias a las diferencias de atenuación en los diferentes tejidos.

8.2 Líneas futuras

Dados los resultados satisfactorios expuestos en este documento se plantean dos líneas inmediatas. La primera línea consiste en la aplicación del sistema de medida OCT ex vivo para la caracterización de diferentes tejidos, no sólo estado sólido para visualizar su morfología, sino también líquidos en los que se puede caracterizar el coeficiente de atenuación. Entre ellos se propone la caracterización de otros elementos del sistema cardiovascular como sangre, otras vías sanguíneas, las cuerdas tendinosas de la válvula tricúspide, capilaridad, monitorización de cultivos, como membranas para la generación de tejido artificial, etc. En el ámbito dermatológico se puede aplicar para la caracterización de diferentes tipos de lesión, además de piel, folículos pilosos, u otros elementos en la dermis. La gama de equipos OCT es diversa y se pueden aplicar diferentes técnicas con diferentes penetraciones y resoluciones, por lo que la variedad de tejidos y partículas a medir puede ser variada.

8.2.1 Ámbito cardiovascular

El siguiente paso consiste en transformar o adaptar los sistemas utilizados y adaptarlos para su uso en quirófano en el caso de OCT o en una consulta de atención primaria o de dermatología en el segundo caso. La adaptación del sistema OCT consiste en la compactación de equipos y la adecuación del cabezal de medida al quirófano o consulta. Esto se debe hacer tratando de conseguir que sea un sistema higiénico, seguro y ante todo fácil de utilizar por parte del servicio

de intervención que corresponda. Esto conlleva no sólo la adaptación física y mecánica, sino también el software que permita interpretar las imágenes de forma sencilla.

En el caso de las cuerdas mitrales, así como de la aorta, se podría utilizar el mismo dispositivo, tal vez cambiando el cabezal de forma que fuese más sencillo introducirlo por cateterismo. En cualquier caso, el sistema OCT podría llegar a convertirse en una herramienta versátil en el quirófano para la caracterización de múltiples tejidos y órganos de forma rápida y precisa. La necesidad de interpretación por parte de los médicos no es elevada, dado que las imágenes obtenidas son muy similares a las obtenidas en histología y a las cuales estos profesionales están acostumbrados. Por otro lado, las herramientas de diagnóstico automatizado desarrolladas facilitan notablemente la toma de decisiones.

8.2.2 Ámbito dermatológico

En el caso de la aplicación de las diferentes técnicas del ámbito dermatológico, los equipos de medida se deben simplificar y adaptar a su uso en una consulta. Se ha de reducir el tamaño de los sistemas y facilitar el registro de las múltiples tecnologías de forma simultánea. Al igual que en el caso anterior, ha de desarrollarse un software que facilite la interpretación de los análisis aplicados. Estas herramientas no sólo pretenden ser una ayuda al diagnóstico in situ, sino que permiten el tele diagnóstico y el almacenamiento de las medidas en una base de datos que permita mejorar el nivel de detección obtenido y una caracterización completa de las propiedades ópticas de melanomas, nevus y otras afecciones.

El alcance de este documento en el ámbito dermatológico es menor que en el ámbito cardiovascular. Se plantea como línea futura inmediata realizar una campaña de medida mediante tomografía de coherencia óptica y dermatoscopia que permita probar los procesados propuestos y optimizarlos para la variabilidad de muestras que pueda surgir. El co-registro y procesado conjunto de ambos tipos de datos parece determinante para obtener un marcador diagnóstico mejorado frente a la aplicación de los equipos de forma independiente.

Listado de publicaciones relacionadas con la tesis

Artículos Internacionales

Eusebio Real, José Fernando Val-Bernal; José M. Revuelta; Alejandro Pontón; Marta Calvo Díez; Marta Mayorga; José M. López-Higuera; Olga M. Conde; 'Hessian analysis for the delineation of amorphous anomalies in optical coherence tomography images of the aortic wall'; Biomedical Optics Express, Vol.7, N° 4, pp. 1415-1429; ISSN: 2156-7085; 21/03/2016.

Eusebio Real, José Fernando Val-Bernal, José M. Revuelta, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, Marta Mayorga, José M. López-Higuera and Olga M. Conde; 'Identification of vessel wall degradation in ascending thoracic aortic aneurysms with OCT'; Biomedical Optics Express, Vol.5, N° 11, pp. 4089-4100; ISSN: 2156-7085; 29/10/2014.

Eusebio Real, Alma Eguizabal, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, J. Fernando Val-Bernal, Marta Mayorga, José M. Revuelta, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Coherence Tomography Assessment of Vessel Wall Degradation in Thoracic Aortic Aneurysms'; Journal of Biomedical Optics, Vol.18, N° 12, pp. 126003-1/126003-10; ISSN: 1083-3668; 01/12/2013.

Congresos internacionales

Eusebio Real, José Manuel Revuelta, Alejandro Pontón, Marta Calvo-Díez, José Miguel López-Higuera, Olga María Conde, 'OCT inspection of degenerative and rheumatic tendinous cords,' European Conferences on Biomedical Optics, Munich, Germany, 25-29 Junio 2017.

Arturo Pardo, Eusebio Real, Gaspar Fernandez-Barreras, Francisco Javier Madruga, José Miguel López-Higuera, Olga María Conde, 'Automated skin lesion segmentation with kernel density estimation,' European Conferences on Biomedical Optics, Munich, Germany, 25-29 Junio 2017.

Arturo Pardo, Eusebio Real, Gaspar Fernandez-Barreras, Francisco Javier Madruga, José Miguel López-Higuera, Olga María Conde, 'Skin lesion segmentation with kernel density estimation,' IEEE International Symposium on Biomedical Imaging. Melbourne, 18-21 Abril 2017.

Eusebio Real, Gaspar Fernandez-Barreras, Arturo Pardo, Francisco Javier Madruga, José Miguel López-Higuera, Olga María Conde, 'Hessian filter for automatic hair removal in dermoscopic images,' IEEE International Symposium on Biomedical Imaging. Melbourne, 18-21 Abril 2017.

Eusebio Real, José M. Revuelta, Nieves González-Vargas, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Collagen birefringence assessment in heart chordae tendineae through PS-OCT'; Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXI, San Francisco, California, USA, pp. 1005334-1 / 1005334-4; ISBN: 9781510605473; ISSN: 0277-786X; 02/02/2017.

Olga M. Conde Portilla, Eusebio Real Peña, Arturo Pardo, José M. López-Higuera; 'Fiber-optic Technologies for Tissue Diagnosis in Cardiovascular and Oncology Applications'; ICON2015 (14th International Conference on Optical Communications and Networks), Nanjing, China, ISBN: 9781467373739; 04/07/2015.

Daniel Alonso, Eusebio Real, José Fernando Val-Bernal, José M. Revuelta, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, Marta Mayorga, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Iterative Otsu's method for OCT enhanced delineation in the aorta wall'; ECBO2015 (European Conferences on Biomedical Optics 2015), Munich, Alemania, ISBN: 9781628417067; ISSN: 0277-786X; 21/06/2015.

Eusebio Real, José Fernando Val-Bernal, José M. Revuelta, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, Marta Mayorga, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Enhanced delineation of degradation in aortic walls through OCT'; BIOS'2015 de Photonics West, San Francisco, USA, 07/02/2015.

Eusebio Real, José Fernando Val-Bernal, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, Marta Mayorga, José Manuel Revuelta, José Miguel López-Higuera, Olga M. Conde; 'OCT for anomaly detection in aortic

aneurysm resection'; IEEE Sensors 2014, Valencia, Spain, pp. 694-697; ISBN: 978-1-4799-0161-6; 02/11/2014.

Eusebio Real, Jesús Mirapeix, Olga M. Conde, Rubén Ruiz-Lombera, Adolfo Cobo, José M. López-Higuera; 'Species discrimination in plasma welding spectra by means of Principal and Independent Component Analysis'; OFS23 (23rd International Conference on Optical Fibre Sensors), Santander, pp. 91570F-1 - 91570F4; ISBN: 9781628411751; ISSN: 0277-786X; 02/06/2014.

Alma Eguizabal, Eusebio Real, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, J. Fernando Val-Bernal, Marta Mayorga, José M. Revuelta, Jose M. Lopez-Higuera, Olga M. Conde; 'Identification of vessel wall anomalies in thoracic aortic aneurysms through optical coherence tomography and gradient-based strategies'; SPIE Photonics Europe 2014. Photonics, Optics, Lasers, Micro- and Nanotechnologies, Bruselas, Belgica, ISBN: 978162841077; 14/04/2014.

Luis Rodriguez-Cobo, Mauro Lomer, Adolfo Cobo, Eusebio Real and José M. Lopez-Higuera; 'Wavelength Domain Multiplexed fiber specklegram sensor'; OFS23 (23rd International Conference on Optical Fibre Sensors), Santander, pp. 91579K-1 - 91579K-4; ISBN: 9781628411751; ISSN: 0277-786X; 02/06/2014.

Eusebio Real, José F. Val-Bernal, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, Marta Mayorga, José M. Revuelta, José M. López-Higuera and Olga M. Conde; 'OCT assessment of aortic wall degradation for surgical guidance'; OFS23 (23rd International Conference on Optical Fibre Sensors), Santander, pp. 91575H-1 - 91575H-4; ISBN: 9781628411751; ISSN: 0277-786X; 02/06/2014.

Olga M. Conde, Alma Eguizabal, Eusebio Real, José M. Lopez-Higuera, Pilar B. García-Allende, Ana M. Cubillas; 'Optical Spectroscopic Sensors: From the Control of Industrial Processes to Tumor Delineation'; ICAIT 2013. 6th IEEE/International Conference on Advanced Infocomm Technology, Taiwan, pp. 91-92; ISBN: 978-1-4799-0465-5; 06/07/2013.

Eusebio Real, Alma Eguizabal, Alejandro Pontón, J. Fernando Val-Bernal; Marta Mayorga, José M. Revuelta, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Optical Coherence Tomography Assessment of Vessel Wall Degradation in Aneurysmatic Thoracic Aortas'; European Conferences on Biomedical Optics 2013 (ECBO), Munich, Germany, pp. 88020G-1 / 88020G-7; ISBN:9780819496553; ISSN: 0277-786X; 12/05/2013.

Congresos nacionales

Eusebio Real, José Fernando Val-Bernal, José M. Revuelta, Alejandro Pontón, Marta Calvo Díez, Marta Mayorga, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Detección de anomalías en la pared aortica a través de análisis Hessiano de imágenes de Tomografía de Coherencia Óptica'; RNO 2015 (XI Reunión Nacional de Óptica), Salamanca, ISSN: 978-8460846093;01/09/2015.

Otras publicaciones

Artículos Internacionales

Alberto Rodríguez-Cuevas, Eusebio Real Peña, Luis Rodríguez-Cobo, Mauro Lomer, José Miguel López Higuera; 'Low-cost fiber specklegram sensor for noncontact continuous patient monitoring'; Journal of Biomedical Optics, Vol.22, N° 3, pp. 037001-1 /037001-9; ISSN: 1083-3668; 02/03/2017

Arturo Pardo, Eusebio Real, Venkat Krishnaswamy, José Miguel López-Higuera, Brian W. Pogue, Olga M. Conde; 'Directional Kernel Density Estimation for Classification of Breast Tissue Spectra'; IEEE Transactions on Medical Imaging, Vol.36, N° 1, pp.64-73; ISSN: 0278-0062; 15/01/2017

Congresos internacionales

Luis Rodriguez-Cobo, Alberto Rodriguez-Cuevas, Eusebio Real, José M. Lopez-Higuera, Mauro Lomer; 'POF-based specklegram sensor for continuous patient monitoring'; POF 2016 (The 25th International Conference on Plastic Optical Fibres), Birmingham; UK, pp.1-4; 13/09/2016.

Eusebio Real, María F. Pilar Cuellar, Rebeca Vidal Casado, Elsa M. Valdizán Ruiz, Angel Pazos Carro, David Hernández, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Principal Component Analysis applied to the identification of spectral variations in depressed mouse brain'; Optical Sensors, Boston, Massachusetts, USA, pp. 1-3; ISSN: 978-15572520005; 27/06/2015.

Gaspar Fernandez-Barreras, Eusebio Real, Ashley M. Laughney, Venkataramanan Krishnaswamy, Keith D. Paulsen, Jose M. Lopez-Higuera, Brian W. Pogue, Olga M. Conde; 'Multispectral reflectance enhancement for breast cancer visualization in the operating room'; BIOS'2015 de Photonics West, San Francisco, USA, 07/02/2015.

Congresos nacionales

Arturo Pardo, Eusebio Real, Brian W. Pogue, José M. López-Higuera, Olga M. Conde; 'Realce multiespectral de tejidos tumorales'; RNO 2015 (XI Reunión Nacional de Óptica), Salamanca,ISSN: 978-8460846093; 01/09/2015.

