

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS  
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



*Trabajo Fin de Máster*

**TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO  
AUTOMATIZADO DE PATOLOGÍAS  
CARDIOVASCULARES MEDIANTE IMAGEN  
HIPERESPECTRAL**

(Automated Diagnostic Techniques for  
Cardiovascular Pathologies Using  
Hyperspectral Imaging)

Para acceder al Título de

***Máster Universitario en Ciencia e  
Ingeniería de la Luz***

Autor: Pablo Lavín Pellón

Septiembre-2020





E.T.S. DE INGENIEROS INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACION

## **MASTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LA LUZ**

### **CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE MASTER**

**Realizado por: Pablo Lavín Pellón**

**Director del TFM: Olga M. Conde y Arturo Pardo**

**Título: “ Técnicas de diagnóstico automatizado de patologías cardiovasculares mediante imagen hiperespectral”**

**Title: “ Automated diagnostic techniques for cardiovascular pathologies using hyperspectral imaging“**

**Presentado a examen el día:**

para acceder al Título de

## **MASTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LA LUZ**

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Manuel Pérez Cajigal

Secretario (Apellidos, Nombre): M<sup>a</sup> Dolores Ortiz Márquez

Vocal (Apellidos, Nombre): M<sup>a</sup> Ángeles Quintela Incera

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de: .....

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

Fdo.: El Director del TFM  
(sólo si es distinto del Secretario)

V<sup>o</sup> B<sup>o</sup> del Coordinador

Trabajo Fin de Máster N<sup>o</sup>  
(a asignar por Secretaría)

AGRADECIMIENTOS: Este trabajo ha sido realizado gracias a los medios proporcionados por los proyectos INTRACARDIO (DTS17/00055), FUSIODERM (DTS15/0238), DiCuTen (INNVAL 16/02), DAPATOO (INNVAL 18/23) y BIOTIL (PEJ2018-003410-P) financiados por el ISCIII, la Fundación Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL) y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades cofinanciado con fondos FEDER.

## **Agradecimientos**

Lo primero de todo, mi más sinceros agradecimientos a Olga, Arturo y José por toda su ayuda prestada durante este trabajo, especialmente en un año tan difícil. Muchas gracias por vuestro esfuerzo y confianza.

También me gustaría agradecer a toda la gente que ha trabajado duro para que este máster sea una realidad.

Y por supuesto, agradecer como siempre el apoyo brindado por mi familia, amigos y amigas.

# Resumen

La imagen médica es una herramienta indispensable en el ámbito biomédico. Permite obtener información precisa que no se puede observar de otra manera. Además, en los últimos años, el uso de técnicas ópticas en el diagnóstico médico ha supuesto grandes avances, con el objetivo de conseguir un diagnóstico eficaz, temprano, preciso y de coste reducido.

El aneurisma de aorta sigue siendo una de las principales causas de muerte en el mundo, en parte por la falta de un diagnóstico eficaz, puesto que una gran parte de los casos se manifiestan con la ruptura de la aorta, lo que en la mayoría de los casos supone la muerte. Además, el tratamiento y la recuperación también pueden presentar dificultades debido a que cuando se realiza una cirugía abierta para colocar una prótesis vascular, no existe una técnica fiable para delimitar los contornos y la extensión de la patología.

Las técnicas de imagen médica resultan de gran utilidad, pero tienen sus limitaciones (precios elevados, radiación ionizante), por ello, las técnicas en el dominio óptico son una interesante alternativa. A pesar de estar limitadas en cuanto a distancia de penetración se refiere, debido a la absorción del agua presente en los tejidos, estas técnicas no son invasivas, no presentan radiación ionizante, son de coste relativamente asequible comparada con otras técnicas, rápidas y de gran precisión.

En este trabajo se ha utilizado la imagen hiperespectral con el objetivo de analizar diversas muestras de aorta patológicas. Además, se ha llevado a cabo un análisis mediante el detector de anomalías RX, con el objetivo de detectar y delimitar anomalías presentes en las muestras, debido a las patologías presentes en la misma. Con el objetivo de identificar correctamente las muestras, se han utilizado diversas técnicas (métricas de distancia y descomposición lineal) para identificar y cuantificar los cromóforos presentes en la aorta (siendo los principales elastina, colágeno, agua y lípidos) y entender los mecanismos de degradación que la patología produce en dichos cromóforos.

Para entender correctamente como las patologías afectan a los tejidos, en este caso a la aorta, es vital identificar su repercusión en los cromóforos que componen el tejido, e identificar los factores determinantes en la degradación de los tejidos. Entendiendo correctamente estos aspectos, es posible establecer una técnica de diagnóstico eficaz para identificar determinadas patologías, en este caso aneurisma de aorta.

En este trabajo se han analizado muestras de control y muestras patológicas, con el objetivo de tener perspectiva sobre los resultados. En este caso, los componentes principales de la aorta son la elastina y el colágeno, por lo que ambos cromóforos son los indicados a ser factores determinantes en la degradación de las muestras debido a diversas patologías.

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.

# Índice general

<b>1</b>	<b>Introducción, motivación y objetivos</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Anatomía y patología de la arteria aorta</b>	<b>4</b>
2.1	Anatomía de la aorta . . . . .	4
2.2	Patologías de la aorta . . . . .	6
2.2.1	Aneurisma y disección aórtica . . . . .	6
2.2.1.1	Diagnóstico . . . . .	8
2.2.2	Enfermedad inflamatoria aórtica . . . . .	9
<b>3</b>	<b>Propiedades ópticas de los tejidos</b>	<b>11</b>
3.1	Absorción . . . . .	12
3.2	Scattering . . . . .	14
3.2.1	Scattering de Rayleigh . . . . .	16
3.2.2	Scattering de Mie . . . . .	17
3.3	Propiedades ópticas de la aorta . . . . .	18
<b>4</b>	<b>Imagen médica</b>	<b>20</b>
4.1	Técnicas de imagen médica . . . . .	20
4.1.1	Técnicas no ópticas . . . . .	21
4.1.2	Técnicas ópticas . . . . .	22
4.1.2.1	Imagen hiperespectral (HSI) . . . . .	22
4.1.3	Técnicas híbridas . . . . .	27
<b>5</b>	<b>Técnicas de análisis y equipo hiperespectral</b>	<b>29</b>
5.1	Análisis de componentes principales (PCA) . . . . .	29
5.2	Detección de anomalías: algoritmo RX . . . . .	30
5.3	Detección lineal de firmas espectrales . . . . .	32
5.4	Métricas de comparación . . . . .	33
5.5	Equipo hiperespectral . . . . .	35
<b>6</b>	<b>Resultados y discusión</b>	<b>36</b>
6.1	Muestras de tejido . . . . .	36
6.2	Muestras de control . . . . .	37
6.3	Muestra patológica 1 . . . . .	40
6.4	Muestra patológica 2 . . . . .	44
6.5	Muestra patológica 3 . . . . .	49
<b>7</b>	<b>Conclusiones y trabajo futuro</b>	<b>56</b>
	<b>Bibliografía</b>	<b>58</b>



# 1 Introducción, motivación y objetivos

El aneurisma de aorta sigue siendo una de las principales causas de muerte en el mundo. Se estima que tiene una incidencia entre el 0.1% en la región torácica y el 9% en la región abdominal, con unas tasas de mortalidad entre el 12% y el 50%, respectivamente [1]. Las estadísticas varían significativamente en función del sexo, la edad y la región de la arteria afectada. Además, algunos factores como el tabaquismo, el alcohol, el colesterol, la obesidad y la alta presión arterial agravan estos problemas. Uno de los mayores problemas se presentan en el diagnóstico, ya que una gran parte de los casos son asintomáticos. Además, la mayor parte de los casos se manifiestan cuando el aneurisma se encuentra en un estado avanzado por lo que su tratamiento es mucho más difícil. Por ello, un diagnóstico precoz es crucial, puesto que si no se realiza un diagnóstico a tiempo la arteria se puede romper, lo que conlleva una tasa de mortalidad de hasta el 68% en mujeres y del 40% en hombres, para el caso de una rotura de aneurisma abdominal [2]. Además, 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 [2].

Sin embargo, no solo el diagnóstico precoz es vital, sino que la caracterización de la pared aórtica a la hora de realizar una intervención resulta de gran importancia. En la actualidad se utilizan técnicas como la resonancia magnética o la tomografía computarizada, sin embargo, estas técnicas puede no ser suficiente y son difíciles de trasladar a entornos intraoperativos. En la intervención se coloca una endoprótesis vascular o una prótesis vascular mediante la cirugía abierta. En el segundo caso se retira el material degradado y se coloca una prótesis compatible con el paciente. El hecho de no retirar todo el material degradado puede resultar crucial, resultando en nuevas intervenciones y una recuperación más problemática. Por otra parte, si se retira tejido sano, la recuperación es mucho más difícil, más larga y puede tener complicaciones en un futuro, por lo que se precisa de un diagnóstico de la localización del tejido degradado.

A pesar de las múltiples técnicas de imagen médica que existen, en este trabajo se ha apostado por el dominio óptico, en concreto por la imagen hiperespectral. Las técnicas ópticas no presentan altas distancias de penetración debido a la absorción del agua, de la sangre y de la melanina, y en algunos casos la resolución es limitada. Sin embargo, existe la denominada ventana terapéutica donde la absorción es mínima, entre 700 nm y 1110 nm, con dos bandas estrechas adicionales en 1300 nm y 1600 nm. Además, las técnicas ópticas tienen ventajas potenciales, siendo técnicas de coste más asequible, rápidas, precisas y con radiación no ionizante, por lo que no existe ningún riesgo para la salud, además, de que son mínimamente invasivas. Todos estos factores hacen que hoy en días las técnicas ópticas sean cada día más utilizadas, y se mejoren sus limitaciones.

Para entender el comportamiento de las patologías de la aorta, en este trabajo se propone el uso del algoritmo de detección de anomalías RX, con uso extendido en imágenes vía satélite pero con muy poco uso en el ámbito biomédico.

Además, se complementa con el uso de un modelo lineal sencillo de cuantificación de cromóforos, ya que para entender los mecanismos de las patologías y su repercusión en el tejido es necesario entender el comportamiento de los cromóforos que componen la aorta, los cuales son principalmente elastina y colágeno, y en menor medida agua y lípidos. Para establecer un diagnóstico precoz eficaz, es necesario conocer los mecanismos de degradación de la patología y como estos tienen su efecto en los cromóforos mencionados. De esta manera, se pueden desarrollar algoritmos que detecten las anomalías en base a las diferencias espectrales observadas.

## Objetivos

En este trabajo se ha utilizado la imagen hiperespectral como herramienta principal de imagen médica. Las distintas técnicas no ópticas (como la resonancia magnética o la tomografía computarizada) tienen múltiples ventajas y son ampliamente utilizadas en el ámbito biomédico. Sin embargo, tienen grandes limitaciones (radiación ionizante, precios elevados) por lo que el dominio óptico es una gran apuesta en este ámbito. También presenta algunas desventajas, como puede ser la distancia de penetración debido a la absorción del agua presente en los tejidos, pero por otro lado ofrece precios mucho más reducidos, no ofrece ningún peligro para la salud, y son técnicas rápidas y no invasivas.

Con todo ello, el objetivo principal de las técnicas de imagen médica es establecer un diagnóstico temprano, rápido, no invasivo y de coste reducido. Además, los objetivos principales de este trabajo son:

- Identificación ciega de anomalías en tejido cardiovascular, produciendo una máscara de segmentación de las mismas. Para ello se utilizará el algoritmo de detección de anomalías RX. El objetivo será identificar y delimitar posibles anomalías en muestras patológicas de aorta.
  - Identificación de anomalías. Será crucial entender que repercusión tienen las anomalías detectadas en la muestra. Para ello será vital entender la repercusión de la patología en la muestra y como afecta a los cromóforos que la componen.
  - Cuantificación de los cromóforos más significativos del tejido aórtico estableciendo una comparativa entre zonas supuestamente degradadas y zonas sanas. Se utilizará una descomposición lineal en conjunto con el modelo de reflectancia difusa de Kubelka-Munk para detectar la presencia de cromóforos en la muestra y cuantificarlos. Esto permitirá comparar los resultados obtenidos con las anomalías detectadas y arrojar información sobre los mecanismos de degradación que producen las patologías en las muestras.
-

## Estructura del documento

La estructura seguida en este trabajo es la siguiente:

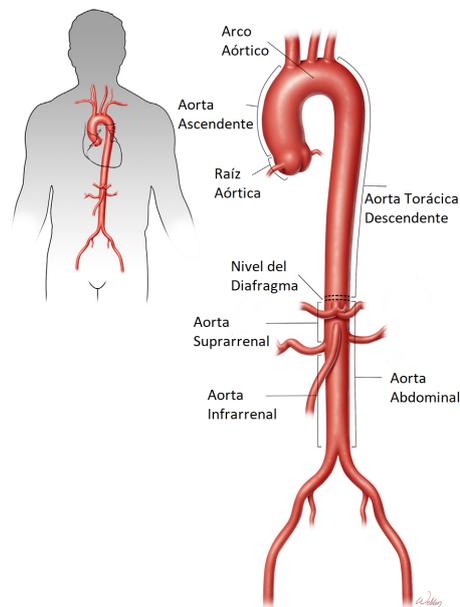
- En el Capítulo 2 se expone la anatomía y patologías de la arteria aorta. Es fundamental entender la estructura y funcionamiento de la aorta y las principales patologías antes de realizar cualquier análisis.
  - En el Capítulo 3 se exponen las propiedades ópticas de los tejidos. Cuando se utiliza una técnica de diagnóstico en imagen médica es fundamental entender los mecanismos básicos de interacción entre la radiación electromagnética y los tejidos.
  - En el Capítulo 4 se realiza un breve repaso de las principales técnicas de imagen médica, tanto en el dominio óptico como en el no óptico.
  - En el Capítulo 5 se exponen las principales técnicas de análisis hiperespectral utilizadas en este trabajo, así como el equipo experimental con el que se han medido las muestras.
  - En el Capítulo 6 se exponen los resultados obtenidos así como su discusión.
  - Finalmente, en el Capítulo 7 se exponen las conclusiones del trabajo, así como el trabajo futuro propuesto a realizar.
-

## 2 Anatomía y patología de la arteria aorta

El desarrollo de una patología en tejidos u órganos conlleva la modificación de sus propiedades físicas y químicas. Por ello, conocer las propiedades de los tejidos sanos y de los tejidos enfermos, así como los mecanismos de degradación, es vital a la hora de desarrollar nuevas herramientas de diagnóstico que ayuden a evitar estas patologías. En este capítulo se expone brevemente la anatomía y fisiología de la arteria aorta, así como algunas de sus patologías y sus mecanismos de aparición y evolución.

### 2.1 Anatomía de la aorta

La arteria aorta es la principal arteria del cuerpo humano, y su función es el transporte y distribución de sangre oxigenada desde el corazón hasta el resto de vasos principales del sistema circulatorio. La aorta tiene una gran elasticidad ya que debe disminuir las diferencias de presión producidas en los bombeos del corazón, y proporcionar un flujo de sangre uniforme. La aorta se puede dividir en varios segmentos (Fig. 2.1), distinguidos no solo por su localización, también por su composición estructural y su función. La región ascendente y el arco aórtico son más elásticas, debido a que son las zonas donde la diferencia de presión es mayor, mientras que la región abdominal es menos elástica y más estrecha [3].



**Figura 2.1:** Segmentos de la aorta. La aorta comprende la aorta torácica ascendente, el arco aórtico, la aorta torácica descendente, la aorta suprarrenal y la aorta infrarrenal. El diafragma divide la aorta en la parte torácica y en la abdominal [3].

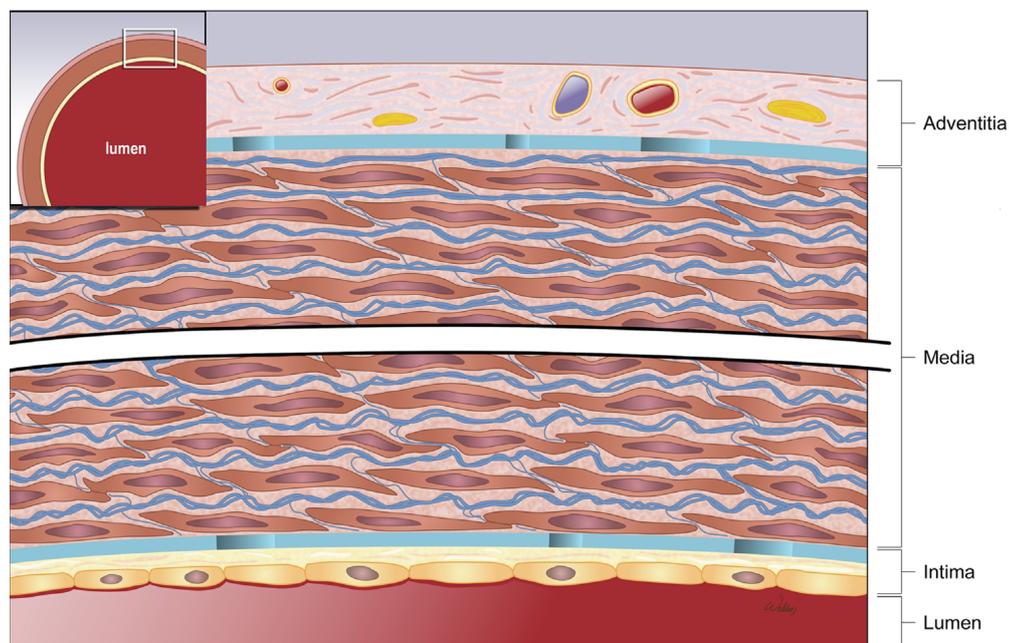
La aorta torácica se extiende desde el corazón hasta el diafragma y está compuesta por la aorta torácica ascendente, el arco aórtico y la aorta torácica descendente. La aorta ascendente se origina en la raíz aórtica, que comprende la válvula aórtica y los senos de Valsalva, de los cuales surgen los ostium de la arteria coronaria, y acaba cerca del origen de la arteria innominada. El arco o cayado aórtico transversal es el segmento del cual surgen las arterias innominada, que se bifurca en la subclavia y carótidas derechas, la carótida común izquierda y la subclavia izquierda. La aorta torácica descendente se extiende más allá del origen de la arteria subclavia izquierda hasta el diafragma. Por debajo del diafragma, la arteria abdominal se divide en los segmentos suprarrenal e infrarrenal.

La pared de la aorta está formada por tres capas (Fig. 2.2): una delgada capa interna (la íntima), una gruesa capa media (la media), y una fina capa externa (la túnica adventicia).

La íntima está forrada con una monocapa de células endoteliales que separan la pared aórtica de la sangre circulante y regulan las funciones vasculares.

La media está compuesta de células musculares lisas con una matriz extracelular de fibras elásticas, colágeno, proteínas adhesivas (p. ej. laminina y fibronectina) y proteoglicanos. La importancia de la capa media es crítica controlando funciones biomecánicas de la aorta, incluyendo elasticidad y conformidad (p. ej. la habilidad para distender y retroceder), rigidez y resistencia a la tracción (p. ej. esfuerzo máximo sostenido sin fallar). Las fibras elásticas contribuyen a la conformidad de la aorta, mientras que las fibras de colágeno contribuyen a la rigidez y a la fuerza.

La capa adventicia contiene células como los fibroblastos y adipocitos, la matriz extracelular contiene colágeno y elastina, vasa vasorum y linfáticos, y nervios perivasculares. La adventicia no solo provee alimento a la pared aórtica, también una puerta para la infiltración de células inflamatorias en la pared aórtica.



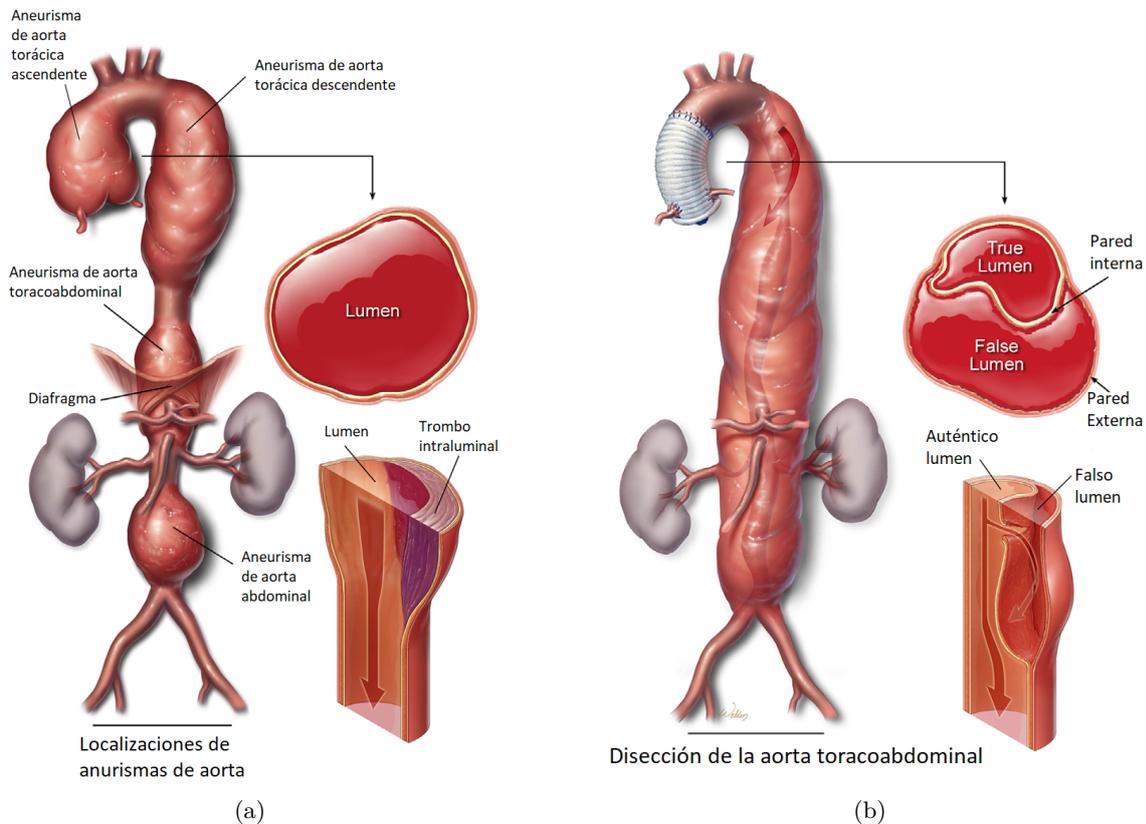
**Figura 2.2:** Estructura de la pared aórtica [3].

## 2.2 Patologías de la aorta

Las enfermedades de la aorta constituyen una patología frecuente y habitualmente grave, que incluye un amplio espectro de enfermedades como aneurismas, el síndrome aórtico agudo, lesiones traumáticas, enfermedades genéticas, inflamatorias y patologías congénitas. En esta sección se van a revisar algunas de las principales enfermedades de la aorta como son el aneurisma, la disección y las enfermedades inflamatorias.

### 2.2.1 Aneurisma y disección aórtica

Los aneurismas y disecciones aórticas (AAD por sus siglas en inglés) son enfermedades comunes que pueden causar la ruptura de la aorta y otras complicaciones potencialmente mortales. El aneurisma de aorta ocurre cuando el debilitamiento progresivo de la pared aórtica, causa un aumento del diámetro 1.5 veces más grande de lo normal (Fig. 2.3(a)). La disección aórtica ocurre cuando se produce un desgarro en la capa íntima de la aorta y la sangre comienza a fluir por la capa media, separando dichas capas y creando un falso lumen con una pared aórtica externa muy debilitada (Fig. 2.3(b)). Tanto el aneurisma como la disección pueden tener lugar en uno o varios segmentos de la aorta y se nombran acordeamente. El aneurisma de aorta toracoabdominal es aquella que se extiende a través del diafragma, involucrando las continuidades de la aorta torácica descendente y de la aorta abdominal [3].



**Figura 2.3:** (a) Distintos ejemplos de aneurisma de aorta y (b) disección aórtica [3].

La incidencia de AAD torácica (TAAD) se estima que son 16 casos por 100.000 personas por año en hombres, y 9 casos por 100.000 personas por año en mujeres [3]. De todos los casos de TAAD, el 50% involucran la raíz aórtica, la aorta ascendente o ambas; el 30% involucra la aorta torácica descendente; el 10% involucra el arco aórtico y el 10% involucra la aorta toracoabdominal. La disección de aorta torácica (TAD por sus siglas en inglés) se estima que ocurre con un ratio de 3 casos por 100.000 personas por año. El predominio de aneurisma de aorta abdominal infrarrenal (AAA) se estima que es entre un 2.2% y un 5% en hombres mayores que 55 años [3].

El aneurisma de aorta torácica (TAA por sus siglas en inglés) crece a un ritmo de 0.1 cm/año y la intervención es recomendable cuando el diámetro alcanza los 5.0-5.5 cm. Sin embargo, pacientes con síndrome Loeys-Dietz o antecedentes familiares con TAA que conducen a una disección aórtica aguda, experimentan una disección aórtica con diámetros menores, siendo recomendable la intervención cuando el diámetro alcanza los 4.2 cm.

El aneurisma de aorta abdominal (AAA) es más común que el TAA. Aproximadamente el 80% de todos los aneurismas de aorta ocurren por debajo de las arterias renales, y la mayoría comienzan siendo un aterosclerosis. Otras causas menos comunes incluyen aneurisma inflamatoria, aneurisma tuberculosa y aneurisma infecciosa o sifilítica. Fumar es el factor de riesgo reversible más importante del aneurisma de aorta abdominal. Los hombres tienen diez veces más de probabilidad de tener un AAA de 4 cm o más, pero las mujeres tienen cuatro veces más probabilidad de tener una ruptura a cualquier diámetro [4]. Otros factores de riesgo son la edad, los antecedentes familiares y la aterosclerosis. Los AAA de entre 4.0 y 5.5 cm crecen con un ratio de 0.3 cm/año, con una probabilidad menor del 25% de crecer 0.5 cm o más por año, además, los aneurismas de mayor tamaño se expanden más rápidamente que los de menor tamaño. En general, un diámetro de 5.5 cm se considera el mejor umbral para la intervención [4].

Los AAD son altamente letales y requieren tratamiento quirúrgico inmediato. Los tratamientos quirúrgicos generalmente consisten en eliminar el segmento enfermo y colocar una prótesis. A pesar de los avances significativos en AAD, se estima que causan 10.000 muertes en los Estados Unidos por año. A pesar de que es una de las principales causas de muerte en personas mayores de 55 años, también afectan en gran medida a niños y adultos más jóvenes.

Las TAAD se pueden dividir en las que son desencadenadas genéticamente (30%) o esporádicamente (70%). Las TAAD desencadenadas genéticamente son causadas por mutaciones en genes que codifican proteínas como las proteínas contráctiles de los músculos lisos, las proteínas de la matriz extracelular, y proteínas involucradas en la transformación del factor de crecimiento de señalización beta. Por otro lado, los TAAD esporádicas se asocian con factores de riesgo como el envejecimiento, pertenecer a la población de sexo masculino, fumar e hipertensión. En general, tanto en el caso genético como en el esporádico, el aumento de vías de producción de especies reactivas de oxígeno y la activación de señalización de estrés, pueden causar la disfunción y muerte de los músculos lisos, la destrucción de la matriz extracelular, y la inflamación aórtica, contribuyendo a la progresión de estas enfermedades [4].

A pesar de que los abordajes quirúrgicos para tratar los AAD han avanzado significativamente en los últimos años y se han vuelto menos invasivos, hay una necesidad urgente de nuevos abordajes médicos que prevengan la progresión de estas enfermedades. Aunque existan ciertos medicamentos que puedan frenar el avance de los AAD, ninguno es efectivo previniendo o eliminando dichas enfermedades.

Por eso, es esencial una mejor comprensión de los mecanismos moleculares detrás del inicio y la progresión de los AAD, para desarrollar nuevos medicamentos y tratamientos de mayor eficacia.

### 2.2.1.1 Diagnóstico

Se calcula que el 50% de los TAA son completamente asintomáticos y pueden permanecer durante largos periodos de tiempo [5]. El síntoma más común es el dolor habitualmente interescapular y menos frecuentemente en la pared costal. El diagnóstico puede realizarse por una radiografía de tórax por el ensanchamiento de la sombra aórtica y a veces la calcificación que puede delimitar claramente las paredes de la aneurisma. En la mayoría de las ocasiones, el diagnóstico se realiza mediante TAC, exploración que permite de una forma muy exacta identificar no solo el diámetro, sino también las relaciones de la aneurisma con la subclavia izquierda y las arterias viscerales.

Los pacientes con TAA con mucha frecuencia tienen patologías asociadas como enfermedad coronaria, insuficiencia renal, hipertensión, diabetes, etc. y por lo tanto el tratamiento médico básico debe contemplar el control específico de estos problemas. A pesar de que existan ciertos medicamentos que ayuden a frenar el ritmo de expansión de la aneurisma, los pacientes deben realizar un programa de seguimiento, para monitorizar el diámetro ideal para realizar el tratamiento quirúrgico.

Uno de los tratamientos quirúrgicos para tratar el TAA es la reparación endovascular, conocida como TEVAR, la cual consiste en el implante de un dispositivo denominado endoprótesis, que asocia una prótesis vascular con una estructura metálica de soporte y anclaje, y que habitualmente se introduce a través de la arteria femoral. El uso de estos dispositivos ha convertido la reparación aórtica en una técnica mucho menos invasiva y con mejores resultados perioperatorios que la cirugía abierta. Sin embargo, esta técnica requiere un seguimiento exhaustivo del desarrollo de la aneurisma. Por otro lado está la reparación abierta, que consiste en la exclusión del aneurisma y la sustitución de la aorta por una prótesis vascular suturada [5]. En ambos casos es necesario conocer la localización y extensión de la degradación del tejido.

En lo referente al aneurisma de aorta toracoabdominal, las herramientas de diagnóstico, los síntomas y el tratamiento médico son los mismos que para el TAA. El reemplazo de la aorta toracoabdominal es una de las intervenciones de mayor magnitud que se practican en cirugía abierta. Por ello, el resultado dependerá de tres factores: adecuada selección preoperatoria, correcta técnica quirúrgica y protección frente a la isquemia visceral, y realización del procedimiento en centros de contrastada experiencia. Por otro lado, en los últimos años se han diseñado endoprótesis con ramas para poder excluir aneurismas que afecten a las arterias viscerales, manteniendo la permeabilidad de las mismas. Es un tratamiento menos invasivo, pero todavía no se puede aplicar a todos los pacientes.

Respecto al AAA, muchos de los pacientes también son asintomáticos, lo que al igual que en los otros casos plantea problemas para su detección. La palpación abdominal puede ser un método para detectar este tipo de aneurisma, pero su sensibilidad es baja (inferior al 30%), ya que depende de múltiples factores, como el diámetro de la aorta, la grasa del cuerpo (más difícil en pacientes con obesidad) y en la experiencia del palpador. Otras técnicas mucho más efectivas son la ecografía y el TAC.

---

La ecografía es una técnica barata, accesible, reproducible, sin riesgos y con una alta sensibilidad y especificidad. El TAC se utilizar a la hora de planear el tratamiento quirúrgico, dado que aporta información anatómica mucho más precisa. Como principales inconvenientes están la radiación, el uso de contraste intravenoso y su posible relación con el daño renal inducido por contraste, además de que se trata de una prueba menos accesible y más cara.

En el caso del AAA se han analizado diversos fármacos pero ninguno de ellos ha demostrado un beneficio claro en el tratamiento de la enfermedad. La eliminación del tabaco es un factor positivo en la evolución de la aneurisma. Actualmente, existen dos alternativas para la reparación del aneurisma: la reparación abierta y el tratamiento endovascular. La reparación abierta consiste en la exclusión del AAA mediante la interposición de un injerto protésico entre los segmentos proximal y distal del aneurisma libres de enfermedad. Por supuesto, la evaluación preoperatoria resulta de vital importancia. El tratamiento endovascular consiste en la colocación de una endoprótesis, siendo esta alternativa la más utilizada hoy en día por sus múltiples ventajas, como un menor riesgo y una mejor recuperación. Sin embargo, para realizar este tratamiento se deben cumplir una serie de requerimientos anatómicos para el anclaje de la prótesis, por lo que puede no ser apta para todos los pacientes [5].

### 2.2.2 Enfermedad inflamatoria aórtica

De cara a realizar el diagnóstico óptico de la integridad del tejido cardiovascular, es necesario conocer los tipos de degradación a los que se ve sometido, según sea la enfermedad que lo afecte. Por lo tanto, en esta sección se describirá brevemente el cambio celular que produce cada tipo de enfermedad para poder discutir posteriormente las medidas y resultados obtenidos.

De acuerdo con la Sociedad de Patología Cardiovascular y la Asociación Europea de Patología Cardiovascular, hay tres categorías generales referentes a enfermedades inflamatorias aórticas [4]: (a) aterosclerosis, (b) aterosclerosis con excesiva inflamación (aneurismas ateroscleróticos inflamatorios), y (c) aortitis/periaortitis.

La aterosclerosis se caracteriza por la acumulación de células musculares lisas y células inflamatorias en la capa íntima de arterias musculares y elásticas. A pesar de que la aterosclerosis tiene lugar en la capa íntima, en algunos casos la capa media se destruye, seguida de una infiltración crónica de células inflamatorias, imitando una aortitis.

La aortitis se puede dividir en dos tipos de casos, infecciosa y no infecciosa. Existen principalmente dos variantes de aortitis no infecciosa: la arteritis de Takayasu (TA) (especialmente en pacientes jóvenes) y la arteritis de células gigantes (GCA) (especialmente en pacientes mayores). Además, se ha propuesto un tercer diagnóstico, referido a aortitis no específicas, aisladas o idiopáticas, para considerar las aortitis sin una intervención sistemática.

GCA es una enfermedad de inflamación granulomatosa de las arterias de medio y gran tamaño, siendo la vasculitis sistemática más común en el Hemisferio Occidental, afectando predominantemente a mujeres del norte de Europa de menos de 50 años [4]. GCA típicamente causa vasculitis en las ramas extracraneales de arteria carótida y de la arteria aorta. En el caso de la aorta, aumenta el riesgo de aneurismas así como la disección y/o ruptura.

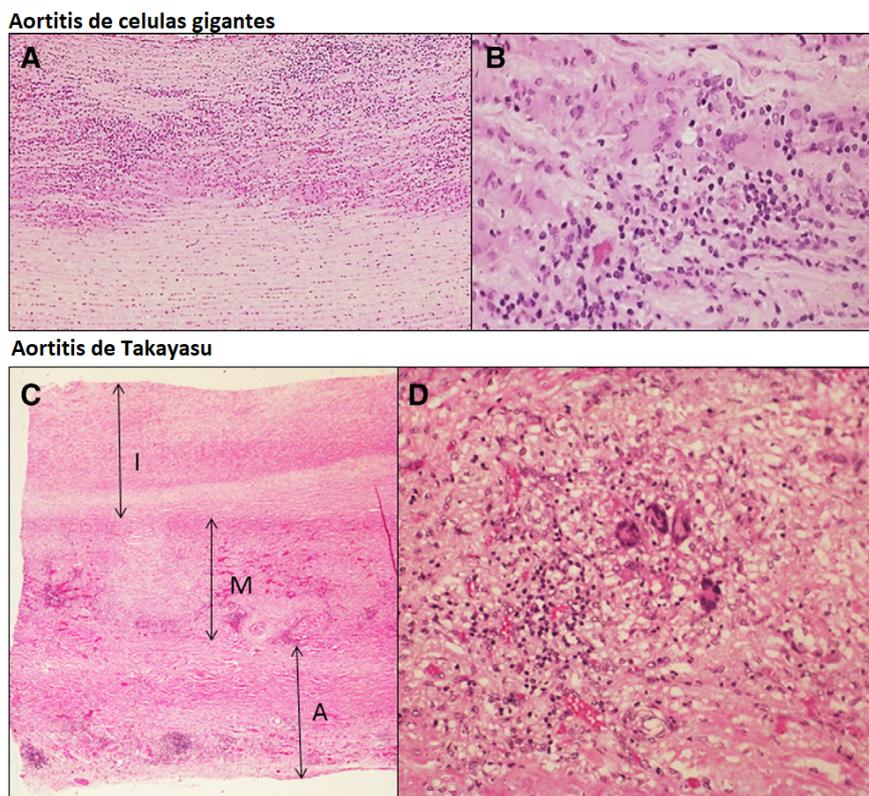
Histológicamente, la aortitis debido a GCA está compuesta de inflamación granulomatosa de la capa media, que consiste en macrófagos epitelioides y ocasionalmente células gigantes; sin embargo, no suele haber presencia de granulomas compactos.

---

Hay presencia de necrosis laminar medial que consiste en la pérdida de células musculares lisas con el colapso de fibras elásticas. El encontrar un gran número de células gigantes resulta de ayuda, pero no es un requisito previo en el diagnóstico.

TA es la vasculitis sistemática más común que afecta a pacientes con menos de 50 años, siendo la mayoría mujeres [4]. Los principales síntomas son enfermedad oclusiva arterial de la aorta, del arco aórtico y de los vasos más grandes; sin embargo, el ostium coronario, las arterias renales y las arterias pulmonares pueden estar involucradas, pero muchas son asintomáticas. TA es más común en Japón, el sudeste de Asia, India y México.

Aunque el patrón histológico puede superponerse con la GCA, el grosor de la pared aórtica es generalmente mayor y las cicatrices adventicias son más comunes en TA que en GCA (ver Fig. 2.4). A pesar de que no hay histología patognomónica (no hay síntomas claros que se puedan relacionar con una enfermedad), la inflamación de la capa media es más severa en GCA que en TA, mientras que los granulomas compactos son más comunes en TA.

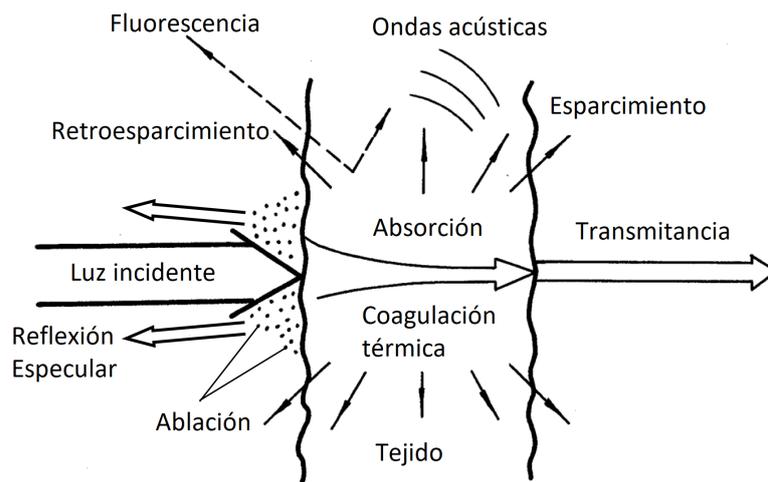


**Figura 2.4:** Aortitis de células gigantes. (A) Corte histológico que muestra una extensa destrucción de la mitad interna de la capa media (área azulada). (B) Mayor aumento que demuestra linfocitos, macrófagos, y células gigantes con múltiples núcleos en la capa media (tinción de hematoxilina y eosina). Aortitis de Takayasu. (C) Vista bajo aumento de la aorta torácica que muestra un marcado engrosamiento de la adventicia (A) y moderado engrosamiento de la íntima (I). La capa media muestra inflamación y daños focalizados (tinción H&E). (D) Visión con mayor aumento que demuestra la destrucción de la capa media e inflamación marcada, que consiste en linfocitos, macrófagos y células gigantes (tinción H&E) [4].

### 3 Propiedades ópticas de los tejidos

La interacción de la luz con los tejidos biológicos supone un reto en las aplicaciones médicas para diagnóstico debido a su complejidad. En este capítulo se repasan brevemente los principales mecanismos de interacción de la luz con los tejidos y sus propiedades ópticas.

Cuando un rayo de luz incide en un tejido biológico se pueden producir múltiples fenómenos más allá de la absorción y el scattering. Algunos de estos fenómenos son: fluorescencia, ablación, coagulación, ondas acústicas, etc. En general, todos ellos dependerán de la longitud de onda de la radiación incidente, del índice de refracción del tejido, de su forma, tamaño y composición, entre otros aspectos a tener en cuenta. En la Fig. 3.1 se muestra un esquema de los diferentes modos de interacción de la luz con tejidos.



**Figura 3.1:** Representación esquemática de los diferentes modos de interacción de la luz con los tejidos [6].

La luz incidente en un tejido puede ser directamente reflejada en la superficie, o penetrar en el tejido y sufrir múltiples procesos de scattering para posteriormente volver a la superficie, lo que se conoce como reflectancia difusa, que contiene información sobre los coeficientes de absorción y scattering del tejido. La cantidad de luz reflejada se determina por las propiedades estructurales y químicas del tejido; de modo que cuando el tejido está dañado sufre un cambio en sus propiedades ópticas y que puede ser medido de manera no invasiva para mejorar el diagnóstico médico.

Cuando la luz penetra en un tejido sufre múltiples procesos de scattering y absorción mientras se propaga a través del tejido. Los tejidos biológicos son heterogéneos en su composición y presentan variaciones espaciales en sus propiedades ópticas.

En las células, los elementos más importantes que producen scattering son los orgánulos subcelulares, con tamaños menores de 100 nm hasta 6  $\mu\text{m}$ . Las propiedades del scattering de los tejidos de soporte compuestos de células y proteínas extracelulares (colágeno, elastina, etc.) son causadas por las inhomogeneidades en pequeña escala y las variaciones de estructura y forma a gran escala.

La penetración de la luz en los tejidos viene determinada por la absorción. Entre 700 y 1100 nm se encuentra la denominada *ventana terapéutica*, donde predomina el scattering frente a la absorción en los tejidos biológicos y la propagación de la luz se vuelve difusa. La absorción es función de la composición molecular. Las moléculas absorben un fotón cuando su energía es igual a la diferencia de energía entre dos estados internos de energía de la molécula, y la transición entre estados cumple las reglas de selección de la mecánica cuántica. Este aspecto es de vital importancia, ya que la absorción entre dos niveles de una molécula a una longitud de onda determinada está bien definido, y es único para cada molécula y la correspondiente longitud de onda, por lo que está huella espectral resulta de gran importancia en las técnicas de diagnóstico médico. Los componentes de un tejido que absorben la luz se denominan **cromóforos**, como por ejemplo la sangre y la melanina en el rango visible (VIS), las proteínas y aminoácidos en el ultravioleta (UV) y el agua en el infrarrojo (IR) [7].

### 3.1 Absorción

El proceso de absorción de luz es la transformación de la energía incidente en otro tipo de energía, p. ej. calor, fluorescencia, etc. Generalmente, un medio absorbente consiste en un conjunto de centros de absorción que son átomos, moléculas o partículas que absorben luz. La absorción se describe mediante la ley de Beer-Lambert [6]:

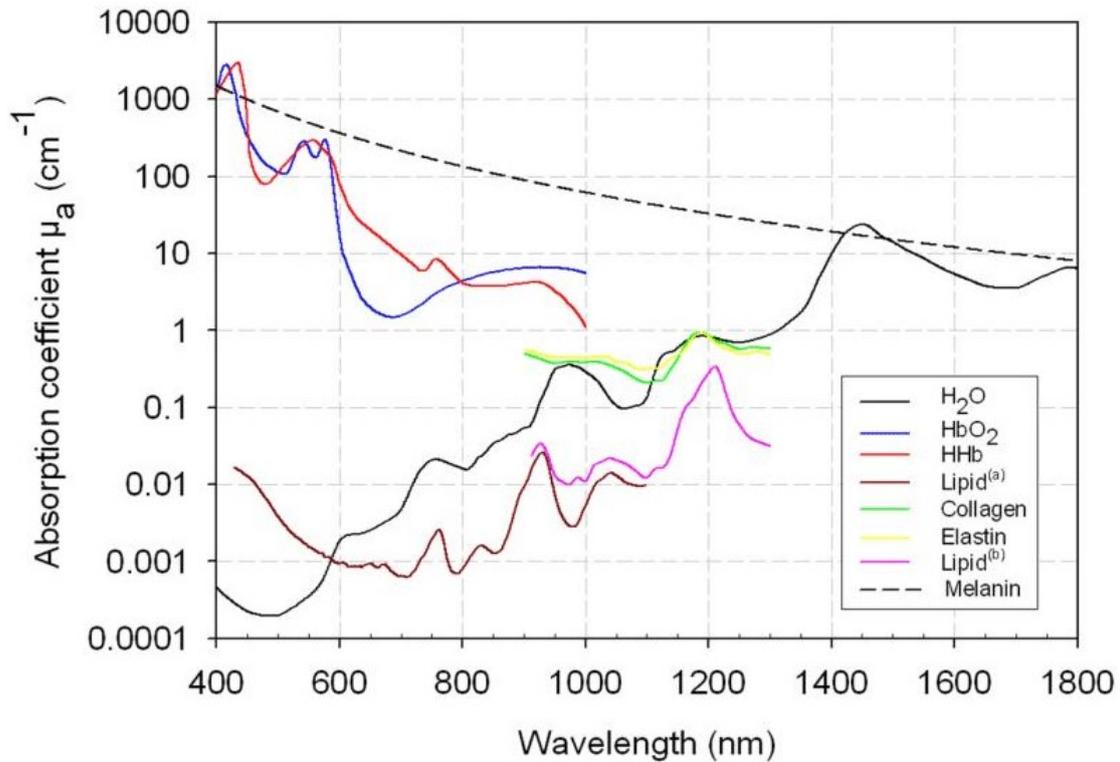
$$I(d) = I_0 \exp(-\mu_a d), \quad (3.1)$$

donde  $I(d)$  es la intensidad de la luz tras atravesar una distancia  $d$ ,  $I_0$  es la intensidad inicial y  $\mu_a$  es el coeficiente de absorción. El número de fotones absorbidos,  $dN$ , en un elemento diferencial,  $dx$ , viene dado por la siguiente expresión [6]:

$$\frac{dN}{dx} = -\rho_M \sigma_{abs} N = -\mu_a N, \quad (3.2)$$

donde  $\rho_M$  es el número de moléculas que absorben por unidad de volumen y  $\sigma_{abs}$  es la sección eficaz de absorción.

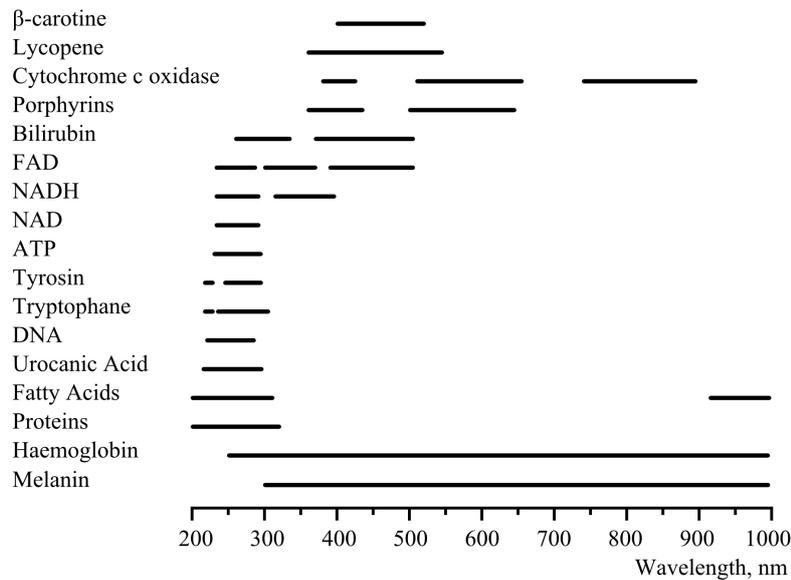
El espectro de absorción también se puede expresar en la dependencia del coeficiente de absorción,  $\mu_a$ , con la longitud de onda. En la Fig. 3.2 se muestra el espectro de absorción para el agua, la hemoglobina (oxigenada y desoxigenada), los lípidos, el colágeno, la elastina y la melanina. La denominada *ventana terapéutica* se encuentra entre 700 y 1100 nm, donde la absorción de los cromóforos es significativamente menor. En 1300 y 1600 nm hay dos bandas más, muy estrechas, donde la absorción también decae. El agua es el componente principal de los tejidos, por eso su coeficiente de absorción generalmente domina en el coeficiente de absorción total, especialmente en el rango IR.



**Figura 3.2:** Espectro de absorción, en función del coeficiente de absorción  $\mu_a$ , de los principales cromóforos de los tejidos biológicos en el rango VIS-NIR-SWIR [8].

La absorción es un mecanismo por el cual la luz puede interactuar con los tejidos para inducir efectos fototermales y fotoquímicos que desencadenan una serie de efectos biológicos. La absorción en el rango UV-VIS-NIR es debido a la excitación electrónica y vibracional de distintos cromóforos, cada uno con su espectro de absorción. Hay muchos cromóforos en los tejidos pero unos pocos predominan la absorción óptica. En la Fig. 3.3 se muestran los rangos espectrales de absorción de los principales cromóforos de la piel del cuerpo humano. Las proteínas de la epidermis contienen aminoácidos aromáticos triptófano y tirosina que tienen una banda de absorción entre 270 y 280 nm; el ácido urocánico y los ácidos nucleicos contribuyen a esa banda con un máximo entre 260 y 270 nm. La melanina de la epidermis tiene un importante papel limitando la penetración de la luz en la piel con una banda de absorción entre 300 y 1000 nm, con valores más altos de  $\mu_a$  en la región UV [6].

Lo mismo ocurre en los tejidos blandos en el rango IR, donde la absorción de la piel viene dada por la absorción del agua. La hemoglobina (oxigenada y desoxigenada) es el principal cromóforo de la dermis. La oxihemoglobina tiene el pico de absorción principal a 415 nm y dos picos secundarios a 542 y 577 nm. La deoxihemoglobina tiene el pico de absorción principal a 430 nm y un pico secundario a 555 nm.

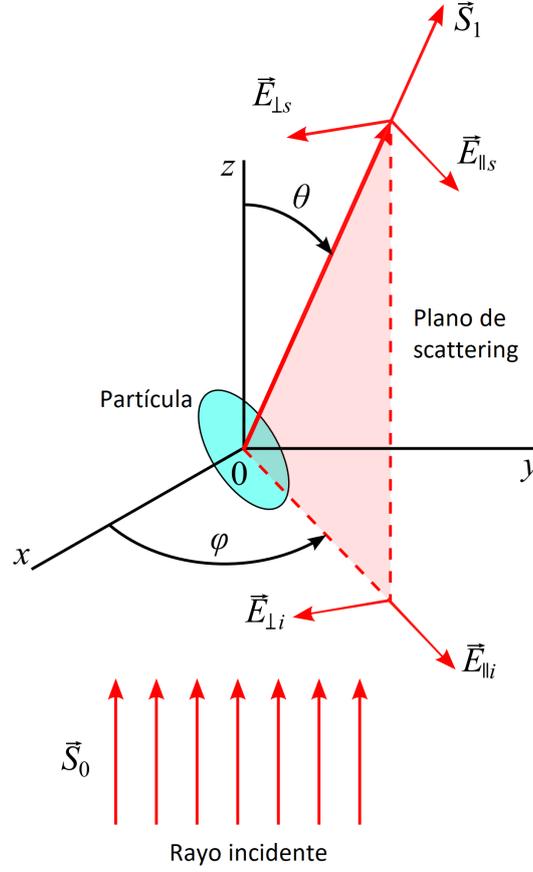


**Figura 3.3:** Rangos espectrales de absorción de los principales cromóforos de la piel del cuerpo humano y de otros cromóforos [6].

## 3.2 Scattering

Los tejidos no solo absorben sino que son medios inhomogéneos que incluyen células, orgánulos y distintos tipos de fibras y estructuras tubulares. Debido a la gran diversidad de estructuras y su complejidad, el desarrollo de un modelo que explique detalladamente la absorción y el scattering es el paso más difícil de cualquier estudio. Muchos tejidos tienen estructuras con un amplio rango de tamaños, desde los nm hasta los mm, y pueden ser representados como un sistema discreto de partículas que producen scattering. Estos sistemas, generalmente se consideran como un conjunto homogéneo de partículas esféricas con un índice de refracción mayor que el medio que las rodea, debido a que muchos componentes de las células o macromoléculas se pueden considerar con formas esféricas o elípticas. Para tejido conectivo compuesto por fibras, un sistema con cilindros largos es lo más apropiado para describir el scattering. Por otro lado, el índice de refracción de los elementos que forman los tejidos biológicos varía entre 1.3 y 1.6, dependiendo de su composición y la longitud de onda que se considere. Las dos teorías principales para describir el scattering de esos sistemas son las de Rayleigh y Mie. En particular, la teoría de Mie describe rigurosamente el scattering elástico de la luz por partículas esféricas.

Para describir el proceso del scattering se utilizan una serie de parámetros (ver Fig. 3.4). El ángulo de scattering se relaciona con el fotón esparcido por una partícula, tal que su trayectoria es desviada un ángulo  $\theta$  en el plano de scattering y un ángulo azimutal,  $\phi \in (0, 2\pi)$ , en el plano perpendicular. El plano de scattering se define como el plano que contiene la luz incidente, la partícula que produce scattering y el detector.



**Figura 3.4:** Geometría del scattering producido por una partícula en el origen de coordenadas. El rayo de luz incidente está polarizado en el eje Z. Se muestran dos componentes ortogonales del campo incidente, siendo estas la paralela,  $E_{\parallel i}$ , y perpendicular,  $E_{\perp i}$ , al plano de scattering, respectivamente.  $\theta$  y  $\phi$  son los ángulos de scattering en el plano de scattering y en el perpendicular, respectivamente. Un detector se coloca a una distancia  $r$  en el vector  $\vec{S}_1$  donde se muestran la componente paralela,  $E_{\parallel s}$ , y perpendicular,  $E_{\perp s}$  del scattering producido [6].

De manera similar a la absorción, la intensidad atenuada debido al scattering sigue una ley exponencial [6]:

$$I(d) = I_0 \exp(-\mu_s d), \quad (3.3)$$

donde  $I(d)$  es la intensidad de la luz tras atravesar una distancia  $d$ ,  $I_0$  es la intensidad inicial y  $\mu_s$  es el coeficiente de scattering. El número de fotones que sufren scattering,  $dN$ , en un elemento diferencial,  $dx$ , viene dado por la siguiente expresión [6]:

$$\frac{dN}{dx} = -\rho_p \sigma_{sca} N = -\mu_s N, \quad (3.4)$$

donde  $\rho_p$  es el número de moléculas que producen scattering por unidad de volumen y  $\sigma_{sca}$  es la sección eficaz de scattering.

La ecuación 3.3 es válida cuando el scattering no es demasiado fuerte y solo se detecta la parte que no ha sufrido scattering de la luz transmitida (también denominados fotones balísticos). Esta situación tiene sentido en tejido con capas finas donde la absorción tiene mayor importancia y no hay múltiples eventos de scattering. En ese caso, un rayo de luz es atenuado en un tejido de grosor,  $d$ , según la ley de Bouguer–Beer–Lambert:

$$I(d) = (1 - R_F)I_0 \exp(-\mu_t d), \quad (3.5)$$

donde  $R_F$  es el coeficiente de Fresnel en incidencia normal,  $R_F = \left(\frac{m-1}{m+1}\right)^2$ ,  $m$  es el índice de refracción relativo entre el tejido y el medio desde el cual incide la luz que lo rodea, y  $\mu_t = \mu_s + \mu_a$  es el coeficiente de atenuación.

La atenuación es la pérdida de energía por unidad de área a medida que la distancia respecto a la fuente aumenta, debido a la absorción y al scattering. En medios turbios, y cuando no se producen múltiples eventos de scattering, el albedo,  $\Lambda = \mu_s/\mu_t$  es un parámetro que sirve para predecir la propagación de la luz en un tejido. Si  $\Lambda = 0$  el medio es totalmente absorbente y si  $\Lambda = 1$  el medio solo produce scattering.

Otro parámetro de gran importancia para caracterizar el scattering es la función de fase,  $p(\theta, \phi)$ , que describe las propiedades de scattering de un medio y la función de densidad de probabilidad de que un fotón que viaja en una dirección sufra un proceso de scattering y viaje en una nueva dirección. A partir de la función de fase se define el factor de anisotropía,  $g$ , que representa la dirección dominante de la radiación que ha sufrido un proceso de scattering [6]:

$$g = \langle \cos \theta \rangle = \int_0^\pi p(\theta) \cos(\theta) 2\pi \sin(\theta) d\theta. \quad (3.6)$$

El valor de  $g$  varía entre -1 y 1. Si  $g = 0$  se corresponde con scattering de Rayleigh (isotrópico), si  $g = -1$  se corresponde con scattering total hacia atrás y si  $g = 1$  se corresponde con scattering total hacia delante (scattering de Mie producido por partículas grandes).

### 3.2.1 Scattering de Rayleigh

Si una partícula es pequeña comparada con la longitud de onda de la radiación incidente, el proceso de scattering puede ser descrito como un dipolo. La teoría de Rayleigh es aplicable cuando  $m(2\pi a/\lambda) \ll 1$ , donde  $m$  es el índice de refracción relativo,  $(2\pi a/\lambda)$  es el parámetro de tamaño,  $a$  es el radio de la partícula y  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación incidente. En esta teoría, la intensidad de luz que sufre scattering decrece como  $\lambda^4$  y crece como  $a^6$ . La dependencia angular de la luz que ha sufrido scattering por un conjunto de  $N$  partículas distribuidas aleatoriamente, con una distancia promedio entre ellas mayor que la longitud de onda, con luz incidente no polarizada y la posición del detector a una distancia  $r$ , sigue la ley de Rayleigh [6]:

$$I(r, \theta) = (2\pi)^4 \frac{a^6}{\lambda^4 r^2} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right)^2 N \frac{1 + \cos^2(\theta)}{2} I_0, \quad (3.7)$$

donde  $m = n_s/n_0$  es el índice de refracción relativo entre las partículas y el medio que las rodea.

Para el caso de radiación en el rango NIR, tejido biológico típico ( $m = 1.05 - 1.10$ ) y radios máximos de las partículas sobre 12-14 nm la teoría de Rayleigh es válida.

### 3.2.2 Scattering de Mie

La teoría de Mie es una solución exacta de las ecuaciones de Maxwell para una esfera homogénea, y describe el scattering cuando el tamaño de las partículas es mayor que el de la longitud de onda de la radiación incidente. A partir de la teoría de Mie se obtiene la sección eficaz de scattering [6]:

$$\sigma_{sca} = \frac{\lambda^2}{2\pi n_0^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2), \quad (3.8)$$

la eficiencia de scattering (sección eficaz normalizada a la sección geométrica) [6]:

$$Q_{sca} = \sigma_{sca}/\pi a^2, \quad (3.9)$$

y la función de fase [6]:

$$p(\theta) = \frac{\lambda^2}{2\pi n_0^2 \sigma_{sca}} (|S_1|^2 + |S_2|^2), \quad (3.10)$$

donde  $\lambda$  es la longitud de onda,  $n_0$  es el índice de refracción del medio,  $a_n$  y  $b_n$  son los coeficientes de Mie, y  $S_1$  y  $S_2$  son unas funciones auxiliares que dependen de los coeficientes de Mie y de los polinomios de Legendre.

En esta teoría, la dependencia angular de la luz que ha sufrido scattering por un conjunto de  $N$  partículas distribuidas aleatoriamente, con una distancia promedio entre ellas mayor que la longitud de onda, con luz incidente no polarizada y la posición del detector a una distancia  $r$  es [6]:

$$I(\theta) = p(\theta)NI_0. \quad (3.11)$$

La teoría de Mie predice que el scattering producido por partículas esféricas es mayor si el radio de la partícula y la longitud de onda son del mismo orden de magnitud. El coeficiente de scattering,  $\mu_s$ , aumenta fuertemente con el aumento del índice de refracción relativo. Por el contrario, cuando el índice de refracción de la partícula y del medio son similares,  $\mu_s$  tiende a cero, y domina la absorción. Sin embargo, debido a la baja absorción de los tejidos en el rango NIR, las condiciones de índice de refracción debido a perfusión de agentes de inmersión endógenos o exógenos pueden tener una gran importancia en las propiedades ópticas de los tejidos.

En el rango VIS-NIR, se cumple que  $\lambda \ll 2a$ , y la teoría de Mie se aproxima por la aproximación de Van de Hulst (aplicable para tejidos blandos con  $m - 1 \ll 1$ ) [6]:

$$\sigma_{sca}(\lambda, a) = 2\pi a^2 \left( 1 - \frac{2 \sin \delta}{\delta} + \left( \frac{2 \sin \delta}{\delta} \right)^2 \right), \quad (3.12)$$

donde  $\delta = 4\pi a(m-1)/\lambda$ . En este caso la sección eficaz varía periódicamente con el inverso de la longitud de onda, dando lugar a una componente periódica en la reflectancia del tejido.

Puesto que la frecuencia de variación es proporcional al tamaño de la partícula, la distribución de tamaños de las células se puede obtener a partir de la transformada de Fourier de la componente periódica.

### 3.3 Propiedades ópticas de la aorta

En esta sección se presentan las propiedades ópticas de la aorta, tomadas de un estudio recopilatorio realizado por **Steven L. Jacques**, un pionero en el estudio de la biomedicina. En su página web, <https://omlc.org/spectra/aorta/>, se recogen datos sobre la absorción y el scattering de la aorta, tanto de muestras humanas como de animales (cerdos, perros), provenientes de diferentes autores. El hecho de que las muestras provengan de diferentes especies no es un factor crítico, ya que la técnica de medida empleada y la preparación de la muestra resulta un factor crítico para las diferencias entre los datos.

Los dos métodos principales utilizados son la esfera integradora y el efecto foto-acústico. En el primer caso se mide la transmitancia,  $T$ , y la reflectancia,  $R$ , y a partir de esas medidas se obtienen los coeficientes de absorción,  $\mu_a$ , y de scattering reducido,  $\mu'_s$ . Generalmente se emplean relaciones no lineales, como la teoría de difusión o teoría de Monte Carlo. En el segundo caso, se mide la distribución de presión creada por la deposición de energía de un láser. Un pequeño aumento de temperatura provoca una ligera expansión termoelástica, que genera fuertes ondas de presión que son detectadas por un transductor piezoeléctrico. Finalmente, se obtienen las medidas de los coeficientes.

El primer método, la esfera integradora, ha sido utilizado por los siguientes autores: W.F. Cheong [9], M. Essenpreis [10], M. Keijzer [11], A.A. Oraevsky [12], G. Yoon [13] y J.M.C van Gemert [14]. El segundo método, el efecto foto-acústico, ha sido utilizado únicamente por F.W. Cross [15] y A.A. Oraevsky [12].

En la Fig. 3.5 se observa el coeficiente de absorción de la aorta en función de la longitud de onda y de los distintos autores. Se puede comprobar que la absorción aumenta hacia longitudes de onda más cortas debido a la absorción de proteínas, y hacia longitudes de onda más largas debido a la absorción de agua. En el rango de 400-600 nm, la absorción por la hemoglobina es muy fuerte y la tinción residual de hemoglobina de las paredes de los vasos es una fuerte influencia. En la región central, entre 600-1300 nm, la absorción del tejido es más baja.

Los datos provenientes de la esfera integradora pueden producir valores del coeficiente de absorción artificialmente altos, debido a las pérdidas de borde en los puertos de la esfera, y los datos de Keijzer y Oraevsky (a) son sospechosos en esta región. Los valores bajos de van Gemert y Yoon a 633 nm y de van Gemert, Essenpreis y Cheong a 1064 nm parecen más acertados. Además, señalar que Keijzer ha realizado medidas para las tres capas de la aorta, de manera individual.

En la Fig. 3.6 se observa el coeficiente de scattering reducido de la aorta en función de la longitud de onda y de los distintos autores. Se puede comprobar cómo el scattering decae a medida que la longitud de onda aumenta. El comportamiento a longitudes de onda más cortas, por debajo de 600 nm, probablemente esté dominado por el scattering debido a la periodicidad y el tamaño de las fluctuaciones del índice de refracción de las fibras de colágeno de menor tamaño (unos cientos de nm).

---

El comportamiento a longitudes de onda más largas está cada vez más dominado por el scattering de las fibras de colágeno más grandes, con forma cilíndrica y tamaño 2-3  $\mu\text{m}$ . Otros componentes pueden afectar al scattering, pero el colágeno es el componente dominante.

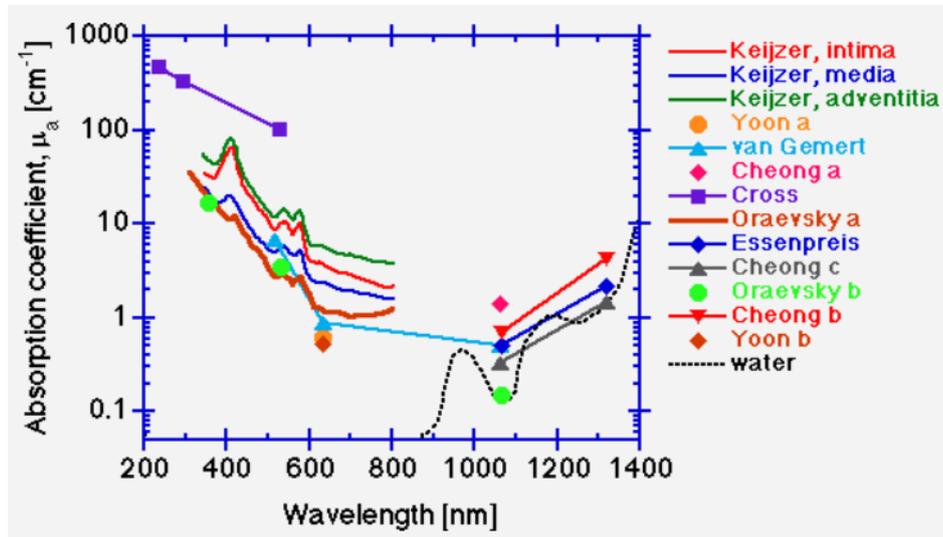


Figura 3.5: Coeficiente de absorción en función de la longitud de onda de la aorta. Fuente: <https://omlc.org/spectra/aorta/>

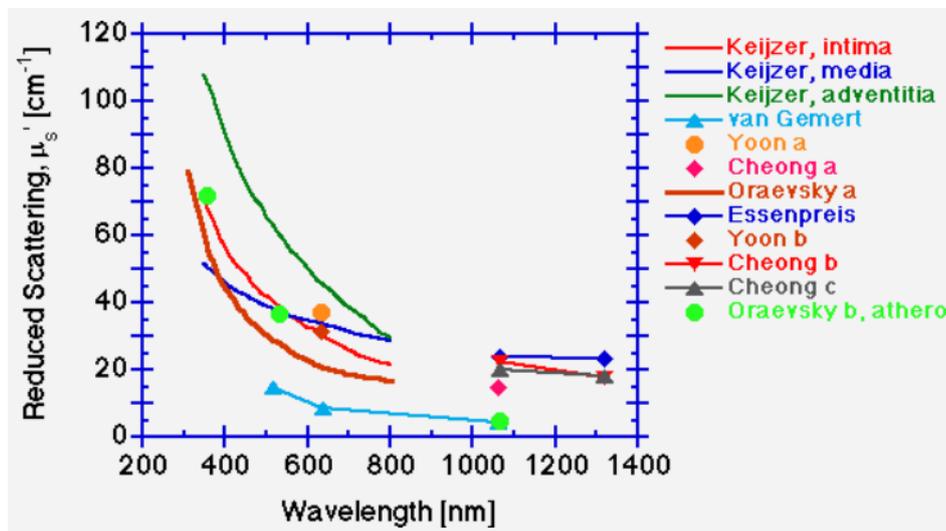


Figura 3.6: Coeficiente de scattering reducido en función de la longitud de onda de la aorta. Fuente: <https://omlc.org/spectra/aorta/>

## 4 Imagen médica

La aplicación de distintas técnicas de imagen a la medicina ha permitido mejorar el diagnóstico de diversas patologías que, de otra forma, no resultaría posible. Desde los rayos X hasta las tecnologías más modernas, cada técnica ha permitido estudiar una parte del cuerpo, ya sean los huesos, músculos, o las funciones metabólicas y cerebrales en los últimos años. En este capítulo se exponen las principales técnicas de imagen médica, desde las no ópticas hasta las ópticas.

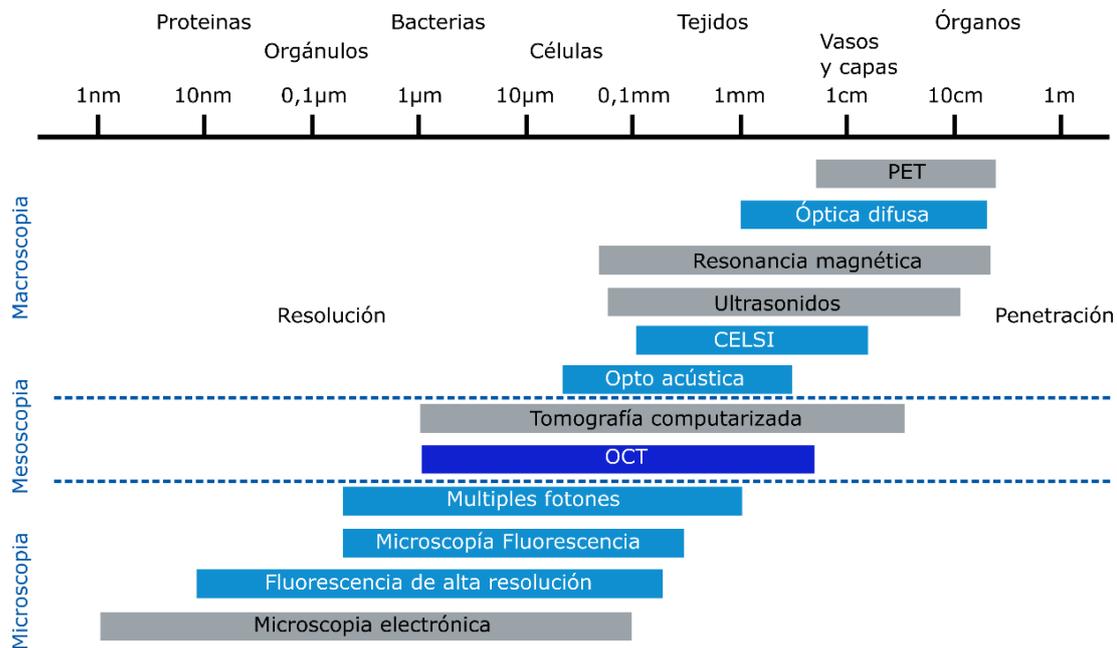
### 4.1 Técnicas de imagen médica

Las técnicas de imagen médica han experimentado una revolución durante la última década debido al desarrollo de dispositivos más rápidos, precisos y menos invasivos. La imagen médica representa una herramienta fundamental hoy en día a la hora de entender distintos aspectos del cuerpo humano, como las funciones cerebrales. El concepto básico es una fuente de energía que interacciona con el cuerpo humano (absorción, scattering u otros fenómenos) y crea una señal en función de la composición de los tejidos, que se recoge en unos detectores compatibles. Mediante algoritmos matemáticos esa señal se reconstruye y se muestra en forma de imagen [16].

Dependiendo de la fuente de energía utilizada, se consigue una resolución y una distancia de penetración máxima. Las principales técnicas de imagen son: radiografía de rayos X, tomografía computarizada (TC) de rayos X, resonancia magnética, ultrasonidos, microscopía, fluorescencia, tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) e imagen óptica.

Dos de los parámetros más importantes son la distancia de penetración y la resolución que ofrece cada técnica, ya que son las principales limitaciones a la hora del estudio de las diversas partes y funciones del cuerpo humano [7]. En la Figura 4.1 se muestra una comparativa de resolución y penetración de diferentes técnicas de imagen médica [17]. 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.

La principal limitación que se puede apreciar es que las técnicas a nivel macroscópico tienen la mayor penetración, pero a su vez tienen las menores resoluciones. Por otro lado, las técnicas a nivel microscópico tienen la mayor resolución, pero distancias de penetración muy bajas. Por lo tanto, existe un compromiso entre resolución y distancia de penetración, debiendo elegir la técnica más favorable para el sistema que se quiera estudiar.



**Figura 4.1:** 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 [17].

#### 4.1.1 Técnicas no ópticas

Dentro de las técnicas no ópticas de imagen médica, la tomografía por emisión de positrones (PET) (y su variante SPECT) ofrecen las mayores distancias de penetración, siendo dos herramientas fundamentales para estudiar las funciones cerebrales, la bioquímica y la fisiología (p. ej. metabolismo glucosa) del cuerpo humano. Con menor distancia de penetración pero resoluciones de décimas de milímetros se encuentran las resonancia magnética y los ultrasonidos. La primera utiliza la interacción de fuertes campos electromagnéticos con los átomos de hidrógeno del cuerpo, permitiendo estudiar el interior del cuerpo humano a nivel de órganos. La segunda utiliza la interacción de los ultrasonidos con los tejidos internos para estudiar las partes más sensibles (embarazos, abdomen, vejiga, próstata, etc.) [16].

Los rayos X y su variante la tomografía computarizada (TC), tienen grandes distancias de penetración y mejoran la resolución hasta los micrómetros. El mayor inconveniente es la radiación ionizante y el uso limitado de estas técnicas.

Cuando es más importante una mayor resolución que la distancia de penetración, la microscopía electrónica consigue resoluciones atómicas, sin embargo, la aplicación a tejidos conlleva preparaciones laboriosas.

### 4.1.2 Técnicas ópticas

Las técnicas ópticas se encuentran en un punto intermedio ya que no presentan altas distancias de penetración y en algunos casos la resolución es limitada, pero por otro lado tienen mayores ventajas potenciales, siendo técnicas que no presentan ningún riesgo para la salud, además, el objetivo es que sean mínimamente invasivas. El dominio óptico permite estudiar cambios estructurales y metabólicos, así como realizar un análisis inmunológico. El espectro de técnicas ópticas para imagen médica es amplio, algunas de las principales técnicas son: espectroscopía por reflectancia difusa (DRS), espectroscopía por scattering de luz (LSS), tomografía de óptica difusa (DOT), fluorescencia incluyendo sus variantes de microscopía, Raman incluyendo sus variantes SERS (Surface-enhanced Raman spectroscopy) y CARS (Coherent anti-Stokes Raman spectroscopy), tomografía de coherencia óptica (OCT) e imagen hiperspectral (HSI).

El potencial de la radiación infrarroja cercana (NIR por sus siglas en inglés) se utiliza desde que se descubrió que la transmitancia óptica se podía utilizar para estudiar el grado de oxigenación de hemoglobina, entre otros, permitiendo monitorizar la oxigenación cerebral. Esto llevó al desarrollo de espectroscopía NIR (NIRS), un método no invasivo que permite monitorizar las funciones cerebrales. NIRS mide la transmitancia óptica de un tejido cerebral en varias longitudes de onda y relaciona la atenuación con las concentraciones de oxihemoglobina (HbO<sub>2</sub>) y deoxihemoglobina (Hb), que luego proporcionan una medida de la saturación de oxígeno cerebral. La DOT surge como una mejora de NIRS frente a la limitación del scattering en los tejidos, haciendo uso de algoritmos específicos que permitan contrarrestar el scattering. Esta técnica tiene una penetración de varios milímetros o centímetros, pero la resolución es baja debido al scattering. Esta técnica resulta vital hoy en día para estudiar la actividad cerebral, especialmente en bebés debido a que es mínimamente invasiva [18].

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica interferométrica que utiliza luz de baja coherencia, generalmente en el rango NIR. Debido al alto scattering, la penetración máxima es de unos pocos milímetros (3 mm aprox.). Dependiendo de la tecnología que utilice como fuente de luz puede alcanzar una resolución típica de entre 1 y 15  $\mu\text{m}$ , por lo que se encuentra en un compromiso entre alta resolución y alta penetración. Esta técnica es no invasiva y su uso está muy extendido en oftalmología, permitiendo estudiar incluso las distintas capas de la retina. Sin embargo, se sigue estudiando su uso en el diagnóstico médico, por ejemplo en patologías cardiovasculares, ya que proporciona una valiosa información, siendo una técnica no invasiva y rápida [19].

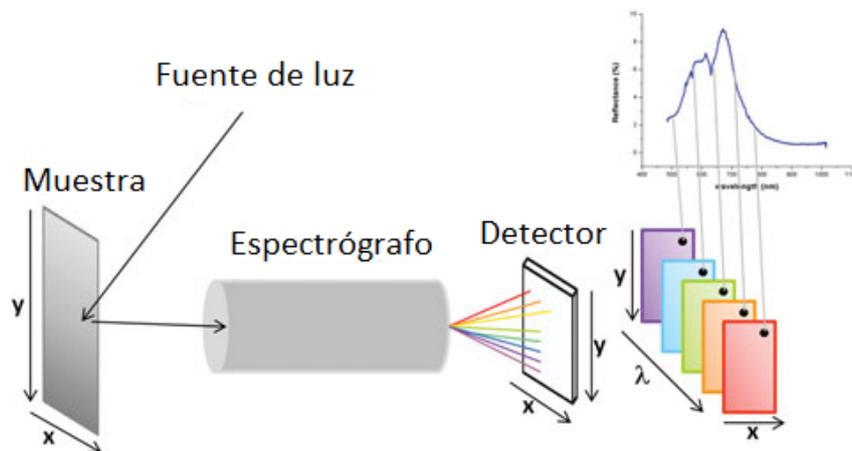
#### 4.1.2.1 Imagen hiperspectral (HSI)

Como una modalidad de imagen emergente para aplicaciones médicas, HSI tiene un gran potencial para el diagnóstico no invasivo de enfermedades y como guía quirúrgica. La luz que interacciona con los distintos tejidos sufre múltiples procesos de scattering debido a las inhomogeneidades de las estructuras biológicas, y también sufre absorción a medida que se propaga, debido principalmente a la melanina, la hemoglobina y el agua. En general, se asume que ante la presencia de una enfermedad, las propiedades del scattering, la absorción y la fluorescencia en el tejido van a verse afectadas; por lo tanto, la luz que ha interactuado con el tejido y ha sido recogida por un sistema HSI tiene información importante sobre la evolución de la enfermedad.

---

La imagen hiperespectral combina las técnicas de espectroscopía con las ventajas de la imagen con corrección espacial. Consiste en la adquisición de una serie de imágenes en muchas bandas espectrales estrechas adyacentes, y la reconstrucción del espectro de reflectancia en cada píxel de la imagen. El conjunto de imágenes se llama hipercubo y tiene tres dimensiones, dos de ellas son espaciales y la tercera dimensión, la espectral, indica la longitud de onda de esa banda. El montaje experimental se denomina *sistema de imagen hiperespectral* y consta de tres elementos principales, la fuente de luz, un separador espectral (prisma, red de difracción, rueda de filtros, etc.) y un detector (generalmente una CCD).

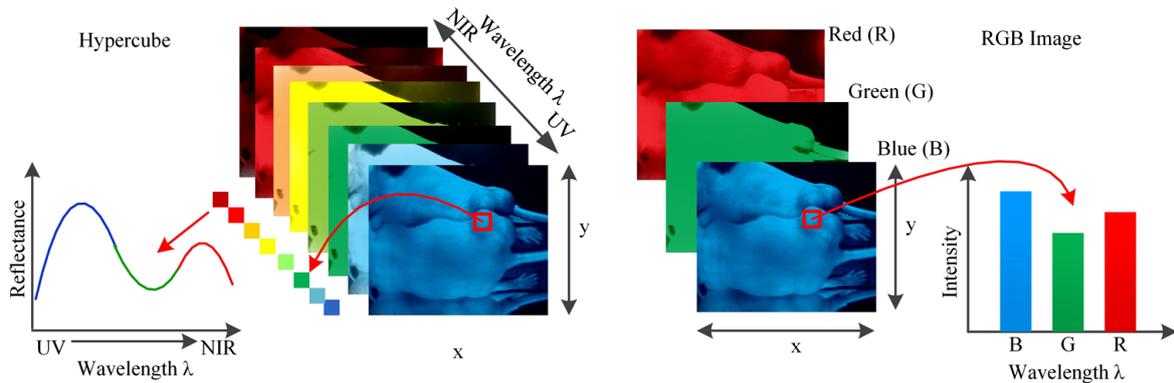
En la Fig. 4.2 se muestra un esquema del sistema. La luz sufre múltiples procesos (scattering + absorción) en la muestra a estudiar y la luz reflejada difusa pasa a través del separador espectral, obteniendo así cientos de bandas espectrales que finalmente son detectadas, y se obtiene como resultado el espectro de reflectancia difusa.



**Figura 4.2:** Esquema de un sistema de imagen hiperespectral [20].

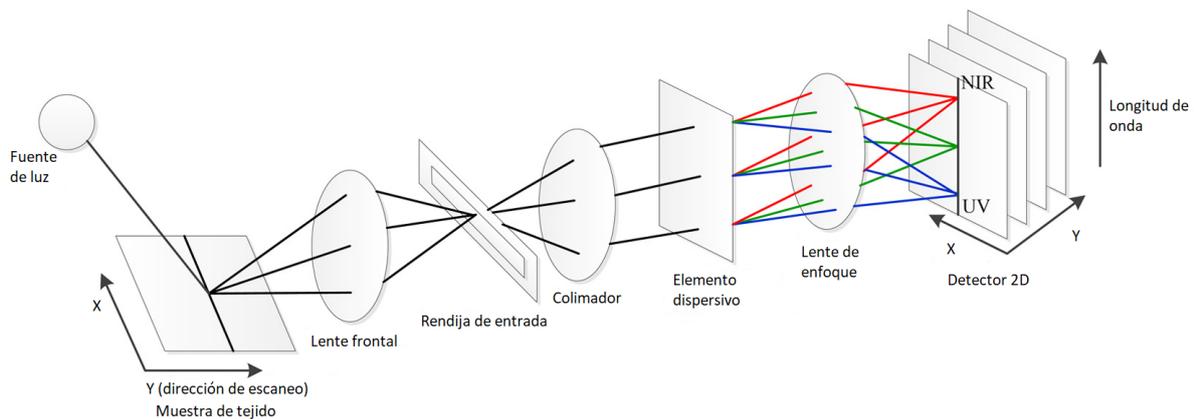
En la Fig. 4.3 se muestra una comparación entre un hipercubo y una imagen RGB. Una imagen RGB solo tiene tres bandas espectrales por lo que proporciona mucha menos información si por ejemplo se desea realizar un diagnóstico médico. El hipercubo tiene cientos de bandas espectrales desde el ultravioleta (UV) hasta el infrarrojo cercano (NIR), pudiendo obtener así un espectro de reflectancia mucho más completo.

Un sistema HSI se compone principalmente de una fuente de luz, un elemento dispersivo (prisma, red de difracción, etc.) y un detector de área. Para ilustrar el mecanismo de un sistema HSI, en la Fig. 4.4 se muestra un esquema de un sistema HSI por barrido. La fuente de luz ilumina la muestra del tejido y la luz se proyecta a través de una lente y una rendija de entrada (que controla la cantidad de luz que entra en el espectrógrafo), que solo permite pasar una estrecha línea de luz. Después de colimar la luz, un elemento dispersivo divide la luz en una serie de finas bandas espectrales, que se focalizan sobre el detector; de manera que para cada píxel a lo largo de la línea de medida, se proyecta su espectro sobre una columna del detector. Por lo tanto, cada línea de la muestra se proyecta en una imagen 2D del detector, con una dimensión espacial y otra espectral. Finalmente, escaneando toda la muestra se construye el hipercubo, con dos dimensiones espaciales y una espectral.



**Figura 4.3:** Comparación entre un hipercono y una imagen RGB [7].

Puesto que HSI cubre la región UV - VIS - NIR del espectro electromagnético con cientos de bandas espectrales, tiene el potencial de captar las sutiles diferencias espectrales relacionadas con diversas patologías, mientras que un sistema multispectral (MSI) o una imagen RGB puede perder esa información.



**Figura 4.4:** Esquema de un sistema de imagen hiperespectral con barrido en escoba (conocido en inglés como *pushbroom*) [7].

La clasificación fundamental de sistemas HSI se basa en el modo de adquisición, es decir, como la información espectral y espacial es adquirida. Los sistemas convencionales tienen dos métodos: el escaneo espacial y el espectral. El escaneo espacial genera imágenes hiperespectrales tomando el espectro completo de cada píxel en el caso de los sistemas *whiskbroom* (escaneo de punto) o de una línea completa en el caso de los sistemas *pushbroom* (escaneo de línea), y posteriormente escaneando la muestra completa. En los métodos de escaneo espectral, se captura toda la escena con conjuntos de detectores 2D en una única exposición y luego recorriendo las longitudes de onda se completan los datos del cubo. Los enfoques de escaneo espectral generalmente almacenan las imágenes adquiriendo una banda cada vez, lo que compromete el rendimiento entre información espacial y espectral.

Los escaneos espaciales tipo *whiskbroom* y *pushbroom* no proporcionan una visualización en vivo de las imágenes, mientras que el escaneo espectral si tiene esa ventaja, lo que hace este método ideal para aplicaciones estacionarias, como la utilización de muestras bajo un microscopio hiperespectral.

Otro aspecto fundamental de un sistema HSI es el rango espectral que abarca, así como su resolución espectral. Los sistemas más comunes comprenden desde la región VIS (400 - 700 nm) hasta la región NIR (780 - 2500 nm). En el rango NIR tienen lugar las bandas vibracionales así como transiciones electrónicas de baja energía, mientras que en el rango MIR (2500 - 25000 nm) los átomos dentro de las moléculas absorben determinadas frecuencias dentro de las bandas vibracionales y rotacionales. El espectro de absorción en el rango MIR tiene información sobre la genómica, el proteoma, y el metabolismo de las células, sin embargo, el agua tiene una importante banda de absorción, por lo que enmascara la absorción de las distintas bandas vibracionales. En el rango VIS la luz únicamente penetra 1 - 2 mm en el tejido, por lo que para el guiado quirúrgico es preferible el uso de radiación electromagnética en el rango NIR, debido a su mayor distancia de penetración.

La resolución espectral de un sistema HSI se refiere al límite absoluto para separar dos características espectrales monocromáticas adyacentes emitidas por un punto en la imagen. La resolución espectral mide la característica espectral más fina que puede ser resuelta en un sistema HSI. Una alta resolución espectral permite una reconstrucción precisa del verdadero perfil espectral de todos los puntos en la muestra analizada.

**Aplicaciones** Las aplicaciones de HSI no solo se limitan al diagnóstico médico también es ampliamente utilizado en agricultura [21], mineralogía [22], vigilancia e identificación de objetivos [23], astronomía [24], imagen química [25] y estudios ambientales [26].

En lo que a diagnóstico médico se refiere, esta técnica es no invasiva y su potencial reside en que midiendo la reflexión y absorción de la luz a diferentes longitudes de onda, se puede obtener un mapa espacial con información sobre la composición y distribución de los tejidos. HSI es capaz de proporcionar imágenes casi en tiempo real de biomarcadores como la hemoglobina, y proporcionar información sobre la fisiopatología basada en las características espectrales de diferentes tejidos. HSI es cada vez más utilizada en el diagnóstico médico y en la cirugía guiada por imagen. Por ejemplo, ha sido utilizada en el diagnóstico de choque hemorrágico [27], en la evaluación de la enfermedad arterial periférica [28], en la detección temprana de caries [29], en una rápida caracterización de los tipos de piedras en el riñón [30], en la detección de trastornos de laringe [31], entre otras aplicaciones. Las principales aplicaciones médicas de HSI se pueden dividir en cáncer, enfermedades cardíacas, enfermedades de la retina, pie diabético, patologías de tejidos y cirugía guiada por imagen.

En la detección de los distintos tipos de cánceres mediante imagen óptica, el factor determinante es que cambios biomecánicos y morfológicos asociados con la enfermedad, alteran las propiedades de absorción, scattering y fluorescencia; por lo tanto, las propiedades ópticas de los tejidos pueden proporcionar información valiosa para el diagnóstico. Por ejemplo, la absorción puede revelar angiogénesis y una mayor actividad metabólica mediante la cuantificación de la hemoglobina y la saturación de oxígeno.

---

Kortum et al. [32] utilizaron la espectroscopía óptica para detectar neoplasia y reportaron que: (1) una mayor actividad metabólica afecta a los fluoróforos de las mitocondrias y cambia las propiedades fluorescentes en tejido precanceroso y (2) tanto los espectros de fluorescencia como de reflectancia contienen información complementaria de gran utilidad para la detección temprana.

A diferencia de la espectroscopía, la cual mide los espectros punto por punto, HSI es capaz de tomar imágenes completas de los tejidos, lo que tiene un gran potencial en el diagnóstico de distintos tipos de cáncer en el cérvix, pecho, colon, gastrointestinal, piel, ovarios, carcinoma urotelial, próstata, esófago, tráquea, tejido oral, ganglios linfáticos y cerebro.

La manera de proceder en los estudios de cáncer mediante HSI es la siguiente: (1) reconocimiento de alteraciones en biomarcadores del proteoma y el genoma en células tumorales individuales *in vitro*, (2) análisis de propiedades morfológicas y estructurales de especímenes histológicos de cáncer para clasificar los distintos grados de cáncer, (3) examinar la superficie del tejido para identificar lesiones precancerosas y malignas *in vivo* y (4) medición del volumen de sangre del tejido así como la oxigenación para cuantificar la angiogénesis del tumor y su metabolismo.

Las enfermedades de corazón, por otro lado, siguen siendo una de las principales causas de muerte tanto en hombres como en mujeres en los Estados Unidos. Cada año, se estima que una de cada cuatro muertes es debida a alguna enfermedad del corazón. HSI ha explorado patologías cardiovasculares tanto *in vivo* (estudios en animales y humanos) como *in vitro*.

La enfermedad arterial periférica (PAD por sus siglas en inglés) implica la oclusión aterosclerótica de la circulación arterial hasta las extremidades. Esto puede provocar fuertes dolores, úlceras en las extremidades e incluso amputaciones de miembros. Un diagnóstico efectivo es necesario para la detección temprana, sin embargo, las técnicas tradicionales (índice tobillo - brazo, análisis Doppler, presión segmentaria del miembro, etc.) no tienen una alta especificidad y sensibilidad. HSI tiene la capacidad de medir de manera no invasiva las concentraciones de oxihemoglobina ( $\text{HbO}_2$ ) y deoxihemoglobina (Hb) para crear mapas de oxigenación. Chin et al. [33] mostraron la utilidad de HSI para detectar diferencias en los niveles de oxigenación en pacientes con y sin PAD, mostrando también la utilidad en el diagnóstico y evaluación de pacientes con PAD.

La arteriopatía coronaria es también una de las principales causas de muerte a lo largo del mundo. Surge de la aterosclerosis, a través de una lenta progresión de la enfermedad y estrechamiento de las arterias. Un conocimiento de las propiedades de la lesión y de la pared de los vasos adyacentes es necesario para el diagnóstico de la aterosclerosis y para la determinación del momento correcto de intervención y el tratamiento. El método tradicional de diagnóstico es la angiografía, la cual está limitada a la detección de placas que producen estenosis (estrechamiento de los espacios dentro de la columna vertebral). Las espectroscopías de reflectancia y fluorescencia se han utilizado como herramientas de diagnóstico, pudiendo distinguir placa fibrosa de pared arterial sana, identificando regiones ateroscleróticas en arterias y células espumosas superficiales en placas coronarias propensas a la erosión *in vivo*. Sin embargo, se ha observado que la mayoría de las lesiones avanzadas tienen una región central rodeada por un borde exterior de la placa, que se considera un punto débil en lesiones vulnerables. Mediante la espectroscopía convencional es difícil clasificar la placa debido a su variación espacial, aunque HSI tiene el potencial de proporcionar información útil en grandes áreas del tejido píxel por píxel.

---

Larsen et al. [34] tomaron datos de reflectancia y fluorescencia hiperespectral de muestras de aorta extirpadas *in vitro*, utilizando iluminación blanca y UV. Las características de las placas, como los lípidos y la calcificación, se pueden identificar desde las imágenes hiperespectrales de reflectancia utilizando la fuente de luz blanca o de fluorescencia con la fuente UV. Se demostró que HSI identifica la complejidad y la gran heterogeneidad de las placas en comparación con técnicas de histología.

Por otra parte, la delicada naturaleza del ojo hace imposible la toma de biopsias invasivas o el acceso a la retina. El actual diagnóstico en enfermedades de la retina depende fuertemente de técnicas ópticas. En las últimas décadas se ha utilizado HSI para monitorear cambios en los mapas de oxigenación de la retina. Johnson et al. [35] desarrollaron un sistema HSI para realizar mapas funcionales de la retina humana. Las firmas espectrales de hemoglobina proporcionaron mapas de oxigenación cualitativos y cuantitativos, para controlar la isquemia retiniana desde cualquier enfermedad sistémica, como diabetes, o de oclusiones vasculares y arteriales de la retina, que son las principales causas de ceguera intratable.

La degeneración macular relacionada con la edad es una causa importante de ceguera en los ancianos, y la prevalencia de la enfermedad aumenta exponencialmente con cada década después de los 50 años. La proteína celular citocromo-c ha sido identificada como una señalización molecular clave en los procesos de degeneración y apoptosis. Schweizer et al. [36] desarrollaron un sistema HSI, cuyos datos proporcionan información sobre el estado oxidativo del citocromo-c durante el estrés oxidativo, para la detección de la degeneración macular.

Otra de las principales aplicaciones de HSI es la guía mediante imagen durante la cirugía, ya que permite acceder al nivel celular y a nivel de tejido, lo que a simple vista no sería posible. HSI puede ayudar a los cirujanos a visualizar el lecho quirúrgico debajo de la sangre, lo que puede resultar de gran ayuda en microcirugías. También puede ser útil en la detección residual de tumores. La cirugía sigue siendo la base del tratamiento del cáncer, con el objetivo central de maximizar la extirpación del tumor sin dañar el tejido sano adyacente. Sin embargo, el tejido tumoral en muchos casos es indistinguible del tejido sano, lo que conduce a las altas tasas de mortalidad por tumores recurrentes. HSI puede en casi tiempo real detectar las diferencias espectrales de los tejidos sanos y tumorales, ayudando en su extirpación.

Por otro lado, HSI puede monitorizar los mapas de saturación de oxígeno de los tejidos durante la cirugía. La oxigenación del tejido es un indicador positivo de tejido viable, que de otro modo podría ser eliminado cuando se extirpa el tumor con poca orientación. Finalmente, HSI podría permitir la visualización de la anatomía de vasculaturas y órganos durante la cirugía. HSI tiene la capacidad de proporcionar imágenes en tiempo real, que permite al cirujano realizar o confirmar el diagnóstico y evaluar la terapia quirúrgica de forma continua mientras la intervención.

En general, HSI se ha utilizado en cirugías como mastectomía, colecistectomía, nefrectomía, y en cirugías renal, abdominal e intestinal.

### 4.1.3 Técnicas híbridas

Además de distinguir técnicas ópticas y no ópticas, hay otras técnicas de imagen médica que combinan ambas características como son el fenómeno optoacústico y la técnica CELSI (del inglés *Cherenkov-Excited-Luminescence Scanned Imaging*).

---

El efecto optoacústico se produce cuando se irradia una muestra con un haz láser pulsado, con un periodo de nanosegundos. El tejido se calienta y produce una onda acústica de entre 1-100 MHz, dependiendo de la absorción del tejido, la longitud de onda del láser, la duración del pulso y la potencia [37]. La detección se realiza mediante un detector de ultrasonidos y las resoluciones de estos sistemas son 10-20  $\mu\text{m}$  con una penetración de 1 mm, aunque equipos más sofisticados intentan alcanzar varios centímetros.

La técnica CELSI utiliza el efecto Cherenkov, según el cual al irradiar el tejido con radiación ionizante, el propio tejido produce luminiscencia, la cual se captura con una cámara de gran sensibilidad, reconstruyendo la imagen de una manera similar a los rayos X [38]. Su aplicación en humanos todavía está en desarrollo, pero se enfoca en aplicación a oncología.

---

## 5 Técnicas de análisis y equipo hiperespectral

El análisis de imagen permite la extracción de información diagnóstica útil de un gran conjunto de datos hiperespectrales a nivel de tejido e incluso celular, y por lo tanto, es crítico en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Una alta resolución espacial y espectral hace que el hipercono contenga mayor información, pero a su vez, dificulta un análisis automático de los datos. En particular, hay una alta redundancia de los datos debido a la correlación entre bandas, hay una variabilidad de las firmas espectrales y además, tiene lugar la “maldición de la dimensionalidad”. Este fenómeno ocurre al analizar y organizar datos en espacios de alta dimensión, de manera que, cuando la dimensionalidad aumenta, el volumen del espacio aumenta tan rápido que los datos disponibles se vuelven escasos.

El objetivo de los métodos de clasificación es extraer y separar la información espectral relevante, ya que el objetivo no es únicamente diferenciar entre tejidos, sino proporcionar mapas de diagnóstico y separar los espectros en las distintas firmas de los componentes.

Por ello, en este capítulo se presentan las principales técnicas de análisis hiperespectral utilizadas en este trabajo, las cuales engloba PCA, el detector de anomalías RX, la detección y cuantificación de cromóforos y las métricas de comparación. Además, se muestran las especificaciones principales del equipo hiperespectral utilizado para medir las muestras.

### 5.1 Análisis de componentes principales (PCA)

En los conjuntos de datos hiperespectrales, un mayor número de bandas proporciona información más detallada, pero a su vez, debido a la maldición de la dimensionalidad el uso de demasiadas bandas espectrales puede hacer que la precisión de clasificación disminuya. Además, no todas las intensidades medidas a diferentes longitudes de onda tienen información valiosa, por ello es necesario extraer la información más relevante, para que el procesamiento de datos sea lo más preciso y eficiente.

Por ello, es necesario emplear métodos de reducción de dimensionalidad y extraer la información más útil. En general, en lo que a imagen hiperespectral se refiere, el método más utilizado, generalmente, es el análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés). PCA reduce la información redundante en las bandas de imágenes hiperespectrales, mientras se preserva la mayor parte de la varianza en las dimensiones espaciales.

Sea un hipercono compuesto por  $N$  imágenes espectrales, y cada imagen con una dimensión  $m \times n$ , por lo tanto cada imagen tiene  $M = m \times n$  píxeles, y el píxel  $i$  puede ser representado a través del vector espectral  $x^i = [x_1^i, \dots, x_N^i]^T$ ,  $i = 1, \dots, M$ . Por lo tanto, cada hipercono puede ser representado como una matriz  $N \times M$ , donde  $X = (x^1, \dots, x^M)$ . Los pasos para realizar PCA se describen a continuación [7]:

1. Centrar la matriz como  $\bar{X} = [x^1 - \mu, \dots, x^M - \mu]$ , donde  $\mu = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M x^i$  es la media del vector espectral de todos los píxeles.
2. Calcular la matriz de covarianza  $\Sigma = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M (x^i - \mu)(x^i - \mu)^T = \bar{X} \bar{X}^T$ .
3. Descomponer la matriz de covarianza como  $\Sigma = U \Lambda U^T$ , donde  $\Lambda = \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_N)$  es la matriz diagonal con los autovalores y  $U = [u^1, \dots, u^N]^T$  es una matriz ortonormal compuesta con los autovectores.
4. Ordenar los autovalores y autovectores en orden descendente, y el primer autovector  $K$ ,  $U_K = (u^1, \dots, u^K)$ , es utilizado para aproximar la imagen original  $z^i = [z_1^i, \dots, z_K^i]^T = U_K^T x^i$ , donde el vector  $z^i$ ,  $i = [1, \dots, M]$  será la primera banda de la imagen PCA.

El análisis por PCA de los datos de imagen hiperespectral puede resaltar las distribuciones relativas de diferentes mezclas de componentes moleculares, identificar características discriminatorias clave y estimar el espectro en los datos espectroscópicos. PCA es óptimo minimizando el error cuadrático medio, sin embargo, transforma el el espacio original en un subespacio de autovectores, lo que dificulta el interpretar el significado biológico de los datos.

## 5.2 Detección de anomalías: algoritmo RX

La información de alta resolución espectral proporcionada por las imágenes hiperespectrales ha llevado a su uso frecuente en la llamada detección de objetivos, el descubrimiento características de interés a pequeña escala, generalmente con objetivos militares. La detección de objetivos involucra dos pasos. El primero, localizar anomalías espectrales señaladas por un procedimiento de filtrado sin supervisión. El segundo, determinar la importancia de cada anomalía identificada, es decir, si es un objetivo o no. Generalmente, en el segundo caso se usan comparaciones con firmas espectrales conocidas. Respecto al primer paso, en el año 1990, I.S. Reed y Xiaoli Yu desarrollaron el algoritmo de detección de anomalías RX [39]. En el capítulo 7 de [40] se realiza una derivación del algoritmo RX, que se describirá en este documento, aunque primero es necesario definir ciertos conceptos previos para seguir adecuadamente la descripción.

Sea  $X_1, \dots, X_n$  una muestra aleatoria de una población con función de probabilidad  $P_\theta$  (o función de densidad  $f_\theta$ ). Para cada muestra particular  $(x_1, \dots, x_n)$ , la función de verosimilitud se define como la función de probabilidad (o de densidad) conjunta de  $(X_1, \dots, X_n)$  evaluada en  $(x_1, \dots, x_n)$  [40]:

$$L(\theta) = L(x_1, \dots, x_n; \theta) = P_\theta(X_1 = x_1, \dots, X_n = x_n), \quad (5.1)$$

si  $X$  es discreta,

$$L(\theta) = L(x_1, \dots, x_n; \theta) = f_\theta(x_1, \dots, x_n). \quad (5.2)$$

si  $X$  es continua. En este caso, la función de densidad de  $X$  es función de densidad Gaussiana, por lo que la función de verosimilitud es [40]:

$$\begin{aligned}
L(\theta) &= L(x_1, \dots, x_n; \mu, \sigma) = f(x_1, \dots, x_n; \theta) = \prod_{i=1}^n f_{X_i}(x_i; \mu, \sigma) = \prod_{i=1}^n f(x_i; \mu, \sigma) \\
&= \prod_{i=1}^n \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu)^2}{2\sigma^2}\right) = \left(\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma}\right)^n \exp\left(-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2\right). \quad (5.3)
\end{aligned}$$

Sea  $X_1, \dots, X_n$  una muestra aleatoria de una población con función de verosimilitud  $L(\theta)$ . Para cada muestra particular  $(x_1, \dots, x_n)$ , la estimación de máxima verosimilitud de  $\theta$  es el valor  $\hat{\theta}_{MV}$  que maximiza la verosimilitud. Es decir:

$$L(x_1, \dots, x_n; \hat{\theta}_{MV}) = \max_{\theta} L(x_1, \dots, x_n; \theta). \quad (5.4)$$

El estimador de máxima verosimilitud,  $\hat{\theta}_{MV}(X_1, \dots, X_n)$ , es aquel que evaluado en cada muestra particular nos da la estimación de máxima verosimilitud ( $\hat{\theta}_{MV}(x_1, \dots, x_n)$ ).

A continuación, se describe la derivación del algoritmo RX. Sea, por ejemplo, una ventana rectangular de una imagen hiperespectral, con un píxel central como posible anomalía, donde  $g(\nu)$ ,  $\nu = 1, \dots, m$ , denota los vectores de píxeles observados en el fondo (asumiendo un fondo dado por una función de probabilidad de densidad Gaussiana) y  $g(m+1)$  denota el píxel central. Construimos las siguientes hipótesis nulas y alternativas:

$$H_0 : g(\nu) \sim \mathcal{N}(\mu_b, \Sigma_b), \nu = 1, \dots, m+1, \quad (5.5)$$

$$H_1 : g(\nu) \sim \mathcal{N}(\mu_b, \Sigma_b), \nu = 1, \dots, m, \quad g(m+1) \sim \mathcal{N}(\mu, \Sigma_b). \quad (5.6)$$

Por lo tanto, la hipótesis nula o sin anomalía es que todas las observaciones en la ventana se muestrean uniformemente a partir de una distribución normal multivariada con media  $\mu_b$  y matriz de covarianza  $\Sigma_b$ . La hipótesis alternativa establece que el píxel central se caracteriza por la misma matriz de covarianza pero por una diferente vector medio  $\mu$ . Las probabilidades maximizadas vienen dadas por:

$$\max_{\theta \in \omega_0} L(\theta) = \prod_{\nu=1}^{m+1} \exp\left(-\frac{1}{2}(g(\nu) - \hat{\mu}_b)^T \hat{\Sigma}_b^{-1} (g(\nu) - \hat{\mu}_b)\right), \quad (5.7)$$

$$\begin{aligned}
\max_{\theta \in \omega} L(\theta) &= \prod_{\nu=1}^m \exp\left(-\frac{1}{2}(g(\nu) - \hat{\mu}_b)^T \hat{\Sigma}_b^{-1} (g(\nu) - \hat{\mu}_b)\right) \\
&\cdot \exp\left(-\frac{1}{2}(g(m+1) - \hat{\mu})^T \hat{\Sigma}_b^{-1} (g(m+1) - \hat{\mu})\right), \quad (5.8)
\end{aligned}$$

donde  $\hat{\mu}_b$  y  $\hat{\Sigma}_b$  son las estimaciones de máxima verosimilitud de la media y de la matriz de covarianza del fondo. Además, se define  $\omega$  como la región en el espacio de parámetros especificado por la hipótesis  $H_0$ , con  $\hat{\mu}_b = 0$  y  $\hat{\Sigma}_b > 0$ . Por otro lado, se define  $\omega_0$  como la región en el espacio de parámetros especificado por la hipótesis  $H_1$ , con  $\hat{\mu}_b \neq 0$  y  $\hat{\Sigma}_b > 0$ .

Pero,  $\hat{\mu} = g(m+1)$  (únicamente hay una observación), así que el último factor exponencial en la ecuación 5.8 es de valor unidad. Por lo tanto, la prueba de razón de probabilidad tiene la región crítica:

$$Q = \frac{\max_{\theta \in \omega_0} L(\theta)}{\max_{\theta \in \omega} L(\theta)} = \exp \left( -\frac{1}{2} (g(m+1) - \hat{\mu}_b)^T \hat{\Sigma}_b^{-1} (g(m+1) - \hat{\mu}_b) \right) \leq k. \quad (5.9)$$

Por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula, es decir, no hay anomalía presente para la observación central  $g = g(m+1)$  cuando la distancia al cuadrado de Mahalanobis

$$d = (g - \hat{\mu}_b)^T \hat{\Sigma}_b^{-1} (g - \hat{\mu}_b) \quad (5.10)$$

excede un umbral establecido. Esta distancia es la que se utiliza para programar el detector de anomalías RX. En general, en la práctica, se pueden obtener buenos resultados haciendo un cómputo global del fondo, sin necesidad de hacer un cómputo local.

### 5.3 Detección lineal de firmas espectrales

La descomposición lineal ha sido ampliamente utilizada en imagen hiperespectral para la detección, clasificación y cuantificación de distintos componentes. Se asume que el vector espectral de un píxel es una mezcla lineal de los distintos componentes que forman la imagen, entonces, se aplican técnicas de descombinación para descubrir los componentes de interés. En general, existen muchas técnicas, pero la mayoría con resultados no óptimos. En [41] se propone una técnica basada en un problema de desmezcla lineal totalmente restringida. Se asume que  $(m_1, \dots, m_p)$  son firmas espectrales de residentes en una imagen vectorial de píxeles y  $(\alpha_1, \dots, \alpha_p)$  sus correspondientes pesos, por lo tanto se deben satisfacer dos condiciones:

$$(a) \sum_{j=1}^p \alpha_j = 1, \quad (b) \alpha_j \geq 0 \text{ para todo } 1 \leq j \leq p.$$

Para resolver el problema se utiliza el modelo de mezcla lineal [41]. Sea  $r$  el vector columna de un píxel  $l \times 1$  en una imagen hiperespectral con  $l$  bandas espectrales. Sea  $M = (m_1, \dots, m_p)$  una matriz  $l \times p$ , donde cada columna se corresponde con el espectro de cada componente que conforma el píxel, en este caso siendo  $p$  componentes. Sea  $\alpha = (\alpha_1, \dots, \alpha_p)^T$  un vector columna  $p \times 1$  que denota los pesos asociados a la matriz  $M$ . Por lo tanto, se puede asumir que todo espectro  $r$  es una suma lineal de los distintos componentes con un factor de peso dado por  $\alpha$ :

$$r = M\alpha + n, \quad (5.11)$$

donde  $n$  es un vector columna  $l \times 1$  representando un ruido Gaussiano aditivo que no se puede modelar con valor medio nulo y varianza  $\sigma^2 I$ , donde  $I$  es la matriz identidad  $l \times l$ .

En notación matricial, ordenando los espectros por columnas se obtiene la matriz  $R \in \mathbb{R}^{(n_x \cdot n_y) \times n_\lambda}$ , donde  $n_x, n_y, n_\lambda$  son las dimensiones espaciales y espectral del hipercubo. Por lo tanto, la ecuación 5.11 se puede escribir como:

$$R = M\alpha. \quad (5.12)$$

Generalmente, el problema es conocer los coeficientes del vector  $\alpha$ . Para ello se utiliza el error por mínimos cuadrados como criterio óptimo para estimar  $\alpha$  y cuya solución genérica es la pseudoinversa de Moore-Penrose:

$$\hat{\alpha} = M^\dagger R = (M^T M)^{-1} M^T R. \quad (5.13)$$

### Cuantificación aproximada de cromóforos

El modelo más sencillo para explicar el comportamiento de reflectancia difusa es el de Kubelka-Munk [42], donde se asume que el medio que estamos midiendo es semi-infinito. Entonces, la absorbancia puede escribirse a partir de la siguiente relación:

$$\frac{\mu_a(\lambda)}{\mu'_s(\lambda)} = \frac{(1 - R(\lambda))^2}{2R(\lambda)}, \quad (5.14)$$

donde  $R$  es la reflectancia de la muestra medida. Si definimos adecuadamente  $\mu'_s(\lambda)$ , se puede asumir que:

$$\frac{(1 - R(\lambda))^2}{2R(\lambda)} \mu'_s(\lambda) = \sum_{i=0}^N \alpha_i \mu_i(\lambda) + n, \quad (5.15)$$

volviendo al problema anterior. Por lo tanto, a partir del modelo de Kubelka Munk y el coeficiente de scattering reducido, en este caso de la aorta, se construye la matriz  $R$ . A partir de los espectros de los cromóforos de interés, en este caso colágeno, elastina, agua y lípidos, se construye la matriz  $M$ . Finalmente, se obtienen los coeficientes de peso de los distintos componentes.

Es importante establecer que este modelo no considera distintas capas, mientras que, como se ha visto anteriormente, la aorta tiene tres capas. Ahora bien, debido a su composición, la capa media es la que contiene la mayor parte del colágeno y la elastina, por lo que será donde se produzca el daño en la mayoría de los casos. Por lo tanto, bajo esta hipótesis, el uso de este modelo estaría justificado.

## 5.4 Métricas de comparación

Otra posibilidad para evaluar la presencia de cromóforos en la muestra a estudiar son las métricas de comparación. Dichas métricas son ampliamente utilizadas en el sensado remoto para evaluar la calidad de imágenes fusionadas, por ejemplo dos imágenes de un satélite, una en el rango visible y otra en el infrarrojo. Hay dos tipos de métricas, aquéllas que se utilizan cuando la imagen de referencia está disponible y aquéllas que se utilizan cuando la imagen de referencia no está disponible. Puesto que los espectros de los cromóforos a estudiar están disponibles, las métricas de interés en este trabajo son las del primer tipo. En [43] se presenta una revisión de ambos tipos de métricas. Considerando un hipercubo de dimensiones espaciales  $(m \cdot n)$  y  $N$  bandas espectrales, se denota como  $I(i, j)$  al espectro completo del píxel  $(i, j)$  y se denota  $I_R$  al espectro del cromóforo de referencia. Además, se define  $\bar{I}(i, j)$  como el valor medio del espectro del píxel  $(i, j)$  y  $\bar{I}_R$  como el valor medio del espectro del cromóforo. Las métricas de comparación utilizadas en este trabajo son:

- El error cuadrático medio (RMSE por sus siglas en inglés), donde se comparan los valores del hipercubo y de referencia comparando directamente la variación del valor de los píxeles. RMSE es un buen indicador cuando su valor es cercano a cero. Su expresión viene dada por [44]:

$$RMSE(i, j) = \sqrt{\frac{1}{mn} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (I(i, j) - I_R)^2}. \quad (5.16)$$

- El mapa de ángulo espectral (SAM por sus siglas en inglés), donde se calcula el ángulo espectral entre el espectro del píxel de la imagen y el de referencia (en grados o radianes). SAM es un buen indicador cuando su valor es cercano o igual a cero. Su expresión viene dada por [45]:

$$SAM(i, j) = \arccos \left( \frac{I(i, j) \cdot I_R}{\|I(i, j)\| \cdot \|I_R\|} \right). \quad (5.17)$$

- El sesgo medio (MB por su siglas en inglés), donde se calcula la diferencia entre el valor medio del píxel de la imagen y el espectro de referencia. MB es un buen indicador cuando su valor es cercano o igual a cero. Su expresión viene dada por [46]:

$$MB(i, j) = 1 - \frac{\bar{I}(i, j)}{\bar{I}_R}, \quad (5.18)$$

- El error de ajuste porcentual (PFE por sus siglas en inglés), donde se calcula la norma entre la diferencia de valores del píxel y el espectro de referencia dividido entre la norma del espectro de referencia. PFE es un buen indicador cuando su valor es cercano o igual a cero. Su expresión viene dada por [47]:

$$PFE(i, j) = 100 \cdot \frac{\|I_R - I(i, j)\|}{\|I_R\|}. \quad (5.19)$$

- La relación señal ruido (SNR por sus siglas en inglés), donde se mide el ratio entre información y ruido de una imagen. En este caso, se mide el ratio de presencia del cromóforo a estudiar. SNR es un buen indicador cuando su valor es alto. Su expresión viene dada por [48]:

$$SNR(i, j) = 10 \log_{10} \left[ \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n I_R^2}{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (I_R - I(i, j))^2} \right]. \quad (5.20)$$

- El coeficiente de correlación (CC), donde se calcula la similitud de las características espectrales entre la imagen y el espectro de referencia. CC es un buen indicador cuando su valor es cercano o igual a 1. Su expresión viene dada por [49]:

$$CC(i, j) = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n [(I(i, j) - \bar{I}(i, j)) \cdot (I_R - \bar{I}_R)]}{\sqrt{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n [(I(i, j) - \bar{I}(i, j))^2] \cdot \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n [(I_R - \bar{I}_R)^2]}}. \quad (5.21)$$

- El índice de calidad de imagen universal (UIQI por sus siglas en inglés), el cual combina tres factores diferentes, la pérdida de correlación, distorsión de luminancia y distorsión de contraste. UIQI es un buen indicador cuando su valor es cercano o igual a 1. Su expresión viene dada por [49]:

$$UIQI(i, j) = \frac{\sigma_{II_R}(i, j)}{\sigma_{I(i, j)}\sigma_{I_R}} \cdot \frac{2\bar{I}(i, j)\bar{I}_R}{(\bar{I}(i, j)^2 + \bar{I}_R^2)} \cdot \frac{2\sigma_{I(i, j)}\sigma_{I_R}}{(\sigma_{I(i, j)}^2 + \sigma_{I_R}^2)}, \quad (5.22)$$

donde  $\sigma_{II_R}$  es la matriz de covarianza,  $\sigma_{I(i, j)}$  es la desviación estándar del píxel  $(i, j)$  del hipercubo y  $\sigma_{I_R}$  es la desviación estándar del espectro de referencia.

- El índice de similitud estructural (SSIM por sus siglas en inglés), donde se comparan los patrones locales de intensidad entre el píxel del hipercubo y el espectro de referencia. SSIM es un buen indicador cuando su valor es cercano a 1. Su expresión viene dada por [50]:

$$SSIM(i, j) = \frac{(2\bar{I}(i, j)\bar{I}_R + C_1)(2\sigma_{II_R}(i, j) + C_2)}{(\bar{I}(i, j)^2 + \bar{I}_R^2 + C_1)(\sigma_{I(i, j)}^2 + \sigma_{I_R}^2 + C_2)}, \quad (5.23)$$

donde  $C_1 = (K_1L)^2$ , siendo  $K_1 \ll 1$  y  $L$  rango dinámico del valor del píxel (en este caso 1 puesto que está normalizado) y donde  $C_2 = (K_2L)^2$ , siendo  $K_2 \ll 1$ . Si  $C_1 = C_2 = 0$ , SSIM se corresponde con UIQI, y produce resultados inestables cuando  $(\bar{I}(i, j)^2 + \bar{I}_R^2)$  o  $(\sigma_{I(i, j)}^2 + \sigma_{I_R}^2)$  tienen valores cercanos a cero.

## 5.5 Equipo hiperespectral

El equipo hiperespectral utilizado para medir las muestras en este trabajo ha sido desarrollado en el Grupo de Ingeniería Fotónica en el marco de los proyectos FUSIODERM (DTS15-0238), DICUTEN (INNVAL 16/02) e INTRACARDIO (DTS17-00055) [51] [52]. En este trabajo se ha utilizado un equipo hiperespectral en el rango SWIR, compuesto por el espectrógrafo ImSpector N17E (Specim, Spectral Imaging Ltd., Finland), una lente genérica con montura tipo C y una cámara con un sensor de InGaAs (Xeva-USB-FPA-1.7-320, Xenics Infrared Solutions, Belgium). A continuación se muestran las principales especificaciones del sistema:

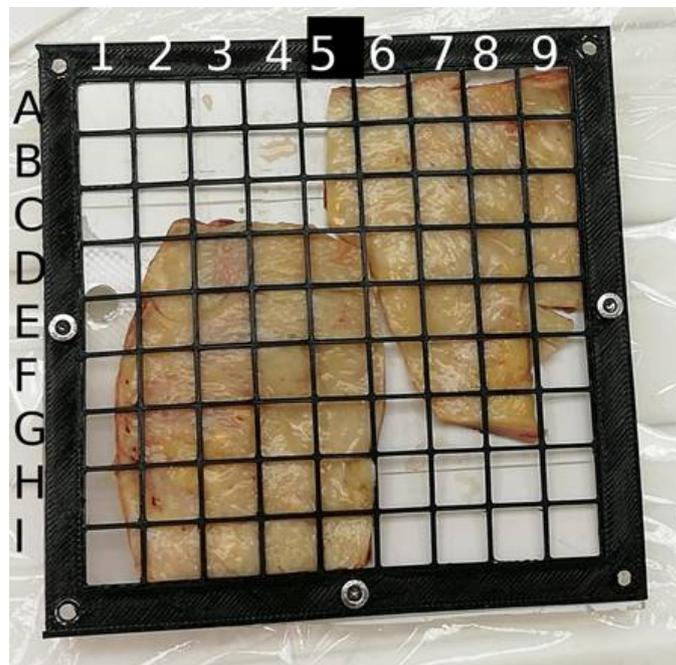
- Rango en longitud de onda: 1000 - 1700 nm con 256 bandas espectrales
- Tiempo de exposición: 1 - 50 ms
- Resolución máxima: 320 x 20000
- Óptica de enfoque: 5 - 50 mm, f/1.3, apertura y zoom variables

## 6 Resultados y discusión

### 6.1 Muestras de tejido

En este estudio de viabilidad, se obtuvieron muestras de aorta humana ex vivo del aneurisma de aorta torácica ascendente, después de intervenciones quirúrgicas en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander, España), bajo la aprobación del “Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria” para el proyecto INTRACARDIO (número de código 2018.008). Las muestras de aorta se dividen en dos categorías: donantes sanos de acuerdo con los criterios estándares para donantes de corazón con fines de control (2 muestras) y muestras de aneurismas enfermas (3 muestras) de intervenciones quirúrgicas de reparación abierta de aneurismas. Las muestras han sido conservadas en tampón fosfato salino (PBS por sus siglas en inglés) y medidas con el equipo HSI dentro de las 12 horas posteriores a la escisión.

Una vez que la muestra humana se recibe en el laboratorio, se coloca dentro de una cuadrícula personalizada impresa en 3D, dividida en 9 x 9 cuadrantes individuales (A a I) x (1 a 9), siendo cada cuadrante de 10 x 10 mm<sup>2</sup>, como se puede observar en la Fig. 6.1



**Figura 6.1:** Ejemplo de muestra de aorta a analizar colocada en la rejilla.

Se ha utilizado Python como lenguaje de programación ya que cuenta con diversas librerías de algoritmos que ayudan en el análisis.

En particular, existe un módulo llamado *Spectral Python (SPy)* (<http://www.spectralpython.net/>) plenamente enfocado al trabajo con imágenes hiperespectrales. En dicho módulo se encuentra desarrollado tanto PCA como el algoritmo RX, lo que simplifica su implementación. El análisis llevado a cabo para las muestras ha sido el siguiente:

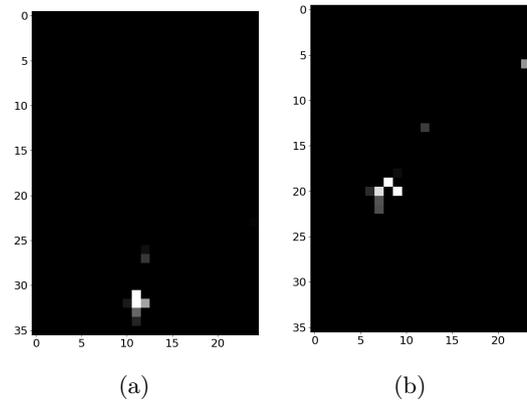
1. Carga de datos (reflectancia difusa y absorbancia) y construcción del hipercubo de datos.
2. Reducción de dimensionalidad mediante PCA. En este trabajo se ha aplicado una reducción mediante PCA de manera que en el proceso se retenga un 99.9% de la varianza total. De esta manera se conserva toda la información de interés, reduciendo las cientos de bandas espectrales redundantes a unas pocas unidades.
3. Identificación de posibles anomalías mediante el algoritmo RX. Posteriormente, para declarar un píxel anómalo hay que realizar una umbralización en base a la probabilidad de ese píxel respecto al fondo.
4. Realización de cuatro diagramas de caja, uno por cromóforo de interés (elastina, colágeno, agua, lípidos), para comparar los valores obtenidos a través de una métrica de interés en las zonas de anomalía, en las zona de no anomalía y en las regiones de aorta de control.
5. Extracción de cromóforos de interés mediante un modelo de regresión lineal y el modelo de reflectancia difusa de Kubelka-Munk.
6. Realización de cuatro diagramas de caja adicionales, esta vez comparando los valores obtenidos a través del algoritmo de extracción de cromóforos.

## 6.2 Muestras de control

En esta sección se muestra el análisis de las dos muestras de control utilizadas en este trabajo. El análisis llevado a cabo es el mismo que en el caso de muestras patológicas, con el objetivo de afianzar el hecho de que se tratan de muestras de control. En este caso se han utilizado dos cuadrantes individuales de una misma muestra, por lo que los resultados mostrados hacen referencia completamente al tejido de la muestra.

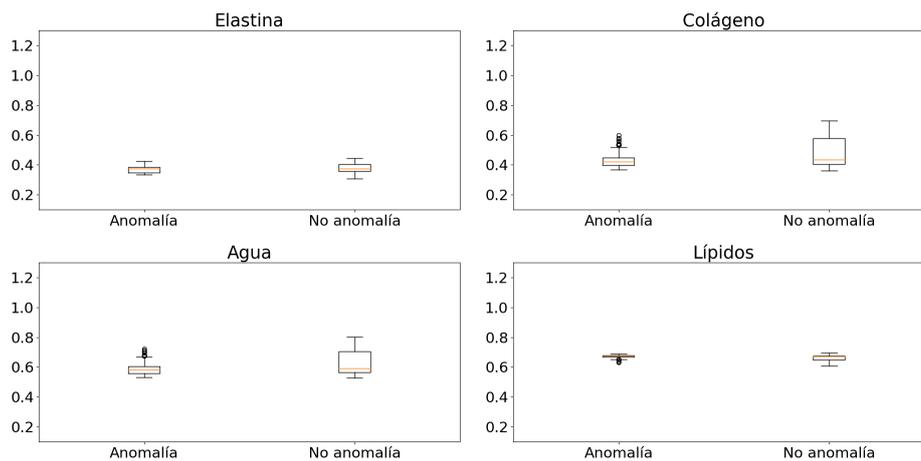
En la Fig. 6.2 se muestra el resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre las muestras de control. En este caso la umbralización no resulta crítica como será en el caso de las muestras patológicas, puesto que al ser una muestra de control y no tener anomalías los resultados que proporcione RX van a presentar una variación mínima independientemente del umbral elegido. Aún así, el umbral elegido es una probabilidad de anomalía del 3%, con el objetivo de establecer las mismas condiciones entre las muestras de control y las patológicas. Los píxeles que se observan como anómalos en las muestras de control vienen del carácter estadístico del algoritmo RX. Para comprobarlo se analizan la presencia de cromóforos en la zona detectada como anomalía y en la zona detectada como no anomalía.

---

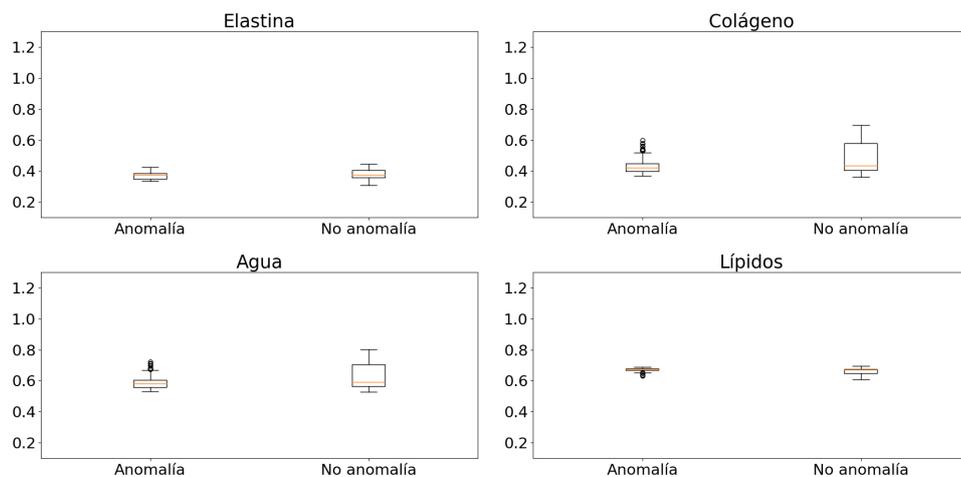


**Figura 6.2:** Resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre (a) la muestra de control 1 y (b) la muestra de control 2. La región de color negro se corresponde con las zonas de tejido sin anomalías, mientras que los píxeles grises/blancos indican la existencia de una anomalía.

En las Figs. 6.3 y 6.4 se observan los diagramas de caja obtenidos a partir de la distancia entre el espectro en cada punto de la muestra y el cromóforo de referencia en cada caso (elastina, colágeno, agua y lípidos), calculada mediante la métrica SAM. En este tipo de diagramas la parte superior de la caja representa el 75% de los datos, la inferior el 25% y la línea naranja representa la mediana. El bigote superior representa el máximo de los valores no atípicos mientras que el bigote inferior representa el mínimo de los valores no atípicos. Los círculos representan valores atípicos. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de las muestras de control. Puesto que se está utilizando la métrica SAM, un valor cercano a cero indica una mayor correlación o parecido con el cromóforo de interés. Como se puede comprobar, apenas existe una diferencia entre los valores de las zonas anómalas y no anómalas, corroborando el hecho de que sean muestras de control.

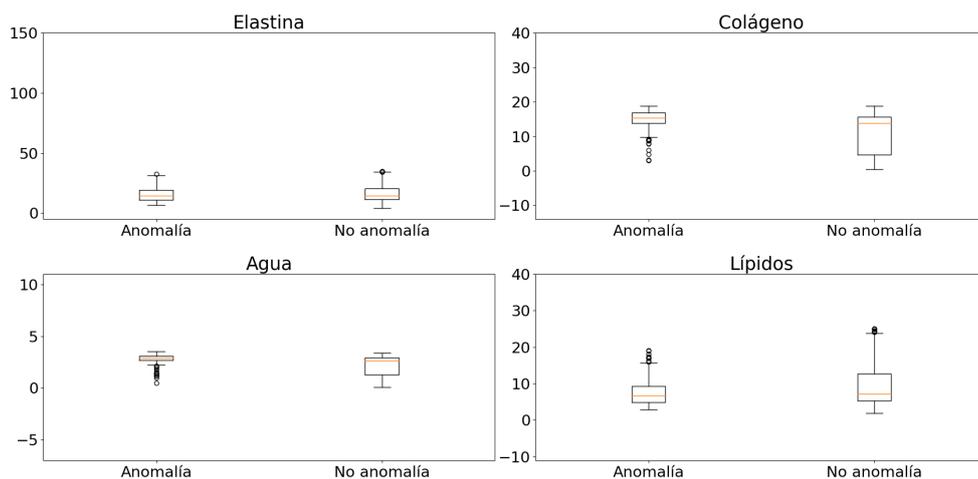


**Figura 6.3:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra de control 1.

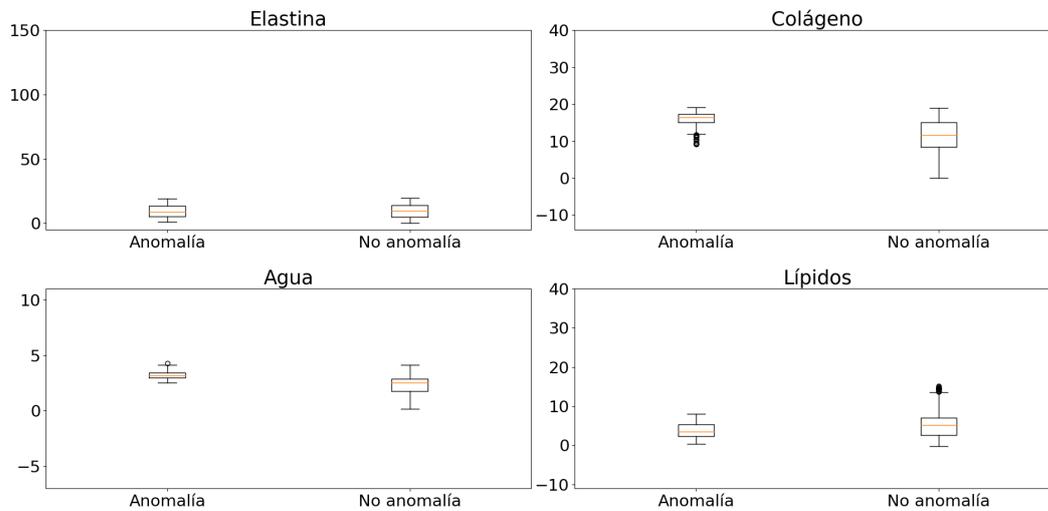


**Figura 6.4:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra de control 2.

Con el objetivo de tener una mayor perspectiva en los resultados obtenidos, el último paso del análisis involucra la cuantificación de cromóforos mediante un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk. En las Figs. 6.5 y 6.6 se muestran los correspondientes diagramas de caja obtenidos para cada cromóforo a partir de los valores proporcionados por la cuantificación de cromóforos. Los resultados son compatibles con los valores proporcionados por la distancia de la métrica SAM, indicando de nuevo que no existe una diferencia notable en la presencia de los cromóforos en la muestra. Esto evidencia que son muestras homogéneas con un comportamiento parecido.



**Figura 6.5:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra de control 1.

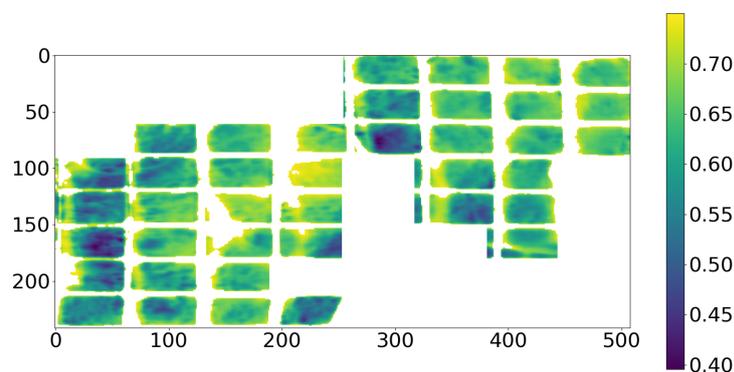


**Figura 6.6:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra de control 2.

Las muestras de control se utilizan para tener una mayor perspectiva de los resultados obtenidos en las muestras patológicas. De esta manera se puede realizar una comparativa de mayor interés. A continuación se muestra el análisis realizado para las tres muestras patológicas. En este caso el procedimiento es similar, aunque como se ha comentado anteriormente la umbralización es más crítica a la hora de detectar correctamente las zonas anómalas.

### 6.3 Muestra patológica 1

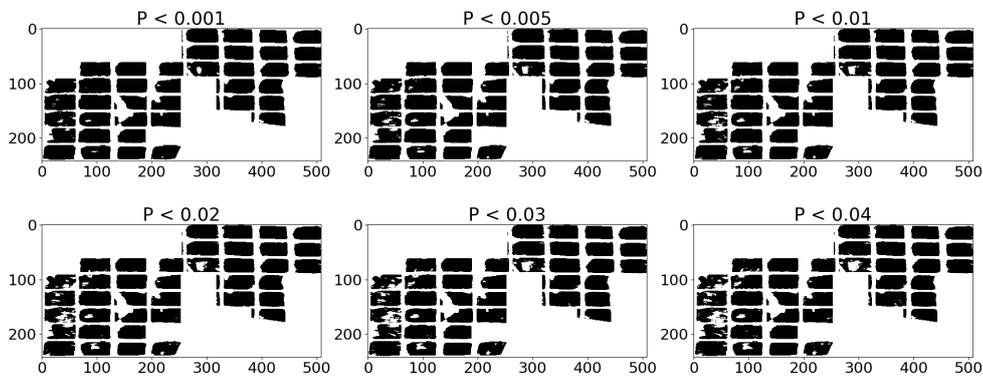
En la Fig. 6.7 se muestra el espectro promedio de la muestra patológica 1 en las zonas que únicamente contienen tejido, después de haber eliminado la rejilla que aguanta y divide la muestra.



**Figura 6.7:** Espectro promedio de la muestra patológica 1. Se muestran las regiones que contienen únicamente tejido, después de haber eliminado la rejilla que aguanta la muestra.

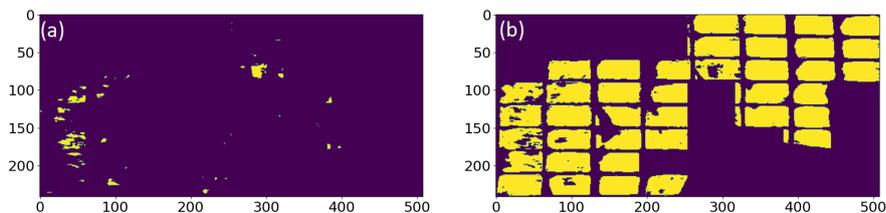
En la Fig. 6.8 se muestra el resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre la muestra patológica 1. Además, se muestra la evolución de la umbralización en base a la probabilidad de que un píxel sea declarado anómalo respecto al fondo. Se puede observar como a medida que el umbral aumenta, algunas regiones presentan zonas declaradas como anómalas. Además, se puede comprobar que esas zonas se corresponden con zonas con un valor medio del espectro menor (zonas azuladas de la Fig. 6.7). Por otro lado, a medida que el umbral aumenta se puede observar una evolución adecuada de las regiones anómalas.

Ahora bien, un aspecto fundamental es la elección de un umbral adecuado. En algunos casos, si el umbral es demasiado bajo puede que no se observen las anomalías, como ocurre en esta muestra. Por otro lado, el umbral no puede ser demasiado alto ya que en ese caso prácticamente toda la muestra sería anómala. En este trabajo se ha establecido como un umbral óptimo una probabilidad de anomalía del 3%, lo cual se considera razonable. Este criterio es el que más puede variar entre muestras, dependiendo de sus propiedades espectrales y también del posible ruido de fondo que haya en las medidas.



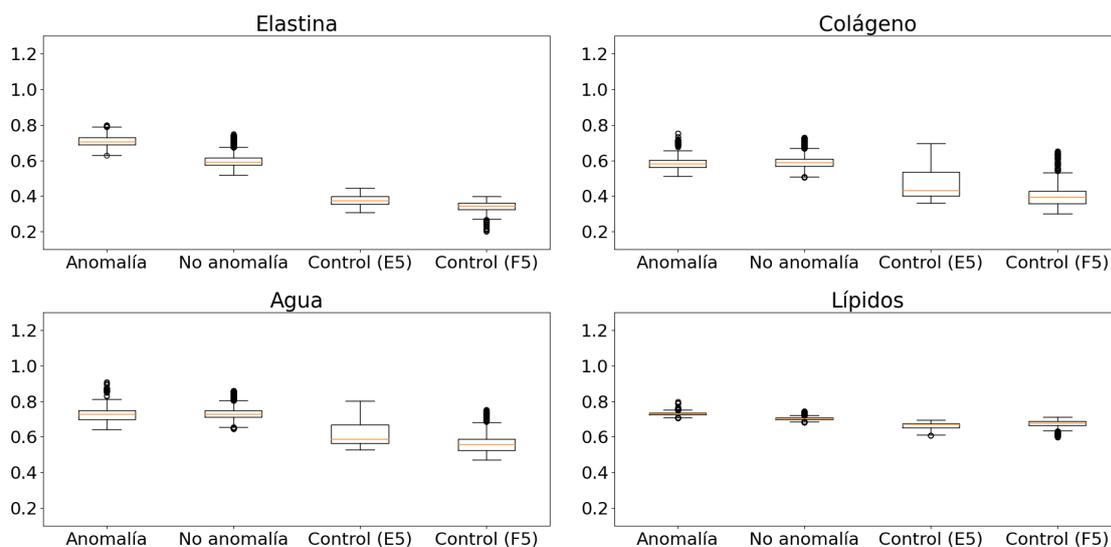
**Figura 6.8:** Resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre la muestra patológica 1. Se muestran distintos casos de umbral en base a la probabilidad de que un píxel sea anómalo.

El hecho de que el algoritmo RX detecte un píxel como anómalo se debe simplemente a una probabilidad de distribución respecto al fondo. Por ello, en base a los resultados obtenidos es importante estudiar las propiedades espectrales de los cromóforos de interés de las zonas detectadas como anomalía y de las zonas detectadas como no anomalías. En la Fig. 6.9 se muestran las zonas declaradas anómalas (a) y las zonas declaradas no anómalas (b), de la muestra patológica 1 después de eliminar las zonas que no son tejido (rejilla).



**Figura 6.9:** (a) Zonas de la muestra con tejido declaradas anómala y (b) zonas de la muestra con tejido declaradas no anómalas.

Además, para añadir una mayor perspectiva se estudian también las propiedades espectrales de las regiones de las aortas de control de la sección anterior (donde no hay patologías), con el objetivo de tener un enfoque más global. En la Fig. 6.10 se observan los diagramas de caja para cada cromóforo de interés, obtenidos a partir de la distancia calculada mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 1 y se incorporan también los valores de las regiones de control E5 (muestra de control 1) y F5 (muestra de control 2). Puesto que se está utilizando la métrica SAM, un valor cercano a cero indica una mayor correlación con el cromóforo de interés.

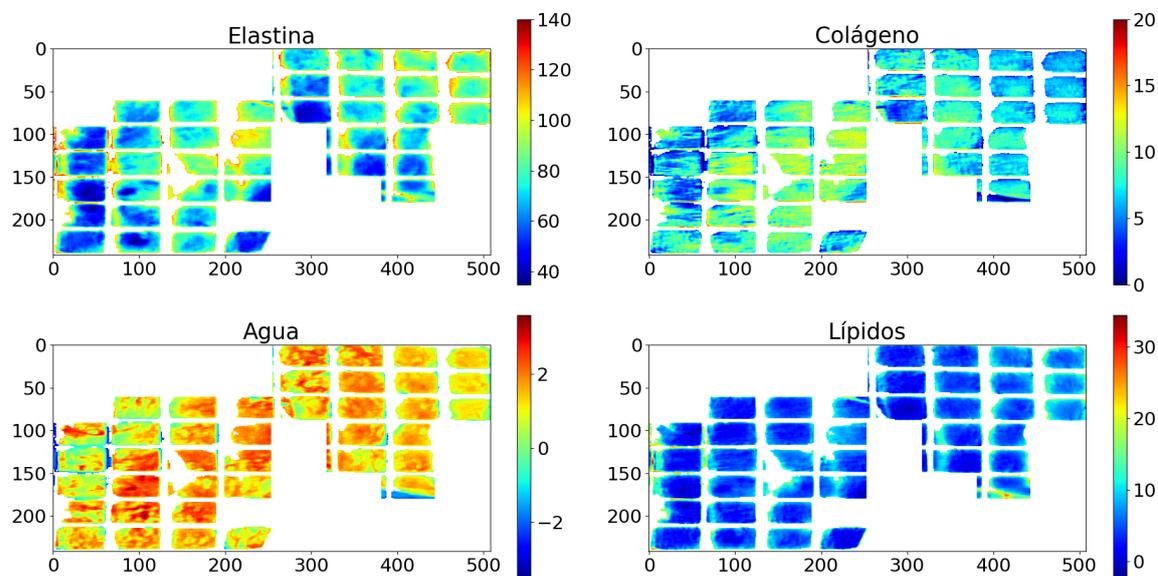


**Figura 6.10:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 1 y las regiones E5 y F5 de control.

En la Fig. 6.10 se puede observar cómo para el caso de la elastina, las regiones de control tiene un menor valor de la distancia proporcionada por SAM, por lo tanto indican un mayor contenido de elastina. La región sin anomalías tiene un mayor valor de la distancia, lo que indica menos contenido en elastina. Esto puede ser debido al hecho de ser dos muestras distintas procedentes de distintas partes de la aorta. Sin embargo, lo destacable en este caso es que la zona con anomalías presenta el mayor rango de valores de la distancia, indicando el menor contenido en elastina, existiendo un umbral (en torno a 0.65) donde se podría diferenciar la región anómala de la no anómala.

En lo que se refiere al colágeno, agua y lípidos también se observa una ligera diferencia entre las regiones de control y las regiones de la muestra patológica 1. Sin embargo, no existe un umbral que diferencie las zonas anómalas de las zonas no anómalas.

Con el objetivo de tener una mayor perspectiva en los resultados obtenidos, el último paso del análisis involucra la cuantificación de cromóforos mediante un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk. En la Fig. 6.11 se muestran mapas de cuantificación de los cromóforos de interés aplicando un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk.



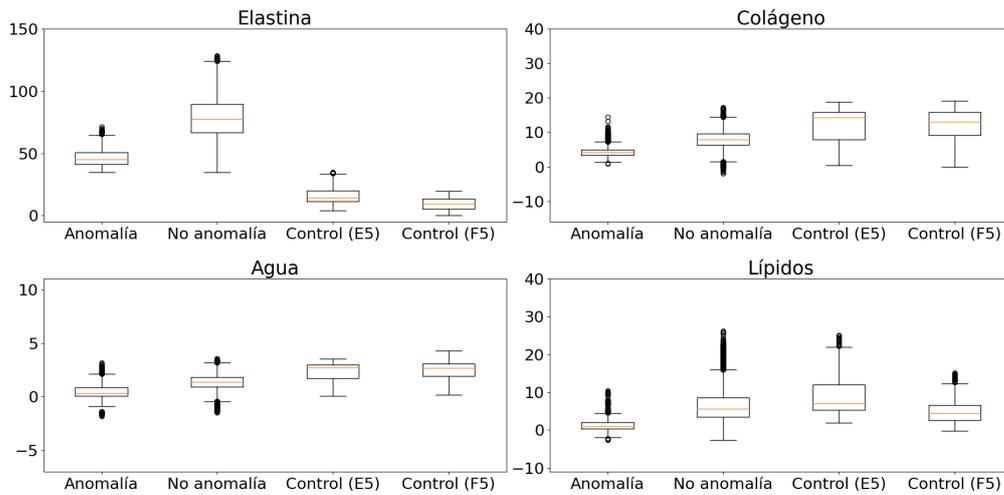
**Figura 6.11:** Mapas de cuantificación de la muestra patológica 1 de los cromóforos de interés, aplicando un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk.

En este caso se puede observar como en el caso de la elastina, en las regiones donde se había detectado una anomalía el contenido en elastina es menor. El patrón no es exactamente el mismo, ya que los dos modelos aplicados para la extracción de cromóforos no dejan de ser una aproximación más sencilla, sin embargo, se observa una cierta correlación. Lo mismo ocurre para el colágeno y el agua, donde en las regiones de las zonas detectadas como anomalía también se observa una ligera disminución de ambos cromóforos. Para el caso de los lípidos no ocurre, puesto que este cromóforo puede tener una relevancia menor en la composición de la muestra. Estos resultados indican que las anomalías sí pueden ser debidas a una alteración de la concentración de los cromóforos que componen la muestra. Para ello, se realizan de nuevo los diagramas de caja, en este caso con los valores obtenidos de la cuantificación de cromóforos, distinguiendo las mismas zonas que en el caso anterior. En la Fig. 6.12 se muestran los correspondientes diagramas de caja obtenidos para cada cromóforo a partir de los valores proporcionados por la cuantificación de cromóforos.

En este caso, para la elastina hay una diferencia clara para el caso de anomalía y no anomalía, pudiendo establecer un umbral.

En cuanto al colágeno y al agua, las regiones de control tienen un rango de valores similar al de la zona sin anomalías, mientras que la zona de anomalías tiene un menor rango de valores, indicando una disminución de ambos cromóforos, pudiendo llegar incluso a existir un umbral de diferenciación.

Para el caso de los lípidos, las regiones de control y sin anomalías también presentan valores similares, sin embargo, en la zona con anomalías la disminución del cromóforo no es tan notable, como ya se mostraba en los mapas de cuantificación.

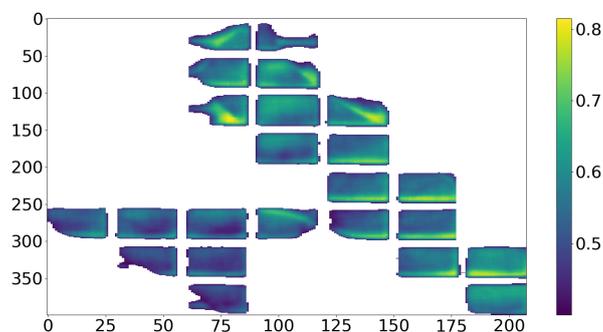


**Figura 6.12:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 1 y las regiones E5 y F5 de control.

De acuerdo con los resultados proporcionados por la distancia de la métrica SAM y la extracción de cromóforos se puede comprobar como las anomalías presentes en la muestra tienen una relación directa con una disminución de los cromóforos de mayor interés (elastina y colágeno principalmente y en menor grado el agua). Aunque con el análisis de una única muestra no se pueden establecer unas conclusiones los resultados obtenidos son compatibles entre ellos y de gran interés.

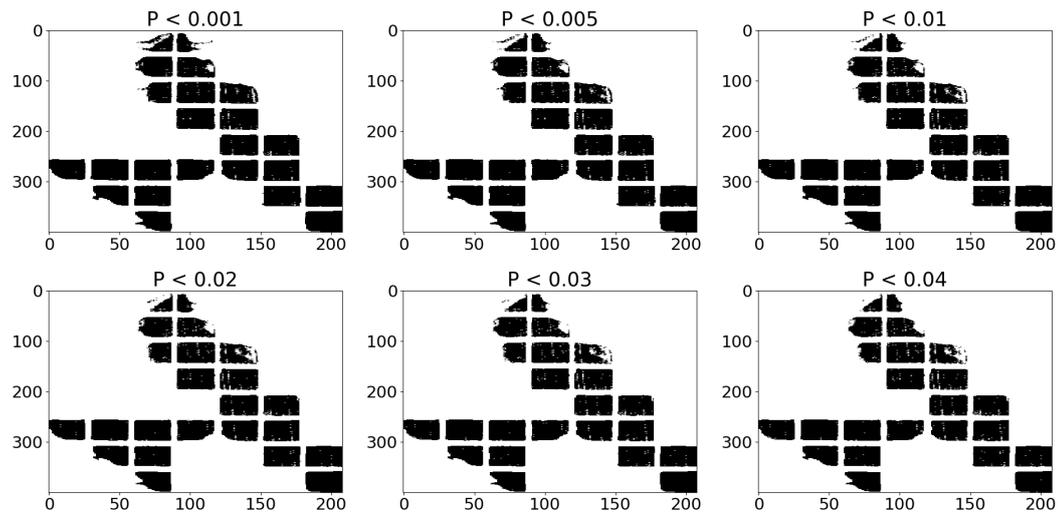
## 6.4 Muestra patológica 2

En la Fig. 6.13 se muestra el espectro promedio de la muestra patológica 2 en las zonas que únicamente contienen tejido, después de haber eliminado la rejilla que aguanta y divide la muestra.



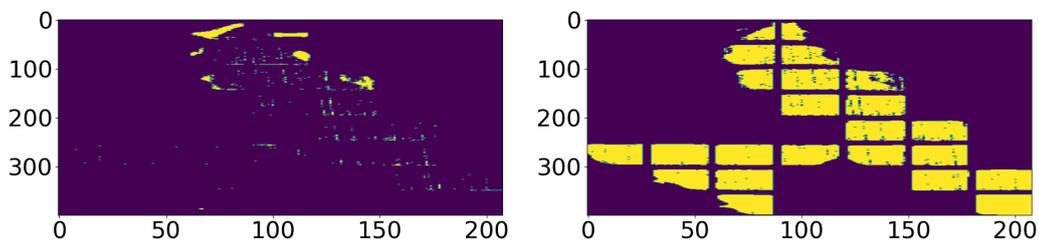
**Figura 6.13:** Espectro promedio de la muestra patológica 2. Se muestran las regiones que contienen únicamente tejido, después de haber eliminado la rejilla que aguanta la muestra.

En la Fig. 6.14 se muestra el resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre la muestra patológica 2. Además, se muestra la evolución de la umbralización en base a la probabilidad de que un píxel sea declarado anómalo respecto al fondo. Al igual que en el caso anterior la evolución con el umbral es coherente. En este caso el resultado tiene un mayor ruido respecto a la muestra anterior. Se puede comprobar cómo hay píxeles detectados como anomalía con una distribución de tipo sal y pimienta. Al igual que en el caso anterior, el umbral elegido es del 3%, aunque en este caso no se observa una gran variación al aumentar el umbral, sin embargo, sí que aumenta el ruido.



**Figura 6.14:** Resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre la muestra patológica 2. Se muestran distintos casos de umbral en base a la probabilidad de que un píxel sea anómalo.

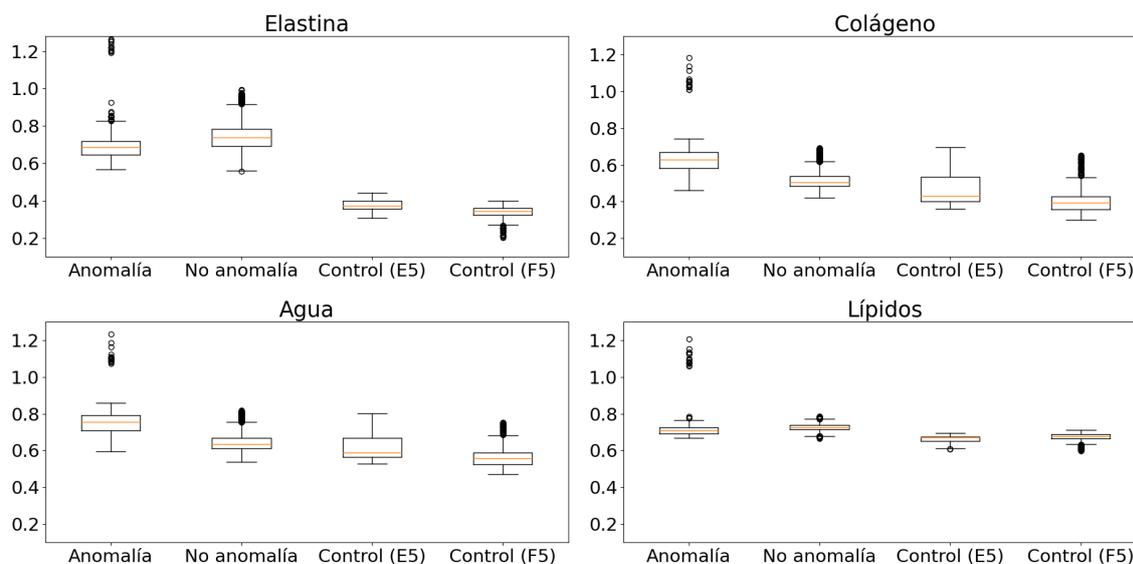
El hecho de que el algoritmo RX detecta un píxel como anómalo se debe simplemente a una probabilidad de distribución respecto al fondo. Por ello, en base a los resultados obtenidos es importante estudiar las propiedades espectrales de los cromóforos de interés de las zonas detectadas como anomalía y de las zonas detectadas como no anomalías. En la Fig. 6.15 se muestran las zonas declaradas anómalas (a) y las zonas declaradas no anómalas (b), de la muestra patológica 2 después de eliminar las zonas que no son tejido (rejilla).



**Figura 6.15:** (a) Zonas de la muestra con tejido declaradas anómalas y (b) zonas de la muestra con tejido declaradas no anómalas.

Además, para añadir una mayor perspectiva se estudian también las propiedades espectrales de las regiones de control (donde no hay patologías ni anomalías), con el objetivo de tener un enfoque más global.

En la Fig. 6.16 se observan los diagramas de caja para cada cromóforo de interés, obtenidos a partir de la distancia calculada mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 2 y las regiones E5 (muestra de control 1) y F5 (muestra de control 2). Puesto que se está utilizando la métrica SAM, un valor cercano a cero indica una mayor correlación con el cromóforo de interés.



**Figura 6.16:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 2 y las regiones E5 y F5 de control.

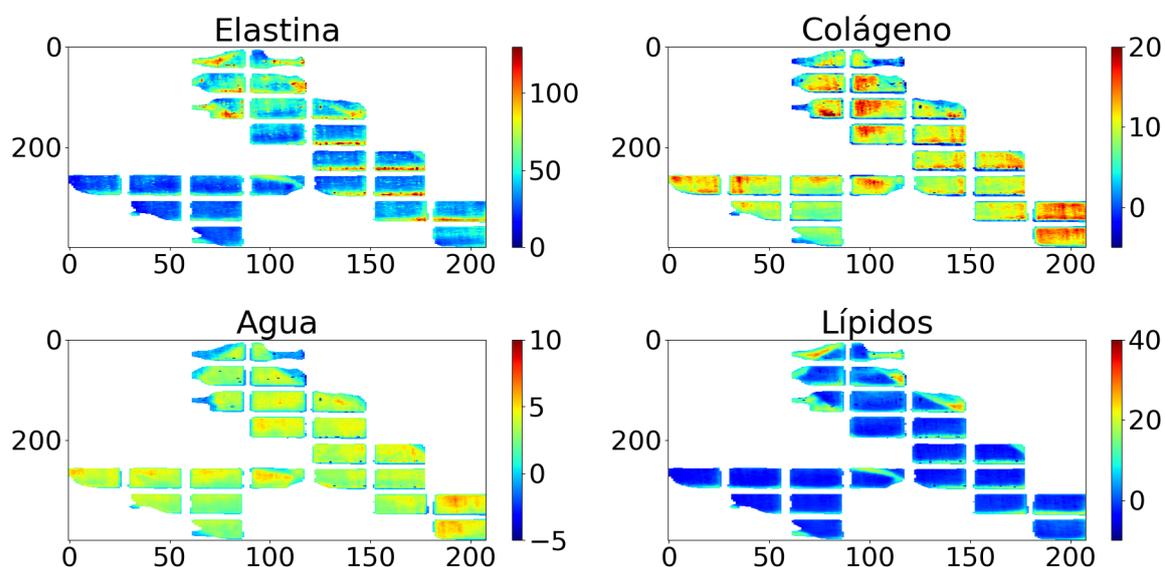
En la Fig. 6.16 se puede observar cómo para el caso de la elastina, las regiones de control tiene un menor valor de la distancia proporcionada por SAM, por lo tanto indican un mayor contenido de elastina. Ambas regiones de la muestra patológica 2 tiene un mayor valor de la distancia, lo que indica menos contenido en elastina. Esto puede ser debido al hecho de ser dos muestras distintas procedentes de distintas partes de la aorta. En este caso no existe una clara diferencia en cuanto a la zona con anomalías y sin anomalías en lo que a contenido en elastina se refiere, esto puede ser debido a que si existe una patología el contenido en elastina no tiene por qué verse modificado.

En general, en este aspecto es donde más destaca la falta de conocimiento en la relación de una patología y las propiedades de los distintos cromóforos. En el contexto de este trabajo, cada muestra de aorta puede tener una naturaleza diferente debido a la parte de la arteria completa de la que proceda. Además, las distintas patologías pueden afectar de distinta manera a los cromóforos, por ejemplo disminuyendo el contenido de elastina, colágeno o ambos. De hecho, en [53] se realiza un estudio con distintas muestras de aorta, cuyas conclusiones señalan que la degradación del colágeno es el factor determinante en la rotura por aneurisma,

puesto que produce una mayor dilatación de la aorta. Esta conclusión sería compatible con los resultados obtenidos en la muestra patológica 1, donde se observó una disminución de colágeno en las zonas anómalas. En este caso, en la Fig. 6.16 también se observa una disminución de colágeno, ya que así lo indica un mayor valor de la distancia calculada mediante la métrica SAM. Por otro lado, las regiones de las zonas no anómalas y las regiones de control tienen valores de colágeno similares.

En lo que se refiere al agua, ocurre algo similar que con el colágeno, las regiones sin anomalías y las de control tienen valores similares, mientras que en las regiones con anomalías hay un ligero aumento de la distancia, lo que indica una ligera disminución de este cromóforo. En el caso de los lípidos todas las regiones tienen un rango de valores muy similar.

Con el objetivo de tener una mayor perspectiva en los resultados obtenidos, el último paso del análisis involucra la cuantificación de cromóforos mediante un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk. En la Fig. 6.17 se muestran mapas de cuantificación de los cromóforos de interés aplicando un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk.



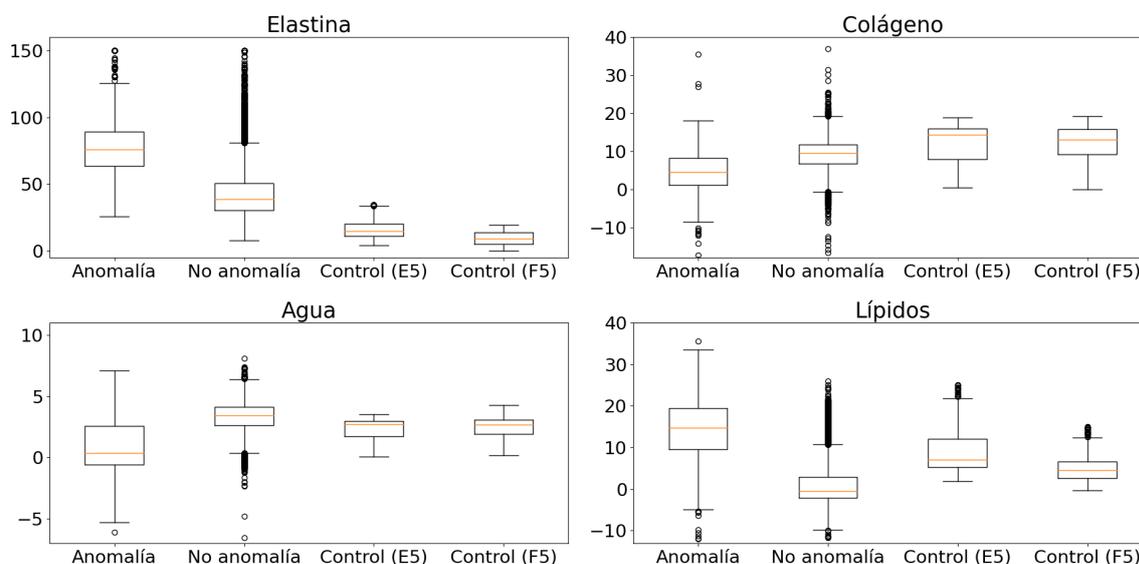
**Figura 6.17:** Mapas de cuantificación de la muestra patológica 2 de los cromóforos de interés, aplicando un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk.

En este caso se puede observar como los mapas no aportan tanta información a primera vista como ocurría en la muestra anterior. Se observan zonas con mayor contenido en algunos cromóforos y otras con menor contenido. Para esclarecer los resultados, se realizan de nuevo los diagramas de caja, en este caso con los valores obtenidos de la cuantificación de cromóforos, distinguiendo las mismas zonas que en el caso anterior. En la Fig. 6.18 se muestran los correspondientes diagramas de caja obtenidos para cada cromóforo a partir de los valores proporcionados por la cuantificación de cromóforos.

En estos diagramas se puede observar una mayor variación en el contenido de la elastina entre las regiones con y sin anomalías, sin embargo los rangos de valores siguen siendo relativamente parecidos.

Por otro lado, en lo que al colágeno se refiere, sí que se observa una disminución donde se han detectado anomalías, pero no lo suficientemente grande como para establecer un umbral de diferencia.

En lo que se refiere al agua, ocurre lo mismo que en el caso del colágeno, únicamente en este caso sí que se observa una mayor diferencia. Es decir, además de una disminución de colágeno también se observa una disminución de agua. Este factor puede ser debido a la patología, aunque también es posible que su estancia y manipulación en el laboratorio resulte en una pequeña deshidratación, a pesar de estar cuidadosamente conservada. En el caso de los lípidos no se observan grandes diferencias, al igual que en los casos anteriores.

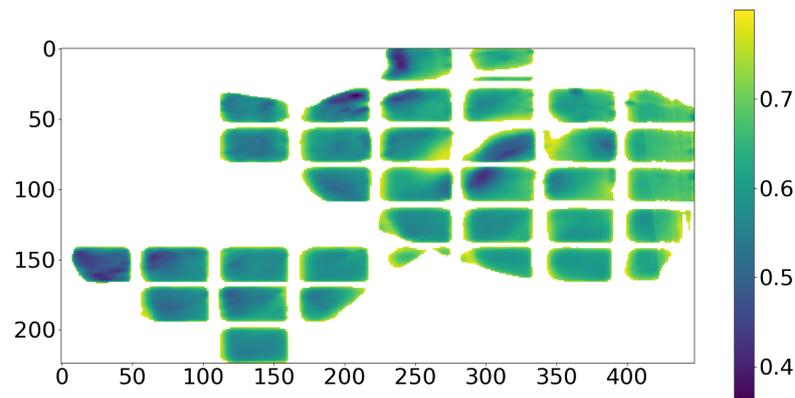


**Figura 6.18:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 2 y las regiones E5 y F5 de control.

En este caso los resultados obtenidos siguen siendo compatibles entre ellos pero son diferentes a los de la anterior muestra patológica analizada, como es de esperar. En este caso la variación espectral no proviene tanto de la elastina sino del colágeno, aún así en este caso no existen variaciones tan significativas como para establecer una clara diferencia entre las zonas no anómalas y anómalas. Además, en esta muestra se pone de manifiesto las limitaciones de la simplificación del modelo de extracción y cuantificación de cromóforos, donde se establece que los coeficientes deben ser mayores que uno. En esta muestra, en la Fig. 6.18 se puede observar como algunos de los valores extremos para los coeficientes del colágeno, agua y lípidos presentan valores negativos, lo que difiere de la hipótesis establecida. De esta manera se manifiesta que el modelo de cuantificación de cromóforos debe ser mejorado, lo que a su vez podría ayudar a la diferenciación de las zonas anómalas y no anómalas, en base a las propiedades espectrales de los cromóforos de interés.

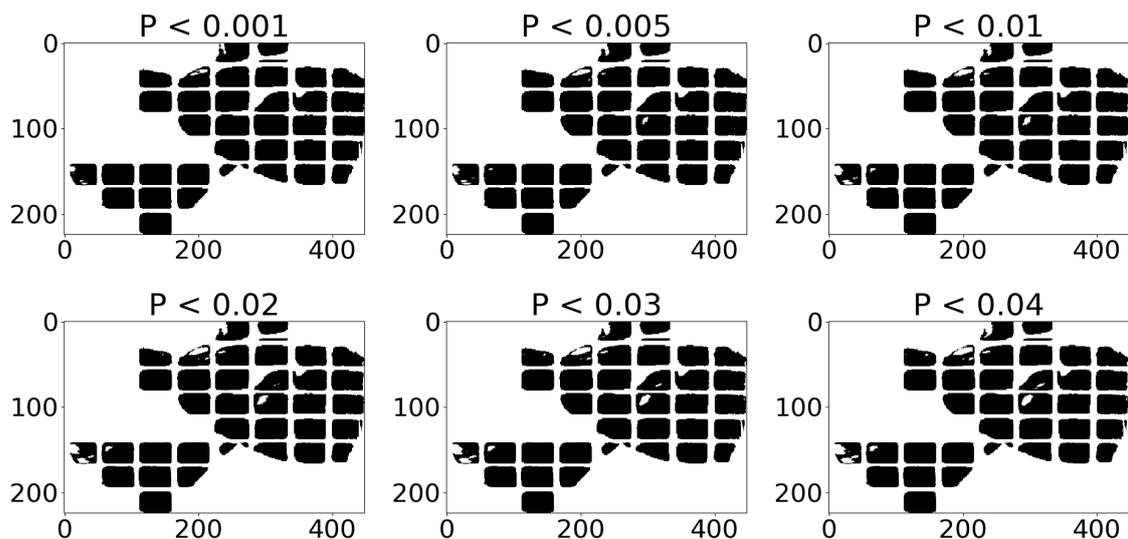
## 6.5 Muestra patológica 3

En la Fig. 6.19 se muestra el espectro promedio de la muestra patológica 3 en las zonas que únicamente contienen tejido, después de haber eliminado la rejilla que aguanta y divide la muestra.



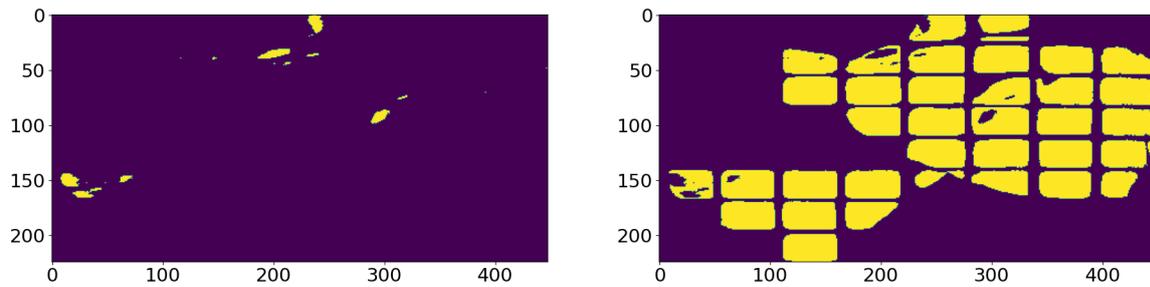
**Figura 6.19:** Espectro promedio de la muestra patológica 3. Se muestran las regiones que contienen únicamente tejido, después de haber eliminado la rejilla que aguanta la muestra.

En la Fig. 6.20 se muestra el resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre la muestra patológica 3. Además, se muestra la evolución de la umbralización en base a la probabilidad de que un píxel sea declarado anómalo respecto al fondo. Se puede observar como al aumentar el umbral aparecen zonas interiores de tejido declaradas como anómalas. De nuevo, el umbral elegido es del 3%.



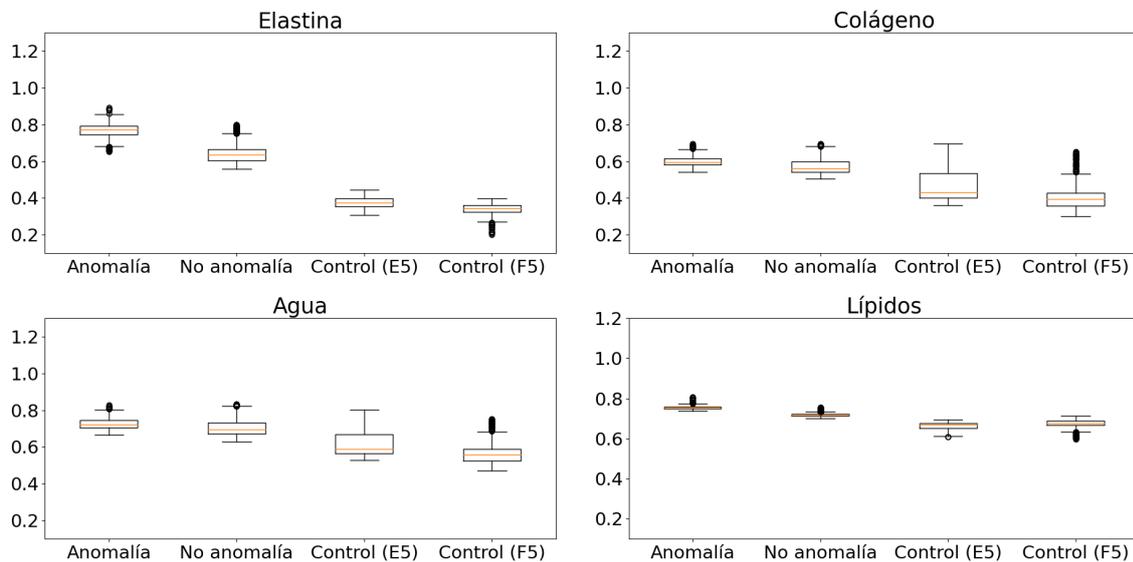
**Figura 6.20:** Resultado de aplicar PCA y el algoritmo RX sobre la muestra patológica 3. Se muestran distintos casos de umbral en base a la probabilidad de que un píxel sea anómalo.

El hecho de que el algoritmo RX detecta un píxel como anómalo se debe simplemente a una probabilidad de distribución respecto al fondo. Por ello, en base a los resultados obtenidos es importante estudiar las propiedades espectrales de los cromóforos de interés de las zonas detectadas como anomalía y de las zonas detectadas como no anomalías. En la Fig. 6.21 se muestran las zonas declaradas anómalas (a) y las zonas declaradas no anómalas (b), de la muestra patológica 3 después de eliminar las zonas que no son tejido (rejilla).



**Figura 6.21:** (a) Zonas de la muestra con tejido declaradas anómala y (b) zonas de la muestra con tejido declaradas no anómalas.

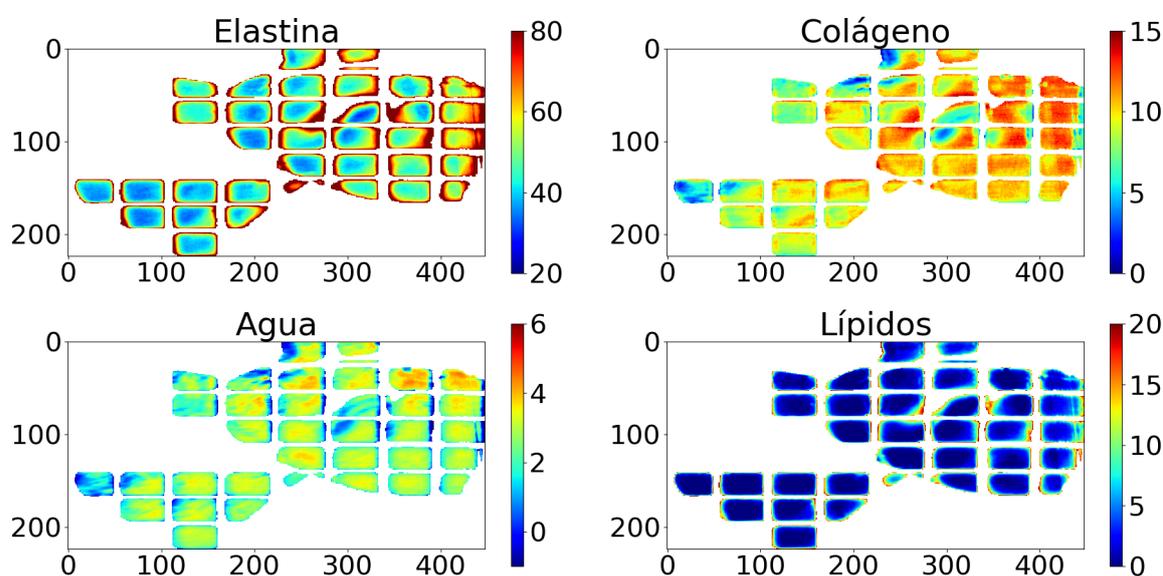
En la Fig. 6.22 se observan los diagramas de caja para cada cromóforo de interés, obtenidos a partir de la distancia calculada mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 3 y las regiones E5 (muestra de control 1) y F5 (muestra de control 2). Puesto que se está utilizando la métrica SAM, un valor cercano a cero indica una mayor correlación con el cromóforo de interés.



**Figura 6.22:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 3 y las regiones E5 y F5 de control.

En la Fig. 6.22 se puede observar como en esta muestra en la zona declarada como no anómala los valores proporcionados por la métrica SAM son menores, indicando una mayor presencia de elastina que en la zona detectada como anómala. La diferencia no es demasiado notable pero se podría llegar a establecer un umbral de diferenciación entre ambas. Por otro lado, para el resto de cromóforos en esta muestra no se observa ninguna variación significativa por lo que el factor determinante de las zonas declaradas como anómalas, para esta muestra, sería la elastina.

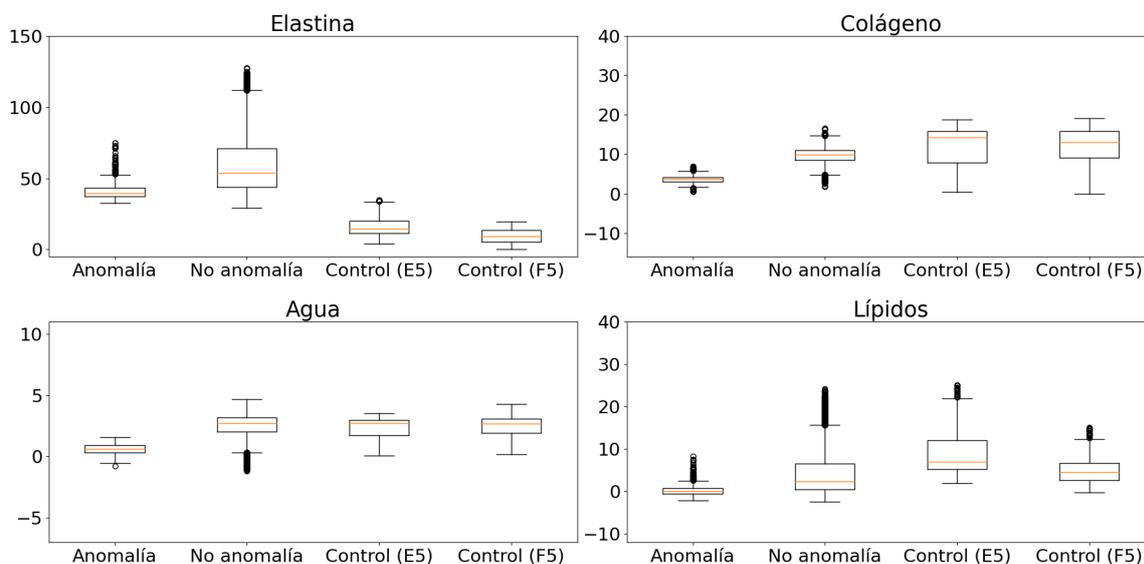
Con el objetivo de tener una mayor perspectiva en los resultados obtenidos, el último paso del análisis involucra la cuantificación de cromóforos mediante un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk. En la Fig. 6.23 se muestran mapas de cuantificación de los cromóforos de interés aplicando un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk.



**Figura 6.23:** Mapas de cuantificación de la muestra patológica 3 de los cromóforos de interés, aplicando un modelo de regresión lineal combinado con el modelo de Kubelka-Munk.

Los resultados obtenidos mediante los mapas de cuantificación aportan una mayor perspectiva a los resultados, como se puede comprobar en el caso del colágeno y el agua. Para los diagramas de caja obtenidos anteriormente no se observaba ninguna diferencia entre las zonas anómalas y las no anómalas, sin embargo, en este caso, se observa una disminución de ambos cromóforos en las zonas detectadas como anomalía, lo que resulta de gran interés. Respecto a la elastina también se observa una ligera disminución pero de manera más difusa y para el caso de los lípidos como ocurre con las otras muestras no hay una variación significativa.

En la Fig. 6.24 se muestran los correspondientes diagramas de caja obtenidos para cada cromóforo a partir de los valores proporcionados por la cuantificación de cromóforos. Se pueden observar diferencias significativas entre estos diagramas de caja y los obtenidos mediante la métrica SAM. Respecto a la elastina no se observan grandes diferencias y sigue sin existir un umbral claro de diferenciación.



**Figura 6.24:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de no anomalía y anomalía de la muestra patológica 3 y las regiones E5 y F5 de control.

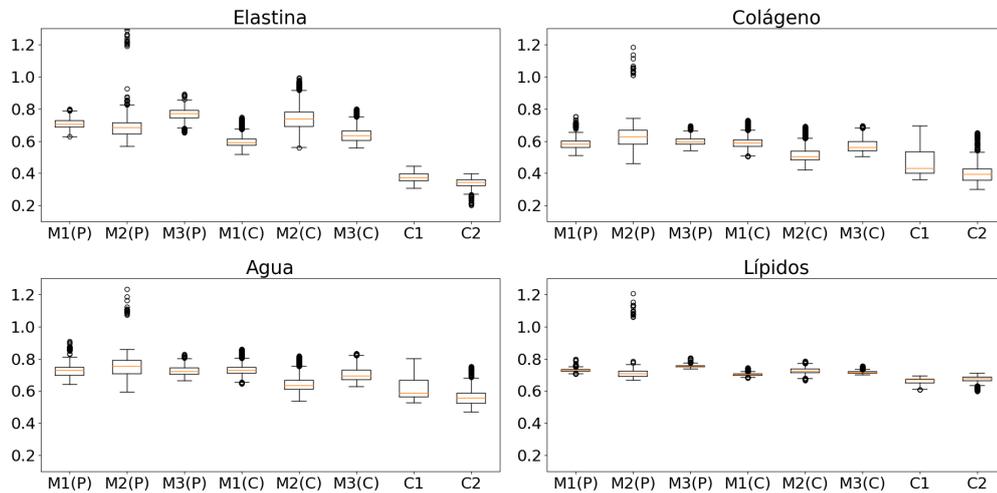
Sin embargo, como se comentaba anteriormente, para el caso del colágeno y el agua si que existe una disminución significativa de ambos cromóforos en la zona declarada como anomalía. Estos resultados son de gran interés puesto que complementan y refuerzan los obtenidos mediante la métrica SAM, además de aportar nueva información que no se observaba en el caso anterior. En este caso, los coeficientes de la extracción de cromóforos están cerca de presentar algún valor negativo, poniendo de manifiesto, nuevamente, las limitaciones del modelo. Sin embargo, los valores negativos son mucho menos que en la muestra anterior, aunque sigue siendo un aspecto a tener en cuenta y mejorar.

Los resultados obtenidos para las tres muestras son compatibles de manera global. En algunos casos existe una disminución significativa de la elastina con la posibilidad de establecer un umbral, mientras que como se comentaba anteriormente, el factor determinante parece ser la disminución del colágeno. Sin embargo, no se puede establecer ninguna conclusión absoluta ya que cada muestra tiene una naturaleza distinta, y los mecanismos de cada patología son diferentes. Con carácter general, se puede establecer que en las muestras patológicas de aorta se observa una disminución en los cromóforos que la componen, especialmente del colágeno y en menor grado de la elastina.

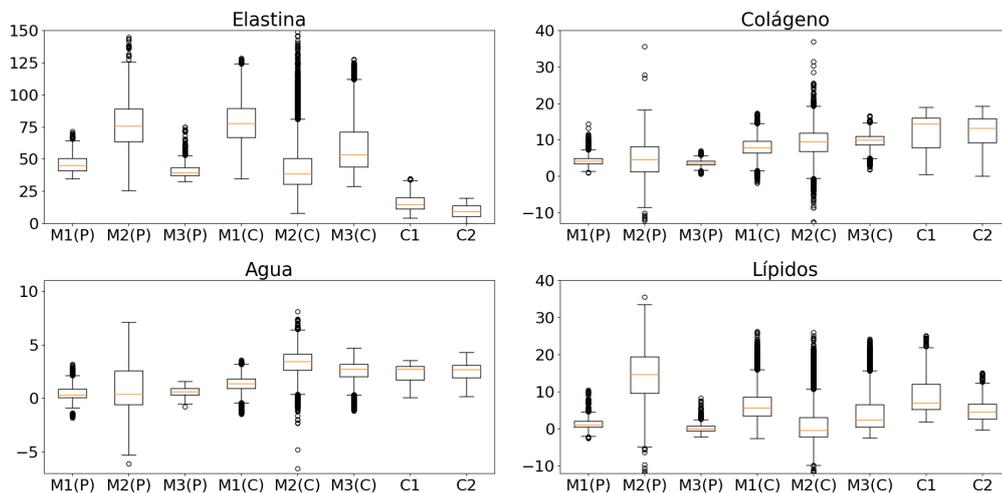
## Resumen de muestras

Para aportar una perspectiva global de todas las muestras analizadas, en la Fig. 6.25 se muestran los diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM, para todas las muestras patológicas (M1, M2, M3) y de control (C1, C2) en conjunto.

Además, en la Fig. 6.26 se muestran los diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos, para todas las muestras patológicas y de control en conjunto.



**Figura 6.25:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de anomalía (denotadas por la letra P, de patología) y las zonas de no anomalía (denotadas por la letra C, de control) para las muestras patológicas. Además de muestran las muestras de control.



**Figura 6.26:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de anomalía (denotadas por la letra P, de patología) y las zonas de no anomalía (denotadas por la letra C, de control) para las muestras patológicas. Además de muestran las muestras de control.

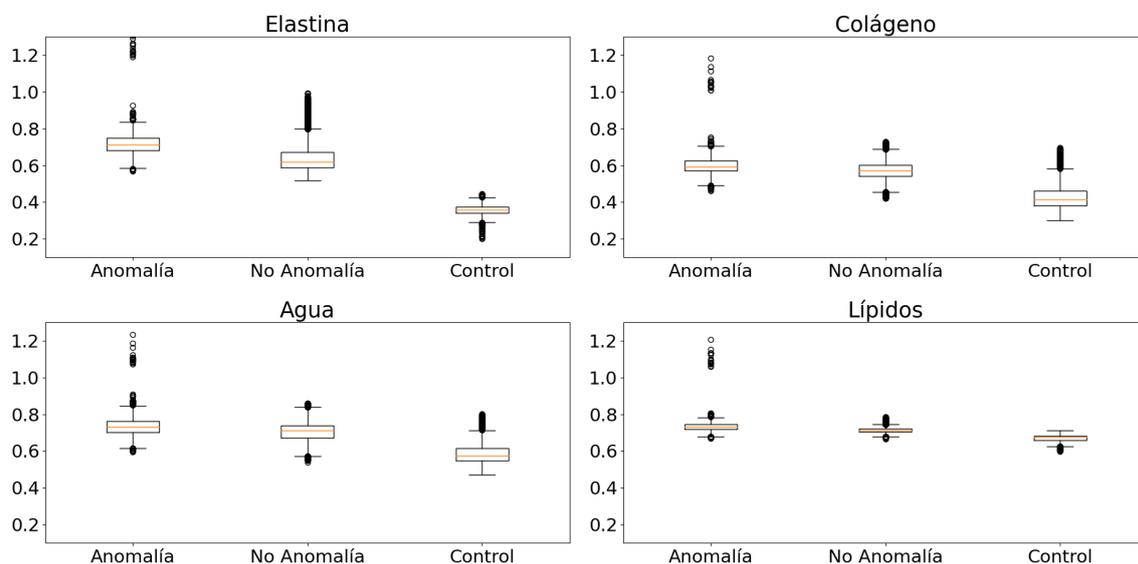
De manera global se puede observar como los resultados proporcionados por la métrica SAM no son suficientes, ya que los valores de las zonas anómalas de las muestras patológicas son similares a los de control. Por otro lado, el modelo de cuantificación de cromóforos proporciona unos resultados satisfactorios, que muestran una mayor variación en la presencia de los cromóforos.

Para la muestra patológica 1, los resultados proporcionados por la métrica SAM únicamente muestran una disminución en el contenido de la elastina en las zonas anómalas, mientras que en el modelo de cuantificación de cromóforos también se observa una disminución significativa del contenido en colágeno, y en menor grado en el contenido de agua y lípidos.

Para la muestra patológica 2, los resultados proporcionado por la métrica SAM muestran ligeras disminuciones en el contenido de colágeno y agua en las zonas anómalas. En el modelo de extracción de cromóforos se pone de manifiesto nuevamente una disminución en el contenido de colágeno y agua en las zonas anómalas, aunque con las limitaciones comentadas anteriormente respecto al modelo utilizado.

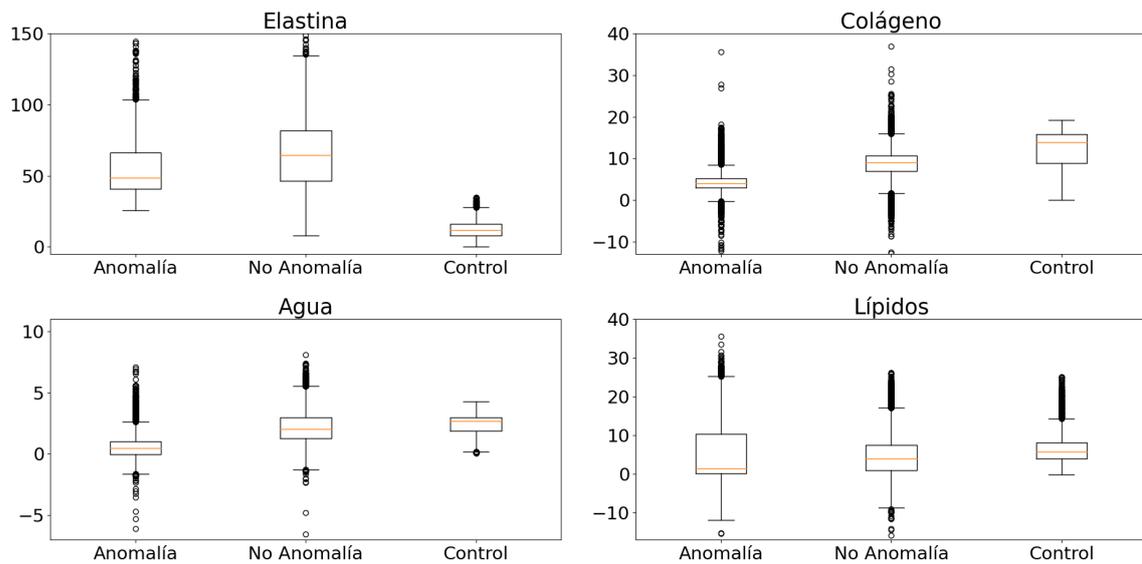
Por último, en la muestra patológica 3, los resultados proporcionados por la métrica SAM únicamente muestra una disminución del contenido en elastina en las zonas anómalas, mientras que el modelo de cuantificación de cromóforos también revela una disminución del contenido de colágeno y en menor medida de agua.

Con el objetivo de comparar los resultados obtenidos de manera global, en la Fig. 6.27 se muestran los diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En este diagrama se diferencian tres cajas, la primera corresponde con los datos de todas las muestras patológicas donde hay anomalías, la segunda con las zonas donde no hay anomalías y la última con las dos regiones de control juntas.



**Figura 6.27:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando la distancia obtenida mediante la métrica SAM. En cada diagrama se distinguen las zonas de anomalía y de no anomalía de las muestras patológicas de manera conjunta para todas las muestras. También se muestran las dos regiones de control de manera conjunta.

En la Fig. 6.28 se muestran los diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En este diagrama se diferencian tres cajas, la primera corresponde con los datos de todas las muestras patológicas donde hay anomalías, la segunda con las zonas donde no hay anomalías y la última con las dos regiones de control juntas.



**Figura 6.28:** Diagramas de caja para cada cromóforo de interés utilizando los valores proporcionados por los algoritmos de cuantificación de cromóforos. En cada diagrama se distinguen las zonas de anomalía y de no anomalía de las muestras patológicas de manera conjunta para todas las muestras. También se muestran las dos regiones de control de manera conjunta.

En la Fig. 6.28 se pone de manifiesto, de nuevo, como el colágeno parece el único cromóforo con un comportamiento coherente y consistente, disminuyendo su concentración en las zonas de las muestras patológicas donde hay anomalías. Respecto a la elastina hay varios hechos a tener en cuenta. En la Fig. 6.28 parece que tanto las zonas anómalas como las no anómalas de las muestras patológicas tienen mayor contenido en elastina que las zonas de control. Este no sería el comportamiento esperado, y quizá pueda deberse a algún mecanismo que todavía no se comprende de manera adecuada. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el coeficiente de absorción de la elastina no está medido en todo el rango SWIR, por lo que esa falta de datos puede tener repercusión en los resultados obtenidos mediante el modelo de cuantificación de cromóforos.

## 7 Conclusiones y trabajo futuro

En este trabajo se han utilizado cubos de datos hiperespectrales de dos muestras de control y tres muestras patológicas de aorta con el objetivo de establecer una identificación ciega de anomalías en tejido cardiovascular, produciendo una máscara de segmentación de las mismas, además de entender los mecanismos de las mismas mediante el comportamiento de los cromóforos de interés (elastina, colágeno, agua y lípidos). En todos los casos se ha aplicado el algoritmo RX, sobre un preprocesado PCA de los espectros, como detector de anomalías, el cual se basa en la distancia de Mahalanobis. Los resultados obtenidos mediante este algoritmo muestran un resultado coherente en todas las muestras, delimitando correctamente las zonas anómalas en cada muestra. Sin embargo, hay que tener en cuenta la correcta umbralización en cada caso. En este trabajo se ha elegido un 3% como probabilidad de anomalía, pero mediante el análisis de más muestras esta umbralización se podría refinar para elegir una más óptima, teniendo en cuenta que si la umbralización es demasiado alta, es decir, se elige una baja probabilidad de anomalía, quizá no se delimiten correctamente todas las zonas declaradas como anómalas. Por otro lado, si la umbralización es demasiado baja, es decir, se elige una alta probabilidad de anomalía, la mayor parte de la muestra será declarada anómala. Además hay que tener en cuenta el posible ruido que presente cada muestra.

Puesto que el algoritmo RX tiene un carácter estadístico, que un píxel se declare como anómalo no significa que lo sea, por ello, se ha llevado a cabo un análisis de las propiedades espectrales de los cromóforos de interés. En primer lugar se ha utilizado la métrica SAM, ya que es una métrica comúnmente usada y de gran utilidad, para realizar un diagrama de caja por cada cromóforo, con la distancia entre el espectro del píxel y el espectro del cromóforo proporcionada por dicha métrica. Los resultados obtenidos en este caso son similares para las muestras patológicas 1 y 3, donde se observa una disminución de la elastina en las zonas declaradas anómalas, mientras que no se observa ninguna variación significativa para el resto de cromóforos. Para la muestra patológica 2, se observa una disminución del colágeno en las zonas declaradas como anómalas y en menor medida también del agua, mientras que para el resto de los cromóforos no se observa una variación significativa. En este aspecto, una exploración de otros tipos de métricas también podría arrojar información de utilidad y ayudar a tener mayor precisión a la hora de distinguir variaciones en las concentraciones de los cromóforos.

Para proporcionar una mayor perspectiva a los resultados obtenidos se ha utilizado un modelo de extracción y cuantificación de cromóforos y el modelo de reflectancia difusa de Kubelka-Munk. Con los coeficientes obtenidos se han elaborado de nuevo unos diagramas de caja para cada cromóforo. En este caso los resultados mejoran notablemente. Para la muestra patológica 1, donde anteriormente solo se había observado una disminución de la presencia de elastina (que en este caso también se observa), mediante este modelo se puede observar también una disminución significativa en el colágeno y en menor grado en el agua y los lípidos.

En la muestra patológica 2 se observa una disminución en el colágeno y unas variaciones menos significativas en el resto de cromóforos.

En este caso los resultados tienen menos validez puesto que en el modelo se parte de la hipótesis de que los coeficientes deben ser mayores que cero, mientras que parte de los coeficientes obtenidos para los cromóforos de esta muestra tienen valores negativos. De esta manera se ponen de manifiesto las limitaciones del modelo simplificado utilizado, ya que sería necesario utilizar un modelo más sofisticado el cual pueda mejorar los resultados y quizá ayude a establecer diferencias significativas en la cuantificación de cromóforos. En la muestra patológica 3, además de una ligera disminución de elastina, se observa una importante disminución de colágeno en las zonas anómalas y en menor medida de agua. Especialmente en las muestras 1 y 3 se manifiesta la falta de información proporcionada por las métricas y como el modelo de extracción de cromóforos aporta información relevante.

Finalmente, señalar que a pesar de las simplificaciones realizadas, la aplicación del algoritmo RX para la detección de anomalías ha resultado satisfactorio. Además, se ha podido arrojar información sobre el comportamiento de los cromóforos comparando las zonas anómalas con las no anómalas, estableciendo una disminución de colágeno como el factor determinante, seguido de la elastina. En este trabajo se ha pretendido reunir unas bases para el análisis de anomalías en muestras de aorta y entender el comportamiento de los cromóforos que la componen. Sin embargo, quedan aspectos por entender y para ello será necesario analizar más muestras y la aplicación de análisis y algoritmos más sofisticados.

A raíz de los métodos empleados en este trabajo y los resultados obtenidos, el trabajo futuro a realizar sería:

- **Sofisticación del algoritmo RX.** En este trabajo se ha utilizado la versión lineal del algoritmo RX, pero existen sofisticaciones basadas en modelos no lineales las cuales podrían ayudar a la detección de anomalías y simplificar la umbralización. En este enfoque de mayor complejidad, el tiempo de cálculo se eleva significativamente.
  - **Implementación de más métricas.** En este trabajo se ha utilizado la métrica SAM para evaluar la presencia de cromóforos. Sin embargo, los resultados que proporcionaba no eran ideales, a pesar de ser una métrica de uso extendido. En los inicios del trabajo se probó el uso de otras métricas pero se decidió utilizar SAM por el interés que aporta. Sin embargo, una revisión más precisa de otras métricas más sofisticadas podría arrojar información complementaria.
  - **Sofisticación del modelo de extracción de cromóforos.** En este trabajo se ha utilizado un modelo lineal y simplificado para la cuantificación de cromóforos, complementado con el modelo de reflectancia difusa de Kubelka-Munk. Como se ha comentado, los resultados proporcionados son de gran interés a pesar de su sencillez, aunque presenta algunas limitaciones. Por ello, un modelo más sofisticado podría ayudar a esclarecer los resultados y establecer mayores diferencias significativas en los cromóforos de interés.
  - **Uso de otros algoritmos.** Por otro lado, el uso de técnicas de machine learning, más sofisticadas que los métodos empleados en este trabajo, pueden mejorar los resultados obtenidos y aportar información relevante sobre la cuantificación de los cromóforos de interés.
-

## Bibliografía

- [1] J M Schmitt, A Knüttel, M Yadlowsky, and M A Eckhaus. Optical-coherence tomography of a dense tissue: statistics of attenuation and backscattering. *Physics in Medicine and Biology*, 39(10):1705–1720, oct 1994.
- [2] Audra A. Noel, Peter Gloviczki, Kenneth J. Cherry, Thomas C. Bower, Jean M. Paneton, Geza I. Mozes, William S. Harmsen, Gregory D. Jenkins, and John W. Hallett. Ruptured abdominal aortic aneurysms: The excessive mortality rate of conventional repair. *Journal of Vascular Surgery*, 34(1):41 – 46, 2001.
- [3] Ying H. Shen and Scott A. LeMaire. Molecular pathogenesis of genetic and sporadic aortic aneurysms and dissections. *Current Problems in Surgery*, 54(3):95 – 155, 2017.
- [4] Kazuyuki Yahagi, Maria Romero, and Renu Virmani. Vascular diseases: aortitis, aortic aneurysms, and vascular calcification. *Cardiovascular Pathology*, 25, 07 2016.
- [5] F.J. Serrano Hernando, I. Martínez López, S. Revuelta Suero, and M. Hernández Mateo. Enfermedades de la aorta. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(41):2419 – 2432, 2017. Enfermedades cardiológicas (VII) Enfermedades vasculares.
- [6] Valery Tuchin. Tissue optics and photonics: Light-tissue interaction. *Journal of Biomedical Photonics Engineering*, 1:98–134, 06 2015.
- [7] Guolan Lu and Baowei Fei. Medical hyperspectral imaging: A review. *Journal of Biomedical Optics*, 19:10901, 01 2014.
- [8] M. Kuniyil Ajith Singh. *Identification and elimination of reflection artifacts in biomedical photoacoustic imaging*. PhD thesis, University of Twente, 12 2016.
- [9] Wai Fung Cheong. *Photo-thermal processes in tissue irradiated by Nd::YAG laser (1064nm, 1320 nm)*. PhD thesis, Univ. of Texas at Austin, 1990.
- [10] Matthias Essenpreis. *Thermally induced changes in optical properties of biological tissues*. PhD thesis, University of London, 1992.
- [11] Marleen Keijzer, Rebecca Richards-Kortum, Steven Jacques, and Michael Feld. Fluorescence spectroscopy of turbid media: Autofluorescence of the human aorta. *Applied Optics*, 28:4286–92, 10 1989.
- [12] Alexander A. Oraevsky, Steven L. Jacques, George H. Pettit, Iyad S. Saidi, Frank K. Tittel, and Philip D. Henry. Xecl laser ablation of atherosclerotic aorta: Optical properties and energy pathways. *Lasers in Surgery and Medicine*, 12(6):585–597, 1992.

- 
- [13] G. Yoon, A. Welch, M. Motamedi, and M. v. Gemert. Development and application of three-dimensional light distribution model for laser irradiated tissue. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 23(10):1721–1733, 1987.
- [14] Martin J.C. van Gemert, Ruud Verdaasdonk, Edmond G. Stassen, Gert A.C.M. Schets, Geert H.M. Gijssbers, and Johannes J. Bonnier. Optical properties of human blood vessel wall and plaque. *Lasers in Surgery and Medicine*, 5(3):235–237, 1985.
- [15] F. W. Cross, R. K. Al-Dhahir, P. E. Dyer, and A. J. MacRobert. Time-resolved photoacoustic studies of vascular tissue ablation at three laser wavelengths. *Applied Physics Letters*, 50(15):1019–1021, 1987.
- [16] Hany Kasban, Mohsen El-bendary, and Dina Salama. A comparative study of medical imaging techniques. *International Journal of Information Science and Intelligent System*, 4:37–58, 04 2015.
- [17] Eusebio Real Peña. *Fotónica y técnicas de interpretación aplicadas al diagnóstico de patologías cardiovasculares y dermatológicas*. PhD thesis, Universidad de Cantabria, 6 2017.
- [18] Yoko Hoshi M.D. and Yukio Yamada. Overview of diffuse optical tomography and its clinical applications. *Journal of Biomedical Optics*, 21(9):1 – 11, 2016.
- [19] A F Fercher, W Drexler, C K Hitzenberger, and T Lasser. Optical coherence tomography - principles and applications. *Reports on Progress in Physics*, 66(2):239–303, jan 2003.
- [20] Mihaela Antonina Calin, Sorin Viorel Parasca, Dan Savastru, and Dragos Manea. Hyperspectral imaging in the medical field: Present and future. *Applied Spectroscopy Reviews*, 49(6):435–447, 2014.
- [21] Laura Dale, André Thewis, Christelle Boudry, Ioan Rotar, Pierre Dardenne, V. Baeten, and Juan Fernández Pierna. Hyperspectral imaging applications in agriculture and agro-food product quality and safety control: A review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 48:142, 01 2013.
- [22] Freek Meer, Harald van der Werff, F.J.A. Ruitenbeek, Christoph Hecker, Wim Bakker, Marleen Noomen, Mark Meijde, Emmanuel John Carranza, Boudewijn de Smeth, and Tsehaie Woldai. Multi-and hyperspectral geologic remote sensing: A review. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 14:112–128, 02 2012.
- [23] Peter Yuen and Mark Richardson. An introduction to hyperspectral imaging and its application for security, surveillance and target acquisition. *The Imaging Science Journal*, 58:241–253, 10 2010.
- [24] Keith Hege, Dan O’Connell, William Johnson, Shridhar Basty, and Eustace Dereniak. Hyperspectral imaging for astronomy and space surveillance. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 5159, 01 2004.
-

- 
- [25] Hannu Holma, Timo Hyvärinen, Antti-Jussi Mattila, and Ilkka Kormano. Thermal hyperspectral chemical imaging. In Mark A. Druy and Richard A. Crocombe, editors, *Next-Generation Spectroscopic Technologies V*, volume 8374, pages 111 – 122. International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2012.
- [26] Helmi Shafri and ebrahim tahezadeh. Hyperspectral remote sensing of urban areas: An overview of techniques and applications. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, 4:1557–1565, 06 2012.
- [27] Leopoldo Cancio, Andriy Batchinsky, James Mansfield, Svetlana Panasyuk, Katherine Hetz, David Martini, Bryan Jordan, Brian Tracey, and Jenny Freeman. Hyperspectral imaging: A new approach to the diagnosis of hemorrhagic shock. *The Journal of Trauma*, 60:1087–95, 06 2006.
- [28] Jason A. Chin, Edward C. Wang, and Melina R. Kibbe. Evaluation of hyperspectral technology for assessing the presence and severity of peripheral artery disease. *Journal of Vascular Surgery*, 54(6):1679 – 1688, 2011.
- [29] Peter Usenik, Miran Bürmen, Aleš Fidler, Franjo Pernuš, and Boštjan Likar. Evaluation of cross-polarized near infrared hyperspectral imaging for early detection of dental caries. In *Lasers in Dentistry XVIII*, volume 8208, pages 85 – 91. International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2012.
- [30] Francisco Blanco, Montserrat Lopez-Mesas, Manuel Valiente, Silvia Serranti, Giuseppe Bonifazi, and Josef Havel. Hyperspectral imaging based method for fast characterization of kidney stone types. *Journal of Biomedical Optics*, 17(7):1 – 13, 2012.
- [31] Ron Martin, Boris Thies, and Andreas Gerstner. Hyperspectral hybrid method classification for detecting altered mucosa of the human larynx. *International Journal of Health Geographics*, 11:21, 06 2012.
- [32] Konstantin Sokolov, Michele Follen, and Rebecca Kortum. Optical spectroscopy for detection of neoplasia. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6:651–8, 11 2002.
- [33] Jason Chin, Edward Wang, and Melina Kibbe. Evaluation of hyperspectral technology for assessing the presence and severity of peripheral artery disease. *Journal of Vascular Surgery*, 54:1679–88, 07 2011.
- [34] Eivind Larsen, Lise Lyngsnes Randeberg, Elisabeth Olstad, Olav Haugen, Astrid Aksnes, and Lars Svaasand. Hyperspectral imaging of atherosclerotic plaques in vitro. *Journal of Biomedical Optics*, 16:026011, 02 2011.
- [35] William Johnson, Daniel Wilson, Wolfgang Fink, Mark Ph.D, and Greg Bearman. Snapshot hyperspectral imaging in ophthalmology. *Journal of Biomedical Optics*, 12:014036, 01 2007.
- [36] Julia Schweizer, Julia Hollmach, Gerald Steiner, Lilla Knels, Richard H. W. Funk, and Edmund Koch. Hyperspectral imaging - a new modality for eye diagnostics. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*, 57:293 – 296, 06 Sep. 2012.
-

- 
- [37] Minghua Xu and Lihong Wang. Photoacoustic imaging in biomedicine. *Review of Scientific Instruments*, 77, 04 2006.
- [38] Rongxiao Zhang, Alisha Dsouza, Jason Gunn, Tatiana Esipova, Sergei Vinogradov, Adam Glaser, Lesley Jarvis, David Gladstone, and Brian Pogue. Cherenkov-excited luminescence scanned imaging. *Optics Letters*, 40:827–830, 03 2015.
- [39] I. S. Reed and X. Yu. Adaptive multiple-band cfar detection of an optical pattern with unknown spectral distribution. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing*, 38(10):1760–1770, 1990.
- [40] M.J. Canty. *Image Analysis, Classification and Change Detection in Remote Sensing: With Algorithms for ENVI/IDL and Python, Third Edition*. Taylor & Francis, 2014.
- [41] D. Heinz, C. . Chang, and M. L. G. Althouse. Fully constrained least-squares based linear unmixing [hyperspectral image classification]. In *IEEE 1999 International Geoscience and Remote Sensing Symposium. IGARSS'99 (Cat. No.99CH36293)*, volume 2, pages 1401–1403 vol.2, 1999.
- [42] William Vargas. Light scattering and absorption by non homogeneous materials: The kubelka-munk model. *Optica Pura y Aplicada*, 44:163, 01 2011.
- [43] P. Jagalingam and Arkal Vittal Hegde. A review of quality metrics for fused image. *Aquatic Procedia*, 4:133 – 142, 2015.
- [44] Liviu Zoran. Quality evaluation of multiresolution remote sensing images fusion. *UPB Sci Bull Series C*, 71, 01 2009.
- [45] Luciano Alparone, Lucien Wald, Jocelyn Chanussot, Claire Thomas, Paolo Gamba, and Lori Bruce. Comparison of pansharpening algorithms: Outcome of the 2006 grs-s data fusion contest. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 45:3012–3021, 10 2007.
- [46] Yuhendra Yusuf, Josaphat Sri Sumantyo, and Hiroaki Kuze. Spectral information analysis of image fusion data for remote sensing applications. *Geocarto International*, 28:1–20, 01 2012.
- [47] Dr. VPS Naidu. Discrete cosine transform-based image fusion. *Defence Science Journal*, 60:48–54, 01 2010.
- [48] Yuhendra Yusuf, Ilham Alimuddin, Josaphat Sri Sumantyo, and Hiroaki Kuze. Assessment of pan-sharpening methods applied to image fusion of remotely sensed multi-band data. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 18:165–175, 08 2012.
- [49] X. X. Zhu and R. Bamler. A sparse image fusion algorithm with application to pansharpening. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 51(5):2827–2836, 2013.
-

- [50] Zhou Wang, Alan Bovik, Hamid Sheikh, and Eero Simoncelli. Image quality assessment: From error visibility to structural similarity. *IEEE Transactions on Image Processing*, 13(4):600 – 612, 05 2004.
  - [51] José Gutiérrez-Gutiérrez, Arturo Pardo, Eusebio Real, J.M. López-Higuera, and Olga M Conde. Custom scanning hyperspectral imaging system for biomedical applications: Modeling, benchmarking, and specifications. *Sensors*, 19:1692, 04 2019.
  - [52] José A. Gutiérrez, Eusebio Real, Arturo Pardo, José M. López-Higuera, and Olga M. Conde. Fusion of oct and hyperspectral imaging for tissue diagnosis and assessment. In *Clinical Biophotonics*, volume 11362, pages 7 – 15. SPIE, (13 April 2020).
  - [53] P. B. Dobrin and R. Mrkvicka. Failure of elastin or collagen as possible critical connective tissue alterations underlying aneurysmal dilatation. *Cardiovascular Surgery*, 2(4):484–488, 1994.
-