

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo de Fin de Máster

Tomografía de coherencia óptica aplicada al
diagnóstico de aneurismas de aorta torácica
(Optical coherence tomography applied to thoracic
aortic aneurysm diagnosis)

Para acceder al Título de

Máster en Tecnologías de la Información y
Comunicaciones en Redes Móviles (TICRM)

Autor: Eusebio Real Peña

Julio - 2013

MÁSTER EN TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN Y COMUNICACIONES EN REDES MÓVILES (TICRM)

DOCUMENTO 3 – ACTA DE CALIFICACIÓN

Estudiante (nombre y apellidos): **Eusebio Real Peña**

Director/es del Trabajo de Fin de Máster (nombre y apellidos): **Olga M^a Conde Portilla**

Título: **Tomografía de coherencia óptica aplicada al diagnóstico de aneurismas de aorta torácica**

Title: **Optical coherence tomography applied to thoracic aortic aneurysm diagnosis**

Presentado a examen el día: de de

COMPOSICIÓN DEL TRIBUNAL

Presidente (Apellidos, Nombre):

Secretario (Apellidos, Nombre):

Vocal (Apellidos, Nombre):

Este tribunal ha resuelto otorgar la calificación de:

Fdo.: El Presidente	Fdo.: El Secretario
Fdo.: <input type="checkbox"/> El Vocal <input type="checkbox"/> El Coordinador del máster	Fdo.: El Director del TFM

Palabras clave

Aneurisma de aorta torácica, aorta, pared arterial, in vitro, tomografía de coherencia óptica, OCT, SS-OCT, análisis textural, ajuste exponencial, ajuste polinómico, clasificación, ROC, sensibilidad, especificidad.

Thoracic aortic aneurysm, aorta, arterial wall, ex vivo, optical coherence tomography, OCT, SS-OCT, exponential fitting, polynomial fitting, classification, ROC, sensitivity, specificity.

Agradecimientos

Durante la realización de este trabajo de fin de máster he tenido la oportunidad de trabajar con verdaderos profesionales del ámbito médico y del ámbito de la investigación. En especial, quiero agradecer a *Olga* como directora de este trabajo y a *Alma* como compañera de investigación durante estos meses. He aprendido mucho a vuestro lado.

También quiero agradecer la colaboración de todos los compañeros del *Grupo de Ingeniería Fotónica*, ya que todos ellos sin excepción son unos grandes profesionales y grandes compañeros de labor.

Con los compañeros de máster he pasado muchas horas en *skype*, y con mis amigos *Warren*, *Morsa* y *Xtian* he compartido buenos cafés, aunque al final resultan siempre pocos.

Por último y muy importante, gracias a *Laura*, mi *paciente de referencia*, por estar siempre ahí.

Acrónimos

Términos del ámbito médico

AB	Alcian Blue
AAA	Aneurisma de la Aorta Abdominal
AAT	Aneurisma de la Aorta Torácica
ASMA	Actina Alfa de Musculo Liso, de sus siglas en inglés <i>Alpha-Smooth Muscle Actin</i>
ATA	Aneurisma Toracoabdominal
ETE	Ecografía Transesofágica
ETT	Ecografía Transtorácica
H&E	Hematoxilina y Eosina
IVUS	Ultrasonidos intravasculares, de sus siglas en inglés <i>Intravascular Ultrasounds</i>
RM	Resonancia Magnética
SAA	Síndrome Aórtico Agudo
TAC	Tomografía Axial Computerizada
TC	Tomografía Computerizada
US	Ultrasonidos
VVG	<i>Verhoeff-Van Gieson</i>

Términos del ámbito de ingeniería

A-scan	Escaneo de OCT en una dimensión
AUC	Área bajo la curva, de sus siglas en inglés <i>Area Under Curve</i>
B-scan	Escaneo de OCT en dos dimensiones
C-scan	Escaneo de OCT en tres dimensiones
FD-OCT	Tomografía de coherencia óptica en el dominio de Fourier, de sus siglas en inglés <i>Fourier Domain-Optical Coherence Tomography</i>
<i>FWHM</i>	Anchura completa a altura mitad, de sus siglas en inglés <i>Full Width Half Maximum</i>
GLCM	Matriz de co-ocurrencia en niveles de grises, de sus siglas en inglés <i>Grey Level Co-occurrence Matrix</i>
<i>IQR</i>	Rango intercuartil, de sus siglas en inglés <i>Interquartile Range</i>
OCT	Tomografía de coherencia óptica, de sus siglas en inglés <i>Optical Coherence Tomography</i>
PS-OCT	Tomografía de coherencia óptica sensible a la polarización, de sus siglas en inglés <i>Polarization Sensitive-Optical Coherence Tomography</i>
Q3	Cuartil superior o tercer cuartil, del inglés <i>Quartile</i>
ROC	Característica operativa del receptor, de sus siglas en inglés <i>Receiver Operating Characteristic</i>
SD-OCT	Tomografía de coherencia óptica en el dominio espectral, de sus siglas en inglés <i>Spectral Domain-Optical Coherence Tomography</i>
SNR	Relación señal ruido, de sus siglas en inglés <i>Signal to Noise Ratio</i>
SS-OCT	Tomografía de coherencia óptica con fuente de barrido, de sus siglas en inglés <i>Swept Source-Optical Coherence Tomography</i>
TD-OCT	Tomografía de coherencia óptica en el dominio temporal, de sus siglas en inglés <i>Time Domain-Optical Coherence Tomography</i>

Tabla de contenido

Capítulo 1 Introducción	7
1.1 Introducción y motivación.....	8
1.2 Objetivos.....	13
1.3 Estructura del documento.....	13
Capítulo 2 Aneurisma de aorta	15
2.1 Anatomía e histología de la aorta.....	16
2.2 Aneurisma de aorta.....	17
2.3 Otras patologías de la aorta.....	23
2.4 Técnicas histológicas.....	24
2.5 Muestras de aorta analizadas.....	25
Capítulo 3 Tomografía de coherencia óptica	27
3.1 Introducción.....	28
3.2 Interferometría de baja coherencia.....	30
3.3 Tomografía de coherencia óptica.....	34
3.3.1 OCT en el dominio temporal (TD-OCT).....	38
3.3.2 OCT en el dominio de Fourier (FD-OCT).....	40
3.3.3 OCT sensible a la polarización (PS-OCT).....	43
3.4 Descripción del equipo OCT utilizado.....	44
Capítulo 4 Técnicas de procesado	47
4.1 Pre-procesado.....	48
4.1.1 Ruido y artefactos de medida.....	48
4.1.2 Detección de interfaces.....	49
4.1.3 Segmentación de la capa íntima.....	52
4.2 Procesado en 1D: ajuste por coeficientes.....	53
4.3 Procesado en 2D: análisis textural.....	54
4.4 Criterios de detección.....	56
Capítulo 5 Resultados	58
5.1 Protocolo de manejo de las muestras y medida.....	59
5.2 Registro de medidas.....	60
5.3 Comparativa de histología con OCT.....	61
5.4 Detección de aneurisma.....	62
5.4.1 Ajuste exponencial y polinómico.....	62
5.4.2 Análisis textural.....	65
Capítulo 6 Conclusiones y líneas futuras	69
6.1 Conclusiones.....	70
6.2 Líneas futuras.....	71
Bibliografía	73
Índice de figuras	76

Capítulo 1

Introducción

1.1 Introducción y motivación

En la actualidad las enfermedades del sistema circulatorio son la principal causa de muerte en España, causando un 30% de los fallecimientos en el año 2011 [1]. Dentro de las enfermedades del sistema cardiovascular, las afecciones de la arteria aorta tienen una gran relevancia dada su dificultad diagnóstica, dificultad de tratamiento y alta mortalidad. En torno al 9% de la población mayor de 65 años sufre de un aneurisma abdominal [2] y entre 5,9 y 10,4 de cada 100.000 personas cada año sufre un aneurisma torácico [3]. El aneurisma torácico causa una mortalidad del 11,8% anual y el caso de rotura de aneurisma abdominal, la tasa de fallecimiento es del 50% [3], además, cerca del 25% de dichos pacientes fallece antes de llegar al hospital. La supervivencia de estos pacientes depende del diagnóstico y la realización de la intervención quirúrgica, que conlleva también un alto riesgo para el paciente. En función del centro y equipo médico que realiza la operación la tasa de mortalidad es cercana al 4% debido a diferentes complicaciones en la intervención [4].

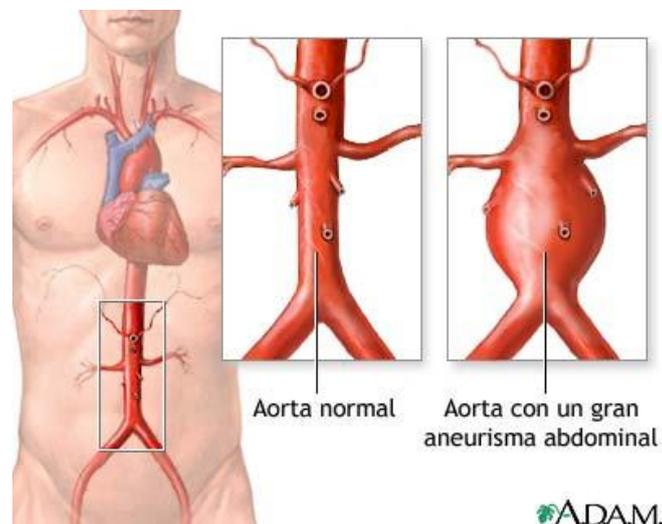


Figura 1.1 Representación de la aorta en el cuerpo humano y comparativa de una aorta abdominal sana y otra con un aneurisma abdominal. Fuente: [5].

La aorta es la principal arteria del cuerpo humano, se extiende desde el corazón hasta el abdomen y tiene como objetivo la difusión de la sangre oxigenada desde el corazón hasta el resto de arterias que riegan el cuerpo. El régimen de trabajo de esta arteria se caracteriza por el gran flujo sanguíneo y la alta presión a que está sometida, la cual se produce a ráfagas en los ciclos de bombeo del corazón. Por esta razón la aorta tiene unas paredes gruesas y está dotada de una elasticidad superior a otras arterias. Dicha elasticidad se debe a la composición de la pared arterial, donde hay una alta proporción de fibras elásticas y células musculares. Las enfermedades de la aorta se producen mayormente debido a un debilitamiento de la pared de la arteria, lo que hace que pierda sus propiedades de consistencia y elasticidad. Dada la cantidad de flujo que transcurre por esta arteria y su alta presión, el debilitamiento de la pared junto con las elevadas presiones que soporta puede producir un engrosamiento del diámetro arterial llamado aneurisma. Esta afección si no es intervenida de forma adecuada puede terminar en una ruptura de la arteria y producir una grave hemorragia interna que derive en el fallecimiento del paciente.

Siendo el deterioro de la pared arterial la causa de la patología de la aorta, las técnicas de diagnóstico actuales (resonancia magnética, ecografía, tomografía computerizada) se centran en la medida del engrosamiento del diámetro del vaso. Por tanto se basan en una consecuencia de la debilidad y no en la propia debilidad. Además, el engrosamiento del vaso arterial no se produce en todas las patologías de la arteria, como es el caso de la disección sin hematoma de la pared arterial, o úlceras ateroscleróticas. Sin embargo, todas ellas afectan a la pared arterial produciendo un deterioro de la misma, no pudiendo ser detectadas hasta encontrarse en un estado avanzado (grandes acumulaciones de sangre o aneurisma debido al debilitamiento de la pared) que permita observarlas con las técnicas de diagnóstico de imagen mencionadas. Por otro lado, pacientes afectados por los síndromes de Marfan y Ehlers-Danlos vascular, presentan debilidad en los vasos sanguíneos sin que se llegue a producir un ensanchamiento pronunciado del diámetro de la aorta. En estos casos, las técnicas de diagnóstico actuales basadas en la medida del diámetro del vaso no llegan a evidenciar el estado de la arteria.

Este trabajo de fin de máster se desarrolla dentro del contexto del proyecto del plan nacional DA2TOI (Diagnóstico de Aneurismas de Aorta mediante Nuevas Técnicas Ópticas de Imagen, Proyecto FIS2010-19860). En el citado proyecto colaboran el Grupo de Ingeniería Fotónica (GIF) de la Universidad de Cantabria y de los Servicios de Cirugía Cardiovascular (SCC) y de Anatomía Patológica (SAP) del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV). El objetivo de dicho proyecto es la generación de imágenes intravasculares en tiempo real que sean útiles para el diagnóstico de la patología de la aorta, ya que las técnicas actuales no tienen una resolución adecuada para esta tarea.

Con este objetivo, la técnica elegida para la caracterización de la pared arterial es la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT), ya que consigue un buen compromiso entre una alta resolución (del orden de 10 micras o inferior) y penetración (del orden de pocos milímetros). Estas características pueden proporcionar, en primer lugar, una resolución mayor que las técnicas diagnósticas actuales. La resolución de OCT está en torno a 1 a 10 micras, lo que se corresponde con el tamaño celular, llegando en los mejores casos al tamaño del núcleo (**Figura 1.2**). Esto la convierte en una técnica adecuada para el estudio de la arteria, donde se sitúan capas más gruesas de 30 micras y se pretende ver la estructura de estas.

En segundo lugar, la penetración es adecuada al grosor de la pared aortica, de unos 3mm aproximadamente. En concreto, el sistema OCT empleado cuenta con una resolución de 15 micras y una penetración de hasta 3mm. La técnica OCT puede catalogarse como no invasiva y además no requiere del uso de inyección de contraste ni radiaciones ionizantes, como se da en el caso de tomografía computerizada. Por otro lado es una técnica de medida muy rápida, que puede proporcionar imagen transversal del interior del tejido en tiempo real. Esto la posiciona como una buena alternativa a la histología convencional, que necesita un largo procesado de la muestra.

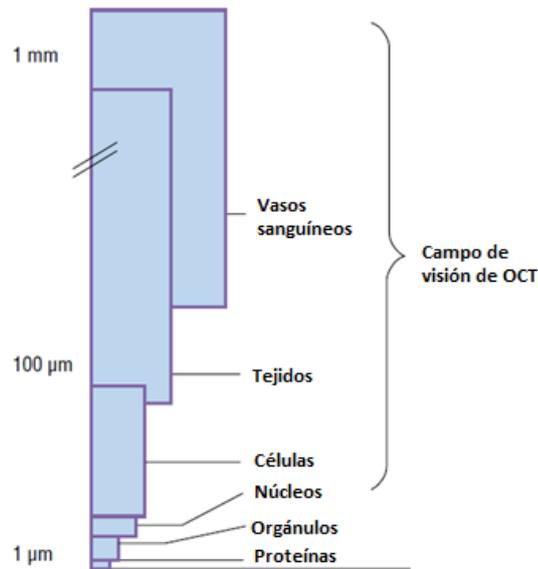


Figura 1.2 Resolución de OCT con respecto a las dimensiones de algunos componentes de los tejidos biológicos. Fuente: [6] traducida.

Como su nombre indica, OCT es una técnica tomográfica, lo que permite ver cortes transversales en el interior del tejido. El principio de funcionamiento básico, ilustrado en la **figura 1.3**, consiste en iluminar el tejido para recibir la luz retroesparcida (*backscattering*), que presentará diferentes intensidades en función de la profundidad penetrada y las diferencias de índice de refracción en las capas del tejido. Debido a este esquema de funcionamiento, el ámbito natural de aplicación de OCT es en tejidos multicapa, donde cambios en el índice de refracción y las reflexiones que estos producen, permiten distinguir las capas del tejido.

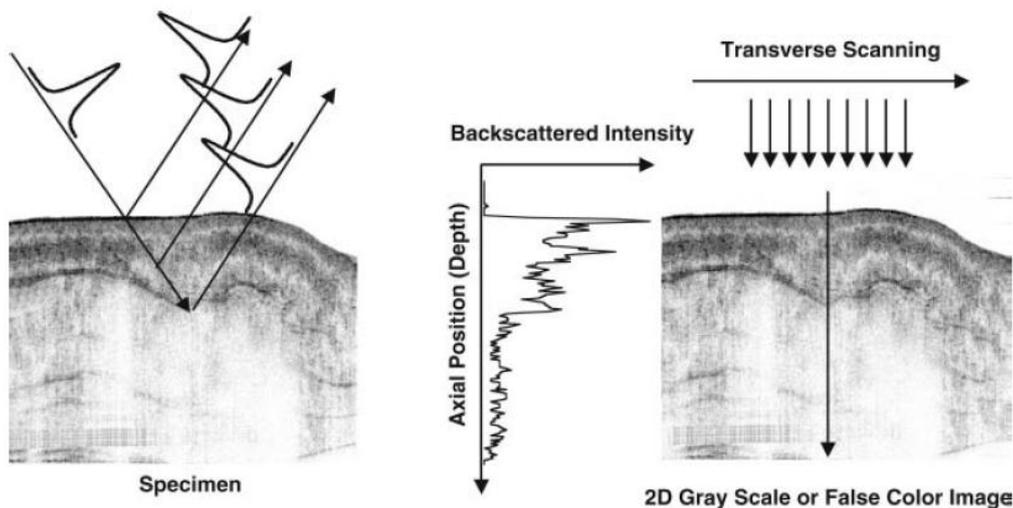


Figura 1.3 Descripción de la interacción de OCT con un tejido. Izquierda: en las diferentes capas se producen diferentes reflexiones. Centro: se puede medir la intensidad de reflexión (*Backscattered Intensity*) a cada profundidad. Derecha: midiendo las reflexiones en diferentes puntos adyacentes (*Transverse Scanning*) se puede obtener una imagen de intensidad de reflexión. Fuente: [7]

Las primeras aplicaciones de OCT se realizaron en oftalmología [8,9], ya que el ojo presenta un bajo coeficiente de atenuación en longitudes de onda del rango espectral visible e infrarrojo cercano (medio muy transparente).

La aplicación de OCT en el ámbito intravascular es algo extendido en la actualidad, donde se utiliza en arterias de pequeño calibre como son las coronarias, como medio de evaluación del tamaño del lumen y la presencia de placas ateroscleróticas y trombos (**Figura 1.4**). En estas arterias también se utiliza como ayuda y control de la colocación de *stents*: prótesis que permitan abrir el lumen de estas arterias para mejorar el flujo sanguíneo [6, 10, 11].

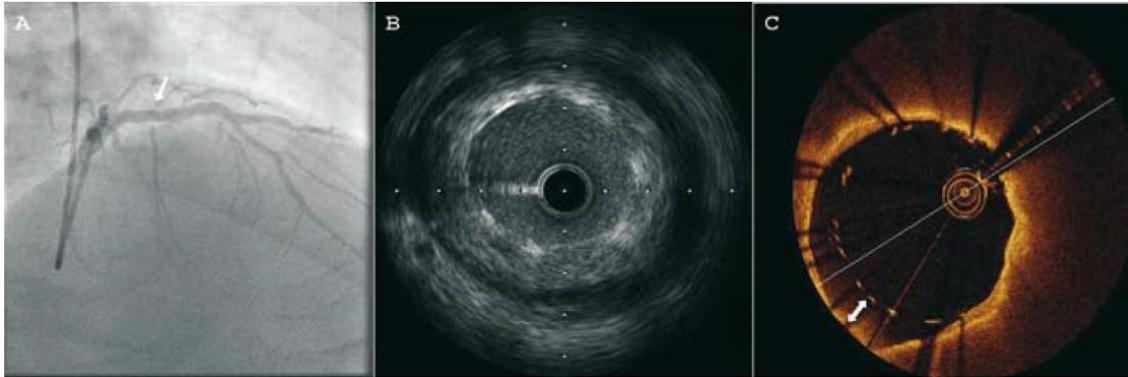


Figura 1.4 Imágenes de un stent o implante intravascular en coronarias. A: angiograma. B: Ultrasonidos. C: OCT. Fuente: [6].

Tras realizar un estudio del estado del arte, no se han encontrado trabajos de OCT aplicados a la caracterización y análisis de la arteria aorta, sino que se aplican en general en las arterias coronarias, donde la pared es más fina y es más fácil visualizar todas las capas que la componen. Además, los trabajos en coronarias se centran en la medida del lumen en la arteria, esto es, de la sección por la que puede circular la sangre. El presente trabajo presenta novedad en el sentido que no se centra en el lumen, sino que se centra en el análisis de la pared de la aorta para ver el estado de la capa media, donde se concentran las células musculares y fibras elásticas que aportan la consistencia a la arteria para preservar su integridad mecánica. La principal diferencia entre la aorta y las arterias coronarias es su gran tamaño y grosor, a parte de algunas diferencias en cuanto a la composición de las capas. El gran grosor de la pared de la aorta es un inconveniente de cara a obtener una caracterización completa de la pared. Sin embargo, la degradación debida al aneurisma de aorta se centra en la capa íntima y la media [12], siendo posible la visualización de ambas capas con OCT, tal y como se ha comprobado durante la realización de este trabajo. El hecho de tratarse de un tejido con una composición estructurada en capas lo hace ideal para el estudio con estas técnicas tomográficas.

En este trabajo se han tomado medidas de muestras *in vitro* de aorta con un equipo OCT disponible comercialmente. Estas muestras proceden de pacientes intervenidos de aneurisma en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y de donantes de órganos que cumplen los criterios internacionales de donantes cardíacos. Puesto que hay diferencias entre las regiones de la aorta (torácica, abdominal, ascendente, descendente, etc.), este estudio se ha centrado en muestras procedentes de la región torácica ascendente. Aun así, la metodología implementada en este trabajo es aplicable a cualquier región de la aorta u otros vasos. Tras la medida de las muestras con OCT, se ha obtenido una caracterización histológica convencional que sirve como referencia real de la composición y deterioros mostrados en la pared

arterial. Con las medidas obtenidas con el equipo OCT se ha buscado obtener por una parte un método de detección del aneurisma por medio de procesado de imagen y de los perfiles de intensidad de la señal OCT y por otra parte una biopsia óptica de la pared arterial.

Este trabajo será por tanto un paso inicial para probar la viabilidad de la tomografía de coherencia óptica aplicada a la caracterización y detección del aneurisma. La utilidad posterior de este trabajo radica en dos necesidades principales surgidas en cuanto al diagnóstico y tratamiento del aneurisma. El uso final de este sistema en el ámbito de un quirófano se aplicará en un sistema endoscópico. La aplicación más inmediata es servir de herramienta de ayuda al cirujano para la colocación de injertos en la zona detectada previamente como aneurisma con métodos de diagnóstico convencionales. Durante la intervención quirúrgica, se abre la sección de la aorta deteriorada y en su lugar se coloca el injerto de un material plástico biocompatible. Este injerto se ha de fijar en ambos extremos a las regiones aorta sana que rodean la zona afectada por el aneurisma (**Figura 1.5**). La labor de OCT en este caso sería, ya en el quirófano, identificar los límites de pared enferma para asegurarse que el injerto se fija a una zona de pared sana y para no amputar más pared de la estrictamente necesaria. En el primer caso, se evitarían problemas derivados como la inducción de un pseudoaneurisma y complicaciones posteriores. En el segundo caso, permite una operación más sencilla en función de la zona que se evita seccionar, dada por ejemplo la complejidad del arco aórtico. Una aplicación posterior, que requerirá más labor de investigación sería la aplicación al diagnóstico intravascular sin necesidad de cirugía, como elemento diagnóstico fiable de la patología en casos de difícil valoración.

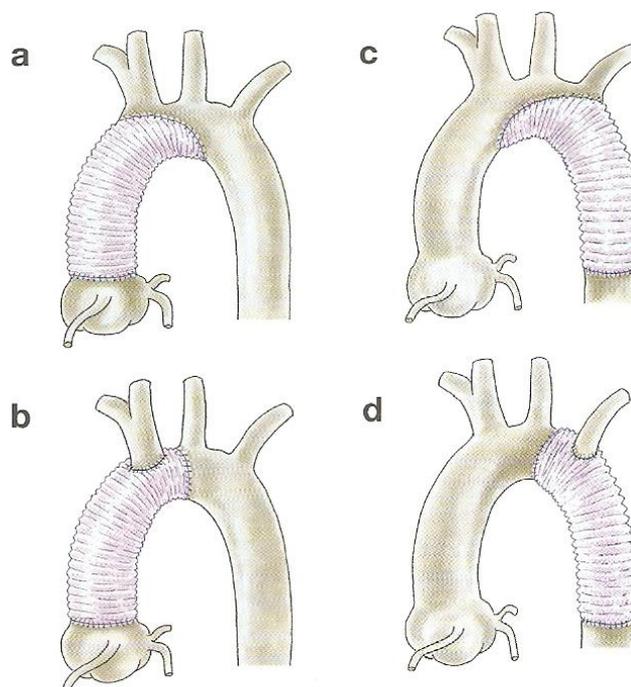


Figura 1.5 Técnica de sustitución de diferentes tramos de la aorta con una prótesis o *graft*. En a y b la zona afectada es la aorta ascendente. En c y d la zona afectada es la descendente. Fuente: [4].

1.2 Objetivos

El objetivo general de este trabajo es obtener una caracterización de la pared de la aorta torácica ascendente con tomografía de coherencia óptica, con el fin de evaluar la viabilidad de OCT como técnica para la realización de biopsia óptica y encontrar elementos y características con capacidad diagnóstica de patologías en la arteria como el aneurisma. Así, este estudio se centra en el análisis de la capa media de la pared arterial. Para cumplir este objetivo, se dividen las tareas en varios pasos intermedios:

- Establecer un protocolo de adquisición, manejo y medida de muestras. Este protocolo se establece de forma consensuada con los cirujanos y patólogos que participan en el proyecto.
- Obtener medidas con el equipo OCT de muestras in vitro de aorta torácica, procedentes tanto de donantes, para ser utilizados como control, como enfermos de aneurisma. Se debe almacenar estos datos y co-registrarlos con el historial de cada paciente y con la histología convencional, que será utilizada como referencia absoluta de diagnóstico. Se pretende que estos puedan ser utilizados posteriormente para diferentes análisis de las muestras medidas, más allá del presente trabajo.
- Comprobar la viabilidad de las imágenes en OCT como biopsia óptica, haciendo una comparación visual entre las capturas tomadas y la histología practicada por los patólogos.
- Aplicar una metodología de procesamiento de perfiles de penetración y de imagen que permitan implementar un detector automático de patología en la pared arterial. Se pretende que todo el procesamiento sea matemático, de forma que no haga falta la intervención de un patólogo en dicha detección, como sucede en la actualidad.

1.3 Estructura del documento

Este documento pretende contener los fundamentos básicos de las técnicas de tomografía de coherencia óptica, así como los conocimientos básicos acerca de la aorta necesarios para entender la afección del aneurisma de aorta.

- Este primer capítulo es una **introducción** a los aspectos más importantes, resaltando los aspectos más básicos, la motivación, los objetivos y la metodología de trabajo para resolver el problema específico del diagnóstico de aneurismas de aorta.
- El capítulo segundo estudia la **aorta y el aneurisma**. Incluye nociones básicas de anatomía e histología de esta arteria, así como las causas, diagnóstico y tratamiento de esta patología.

- El tercer capítulo se centra en la teoría básica de los sistemas de **tomografía de coherencia óptica**. Se mencionan distintos tipos de sistemas y sus principales fundamentos de funcionamiento y características.
- El cuarto capítulo se describe las **técnicas de procesado** aplicadas a las medidas de OCT realizadas sobre la muestra de aorta. Estas técnicas analizan la imagen OCT obtenida, realizan un ajuste de los perfiles de reflectancia y aplican técnicas texturales para el diagnóstico de aneurisma.
- El capítulo quinto resume los **resultados** obtenidos, en respuesta a los objetivos planteados en esta introducción. Se incluye el protocolo de manejo y medida de muestras y los resultados de los diferentes análisis aplicados.
- Por último, se cierra el documento con un capítulo dedicado a **conclusiones**, discusión de resultados y posibles **líneas futuras** que surgen de la realización del presente trabajo.

Capítulo 2

Aneurisma de aorta

2.1 Anatomía e histología de la aorta

La aorta es la arteria más grande del cuerpo humano. Su objetivo es el transporte de sangre oxigenada desde el corazón hasta el resto del cuerpo, bifurcando en las distintas arterias que riegan los músculos y órganos [13]. El origen de la aorta se encuentra en el ventrículo izquierdo del corazón, donde se une con este por medio de la válvula aórtica. Cuando se produce el bombeo en el corazón, sístole, el flujo de sangre oxigenada es dirigido desde el ventrículo hacia la arteria aorta. En la relajación tras el pulso, diástole, la válvula aórtica se cierra e impide que la sangre retorne hacia el corazón.

La aorta pertenece a la familia de las arterias de gran calibre o elásticas, que se encargan de la distribución de sangre hasta los vasos menores. La característica de elasticidad es especialmente necesaria en la aorta teniendo en cuenta que este vaso absorbe la presión de la sangre bombeada en ciclos, lo que produce un flujo pulsátil. Uno de los objetivos de la aorta es, en efecto, disminuir esas ráfagas de presión y hacer el flujo más suave y uniforme para su distribución al resto del cuerpo.

La aorta se divide a nivel anatómico en diferentes regiones a lo largo de su recorrido (**Figura 2.1**). Estas divisiones no sólo se deben a su localización, sino que también conllevan diferencias en su composición y estructura, al igual que en su función. La región ascendente y el arco aórtico tienen una elasticidad superior debido a que deben soportar importantes diferencias de presión durante el ciclo de bombeo. A medida que se desciende hacia el abdomen, la aorta es menos elástica y más estrecha, debido a que el flujo y la presión no son tan intensos como en la zona próxima al corazón.

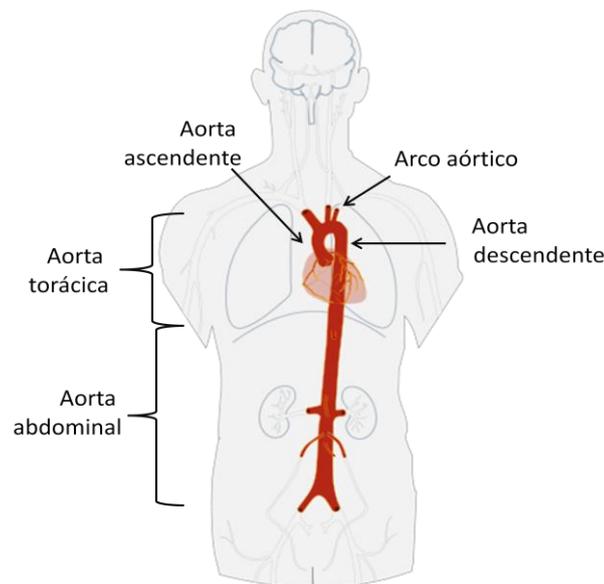


Figura 2.1 Anatomía básica de la aorta. Fuente: [16] modificada.

La pared de los diferentes tipos de arterias sigue una estructura similar, aunque hay variaciones muy significativas en cuanto a su grosor y la distribución de sus componentes [12]. La pared arterial se puede dividir en tres capas o *túnicas* llamadas

intima, media y adventicia, que abarcan desde la luz de la arteria (el interior del vaso) hacia el exterior de esta respectivamente (**Figura 2.2**).

La capa *íntima* es en general una capa fina de células endoteliales aplanadas, aunque en el caso de las arterias elásticas esta capa es más gruesa. Además, entre la capa íntima y la media se encuentra una membrana elástica que las dota de cierta holgura para poder asimilar los cambios de presión. Dicha membrana es similar al resto membranas elásticas que forman la arteria.

La capa *media* está formada por una estructura de unas cincuenta membranas elásticas fenestradas [12] (fibras elásticas con aperturas entre ellas) que sirven de soporte para las células musculares lisas. También hay abundancia de fibras elásticas y colágeno y proteoglicanos ácidos, que actúan de relleno. Las arterias elásticas tienen menor proporción de células musculares y más proporción de elastina que otras arterias. Aun así, las células musculares lisas son el componente esencial de la capa media y son las que producen el resto de elementos.

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

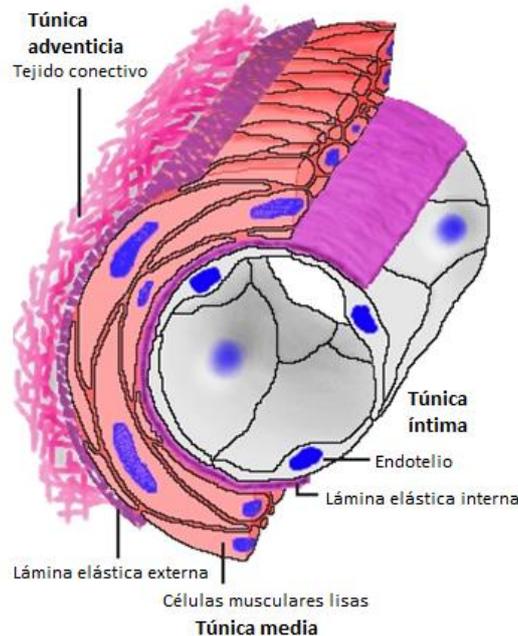


Figura 2.2 Esquema de la pared arterial. Se distinguen las capas o *túnicas íntima, media y adventicia*. Entre cada capa se encuentra una membrana elástica. Fuente: [14] traducida.

2.2 Aneurisma de aorta

La anatomía de la aorta es variada y también lo son su patología y su tratamiento. El aneurisma aórtico es una dilatación anormalmente grande de este vaso en una

región localizada de la aorta. Se puede considerar que el diámetro es anómalo cuando su valor supera 1,5 veces el diámetro normal [3]. El llamado *aneurisma verdadero* afecta a las tres capas de la arteria, íntima media y adventicia, mientras que los *aneurismas falsos* o *pseudoaneurismas* se deben a una perforación en la capa íntima, afectando también a la media (**Figura 2.3**). Estos últimos no tienen tanto peligro de ruptura puesto que no se ve afectada la totalidad de la pared. Los aneurismas se pueden caracterizar según su forma en fusiforme o sacular. El primero afecta a toda la circunferencia de la aorta mientras que el segundo esta focalizado en una sola región. El primer tipo es común en la aorta descendente y abdominal y el segundo tipo puede ocurrir más en la aorta ascendente. En ambos casos, las causas son las mismas y difiere su forma según la presión recibida en esa sección de la aorta.

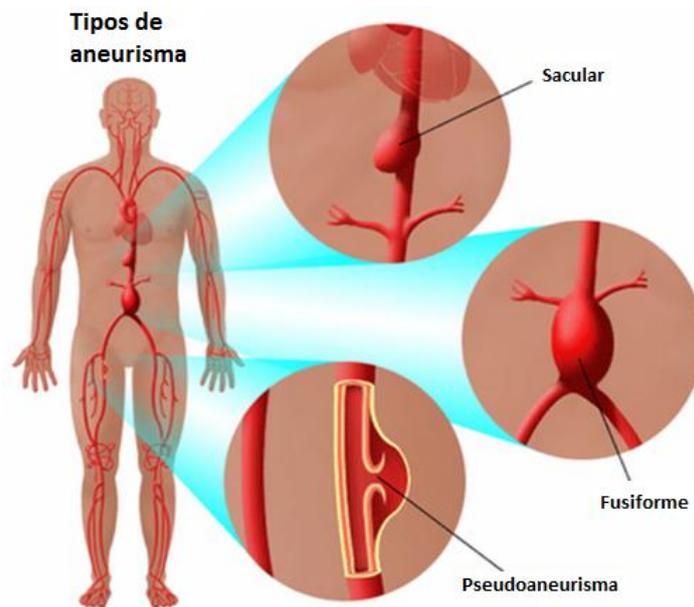


Figura 2.3 Tipos de aneurisma: sacular, fusiforme y falso aneurisma o pseudoaneurisma. En el dibujo se muestran sobre la región de la aorta abdominal. Fuente: desconocida.

Unas cifras de diámetro normal se sitúan en torno a 3cm para la aorta ascendente, 2,5cm en la aorta torácica descendente y 2cm en la aorta abdominal [12], aunque existe una alta dependencia de este factor con la edad, el tamaño del paciente y su sexo (**Tabla 2.1**). Los criterios de intervención quirúrgica se basan en la actualidad en la medida del diámetro o en su tasa de crecimiento anual (**Tabla 2.2**) y son establecidos por cada unidad de intervención hospitalaria. Además se tienen en consideración otros aspectos médicos del tipo de la morfología del aneurisma, historia del paciente y probabilidades de mortalidad debidas a la propia cirugía frente a las de la patología.

	Hombres			Mujeres		
	20-40 años	40-60 años	>60 años	20-40 años	40-60 años	>60 años
	3.4	3.6	3.9	3.3	3.7	3.5
	3.2	3.6	3.8	2.8	3.4	3.6
	2.2	2.6	3.1	2.0	2.6	2.8
	2.2	2.3	2.9	1.9	2.4	2.6
	2.1	2.4	2.9	1.8	2.4	2.4

Tabla 2.1 Valores normales de diámetros de aorta en centímetros. Los valores se corresponden de arriba hacia abajo con dos puntos de medida en la aorta ascendente, dos en la aorta descendente y uno en la abdominal. Fuente: [4].

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

Tabla 2.2 Diámetros límite para la intervención quirúrgica. Fuente: [3].

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

2.2.1 Aneurisma de la aorta torácica y abdominal

Una división importante de los aneurismas se da según la región donde se produzca: aneurisma de la aorta torácica, (AAT o TAA del inglés *Thoracic Aortic Aneurysm*), aneurisma de la aorta abdominal (AAA) o aneurisma toracoabdominal (ATA). Para cada uno de los tipos la afección, su desencadenante, predisposición y tratamiento son diferentes y se abordan de distinta manera.

Los *aneurismas de la aorta torácica* son todos los producidos en esta región, desde la aorta ascendente hasta el diafragma, siendo más frecuente el de la aorta ascendente. Las causas y factores de riesgo son muy variadas, entre los que se encuentra el problema de válvula aórtica bicúspide, hipertensión, edad avanzada, aterosclerosis, disección de aórtica, infecciones, los diferentes síndromes de Marfan, Turner y Ehlers-Danlos y factores congénitos muy variados [3]. Todas ellas favorecen la degeneración de la capa media, desencadenando en lo que se conoce como necrosis

quística de dicha capa. Esta afección consiste en la pérdida de células musculares lisas y también de fibras de elastina, dejando huecos libres que son rellenados por una sustancia basal a modo de quiste. Esto causa el debilitamiento de la pared y por tanto puede desencadenar en la aparición del aneurisma y la disección aórtica.

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

Los *aneurismas de la aorta abdominal* son los producidos desde el diafragma hasta la bifurcación en las arterias ilíacas. En esta región, los aneurismas se concentran en la zona inferior a los riñones. Las causas de aneurisma abdominal son de tipo degenerativo asociados a la edad y la aterosclerosis. También influyen la hipertensión, diabetes y el tabaquismo, este último como principal factor de riesgo. Los síndromes de Marfan y Ehlers-Danlos influyen en menor medida que en el caso del AAT. El desarrollo de la patología en esta región se debe también a un deterioro de la pared arterial, como en AAT, que conlleva un remodelamiento de la estructura de la pared y este a su vez una debilidad y dilatación del vaso.

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

2.2.2 Diagnóstico de aneurismas

Las técnicas de diagnóstico de aneurisma no se aplican por lo general salvo que haya síntomas o que el paciente presente algún factor de riesgo. Un síntoma típico suele ser un dolor en la espalda o zona abdominal debido al aneurisma torácico o abdominal. También se puede producir entumecimiento de alguna región del cuerpo, aparte de otros síntomas. El diagnóstico de aneurisma se hace aplicando técnicas no invasivas de imagen como son la resonancia magnética, la tomografía computerizada y los ultrasonidos por ecografía transtorácica o ecografía transesofágica (**Figura 2.4**).

La *resonancia magnética* (RM) funciona creando un campo magnético que hará que algunos núcleos de hidrógeno se ordenen según una orientación específica. Al aplicar una señal de radiofrecuencia, estos núcleos modifican la señal recibida y esta es captada por antenas receptoras. Esta técnica en principio es inocua, aunque hay una

variante aplicando un elemento de contraste de forma intravenosa que puede ofrecer mejor calidad de imagen.

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

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

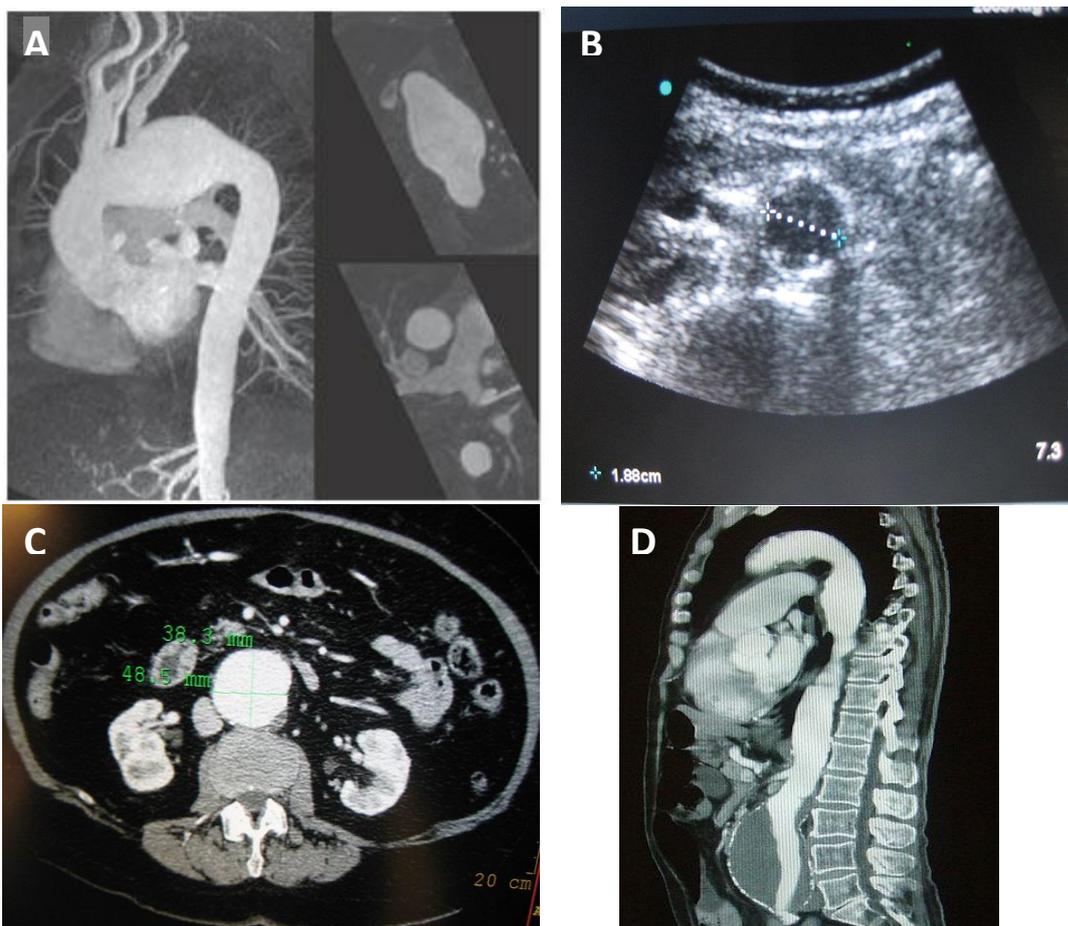


Figura 2.4 A Resonancia magnética (RM) de aneurisma de arco aórtico. Fuente: [15]. B Ecografía transtorácica (ETT) de aorta normal. Fuente: [16]. C, D Tomografía computerizada (TC) de dos aneurismas de aorta abdominal vistos desde dos ejes. Fuente: [16].

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

En el caso de AAA, la ecografía convencional permite ver la aorta de forma adecuada (**Figura 2.4 A**). Este método es el más inocuo, rápido y disponible de todos los mencionados. En el caso de la AAT, el método de ecografía convencional no permite ver de forma adecuada la aorta torácica. Es más común en estos casos usar la resonancia magnética o el escáner. La ecografía transesofágica también proporciona una visión adecuada de prácticamente la totalidad de la aorta.

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

2.2.3 Tratamiento del aneurisma

El tratamiento típico es la intervención quirúrgica para colocar una prótesis de refuerzo. Esta intervención puede ser abierta o por medio intravascular (**Figura 2.5**). En el caso de AAT suele conllevar una cirugía abierta, durante la cual se abren las secciones de la arteria dañadas y se coloca un injerto en su lugar, envolviendo de nuevo el injerto con el tejido arterial si procede. Se suelen administrar también fármacos β -bloqueantes para reducir la presión arterial. En el caso de AAA, es común colocar una endoprótesis o *stent* mediante una sonda. El método elegido depende de la región donde se localice la lesión, su extensión y morfología, salud del paciente y otros criterios médicos.

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

En algunos casos, dada la complejidad de la operación se toma la decisión de no intervenir, puesto que el riesgo de una cirugía abierta puede ser elevado en pacientes con diferentes factores de riesgo.

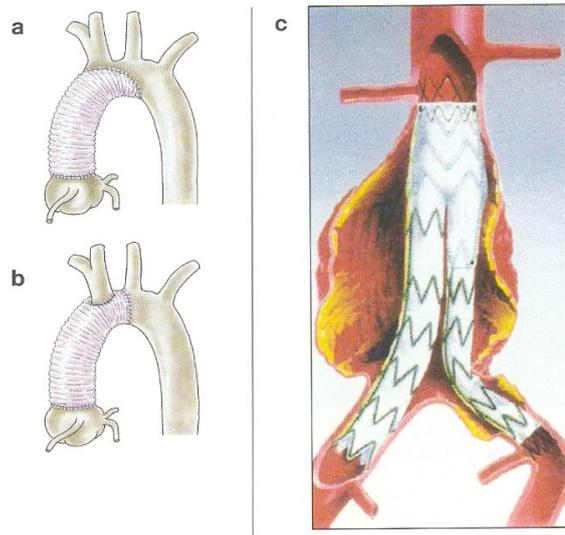


Figura 2.5 a) y b) Injertos en la aorta torácica. c) endoprótesis en la aorta abdominal. Fuente: [4]

2.3 Otras patologías de la aorta

A parte de los aneurismas, hay otras afecciones arteriales asociadas que tienen el mismo origen, el debilitamiento de la pared arterial. Así, se puede enumerar la disección aórtica, hematoma intramural, úlcera aterosclerótica y enfermedad aterosclerótica. Las mencionadas conllevan la entrada de sangre y un consiguiente debilitamiento de la capa media y su exposición a las pulsaciones del flujo sanguíneo. Estas afecciones pueden derivar en un *síndrome aórtico agudo (SAA)*, consistente en una disección o la ruptura de la propia aorta. Estas alteraciones tienen en común que pueden no presentar síntomas y que no siempre producen un gran engrosamiento. Los casos específicos de los síndromes de Marfan y Ehlers-Danlos están incluidos como factores de riesgo ya que son susceptibles de sufrir estas patologías y afecciones de la pared arterial de forma oculta.

Estas afecciones se producen en la pared del vaso, mientras que el aneurisma propiamente dicho, afecta a la región circundante debido a su engrosamiento anómalo y es este síntoma su característica utilizada para la detección. Debido a las peculiaridades de las técnicas de diagnóstico, las afecciones que no presentan un gran abultamiento no se pueden detectar con las técnicas convencionales hasta que se encuentran en un estado avanzado y se hacen visibles, lo cual no siempre sucede antes de la ruptura del vaso. Los indicativos actuales de una posible patología de la aorta en estos casos se dan por otras vías, como afecciones de válvula aórtica, soplos u otros que indiquen un malfuncionamiento del sistema cardíaco vascular. Estos son por tanto casos de gravedad y además de difícil diagnóstico.

Los casos de disección aórtica (ruptura de la íntima y entrada de sangre en la media) tienen una mortalidad si no se opera de 57% en seis meses, 61% y 67% en uno y cinco años y 73% en diez años [4]. El hematoma intramural (afección en la media sin ruptura previa de la íntima) tiene una mortalidad de entre un 46% (abdominal) y un 71% (ascendente y arco aórtico) el primer mes [4]. La detección y por tanto el tratamiento de estas afecciones es vital.

2.4 Técnicas histológicas

En medicina se utilizan técnicas histológicas para ver la composición de un tejido a nivel celular tras ser biopsiado. En el caso del tejido de la aorta, permite ver su pared al completo, incluyendo núcleos celulares y fibras elásticas. Estas técnicas se basan en el uso de diferentes tinciones, que se fijan a los distintos elementos de los tejidos. Además se fijan las muestras con un elemento que le da consistencia y rigidez y se corta en finas láminas para ser observadas al microscopio. Estas técnicas permiten obtener parámetros como grosor de las capas, recuento de elementos, estructura y otros.

En el estudio histológico de la aorta realizado para este trabajo se han utilizado tinciones que buscan remarcar la presencia y estructura de células musculares lisas, elastina y colágeno, como elementos principales de esta arteria y causantes del debilitamiento de la pared.

Una técnica de tinción muy común es la unión de *Hematoxilina y Eosina* (H&E). La primera permite ver los núcleos celulares, que en el caso de la aorta se encuentran solamente en las células musculares lisas. La eosina remarca el tejido conectivo de la arteria: elastina y colágeno [17]. La ventaja de esta técnica es que permite ver con una sola tinción tanto las células musculares como las fibras elásticas, las cuales son las partes más relevantes en el estado de la capa media de la aorta (**Figura 2.6, D**).

La técnica *Alcian Blue* (AB), se utiliza para remarcar elementos de tipo ácido, como son los mucopolisacáridos ácidos o quistes, que rellenan los huecos de la capa media en ausencia de células musculares y elastina (**Figura 2.6, C**).

La tinción de *Verhoeff-Van Gieson* (VVG) se utiliza para remarcar las fibras elásticas y también el colágeno (**Figura 2.6, A**).

Por último, la técnica *Alpha-Smooth Muscle Actin* (ASMA), es otro método de tinción que se fija a las células musculares lisas. Esta técnica permite ver la ordenación y estructura de las células musculares como principal elemento de la capa media en la aorta (**Figura 2.6, B**).



Figura 2.6 Técnicas de tinción utilizadas sobre la capa media de la aorta. **(A)** VVG. Colágeno rosa, fibras elásticas negro. **(B)** ASMA. Afecta a la membrana celular y citoplasma. **(C)** AB. Células musculares en rosa, núcleos en azul oscuro, elementos ácidos o quistes en azul. **(D)** H&E. Núcleos en azul y citoplasma (resto de la célula muscular) en rosa. Fibras elásticas en rosa oscuro.

2.5 Muestras de aorta analizadas

En el trabajo realizado se ha contado con un conjunto de 14 muestras procedentes de *aorta torácica ascendente* de diferentes pacientes. El conjunto de muestras se divide en 4 muestras de control y 10 muestras que presentan la patología del aneurisma. Las muestras de control proceden de donantes de órganos, de historial desconocido pero que cumplen el protocolo internacional de donantes cardíacos, descartando por tanto afecciones cardiovasculares. Las muestras patológicas provienen de pacientes intervenidos de aneurisma torácica, concretamente de patología de la válvula aórtica y de la aorta ascendente. La **tabla 2.3** muestra un resumen de los datos relevantes de estos pacientes. Los diámetros relevantes a medir en esta región se refieren a la unión de la aorta ascendente con el corazón, medidas en diferentes puntos: senos de Valsalva, unión sinotubular y aorta ascendente media (**Figura 2.7**).

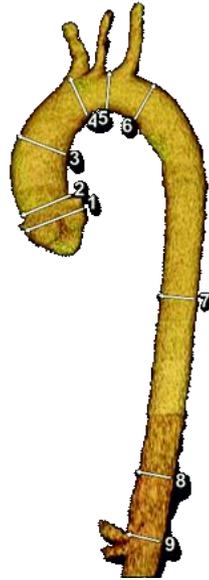


Figura 2.7 Puntos típicos de medida del diámetro en la aorta. 1. Senos de Valsalva. 2. Unión sinotubular. 3. Aorta ascendente media. 4. Arco torácico proximal. 5. Arco torácico medio. 6. Aorta descendente proximal. 7. Aorta descendente media. 8. Aorta en el diafragma. 9. Aorta abdominal en el origen del tronco celíaco. Fuente: [18].

Edad	Sexo	Diámetro (mm)			Factores de riesgo cardiovascular	Patología
		Senos de Valsalva	Unión sinotubular	Aorta ascendente		
70	Mujer	52	45	47	Hipertensión	Válvula aórtica
74	Mujer	39	-	53	Hipertensión, dislipemia	Válvula bicúspide, aterosclerosis, estenosis
45	Varón	45	30	64	Hipertensión, dislipemia, obesidad, exfumador	Válvula bicúspide, estenosis
78	Varón	40	-	50	Hipertensión, dislipemia, obesidad	Válvula calcificada
72	Varón	50	56	70	Dislipemia	Válvula bicúspide calcificada, estenosis
59	Varón	37	30	46	Hipertensión	Válvula bicúspide, estenosis

Tabla 2.3 Datos de la historia de seis de los pacientes. Dislipemia: colesterol. Estenosis: estrechamiento del vaso. Válvula bicúspide: válvula aórtica con dos de sus tres velos unidos.

Capítulo 3

Tomografía de coherencia óptica

3.1 Introducción

La tomografía de coherencia óptica (OCT por sus siglas en inglés: *Optical Coherence Tomography*) es una técnica de imagen tomográfica basada en interferometría de baja coherencia. Fue desarrollada hacia 1991 [8] para obtener imágenes de alta resolución en tejidos biológicos de forma no invasiva. El principio básico de funcionamiento consiste en iluminar el tejido con una fuente de luz para medir el “eco óptico” que se produce en la muestra. La luz se verá esparcida en el interior de la muestra, de forma que capturando de nuevo esa luz se tiene información de la muestra. Tras aplicar un proceso interferométrico a esta luz retroesparcida (*backscattering*) se puede reconstruir un perfil de penetración (una dimensión), una imagen transversal del interior del tejido (dos dimensiones) o incluso un cubo en tres dimensiones.

La principal ventaja de esta técnica en particular frente a otras técnicas tomográficas de aplicación en medicina (rayos-X, resonancia magnética, ultrasonidos) es que proporciona una mayor resolución (**Figura 3.1**), típicamente de hasta 1 a 5 micras [10]. Frente a otras técnicas de alta resolución, como la microscopía confocal, aporta una penetración mayor, de en torno a los 2-3 milímetros y llegando incluso a 12 milímetros en equipos comerciales [19].

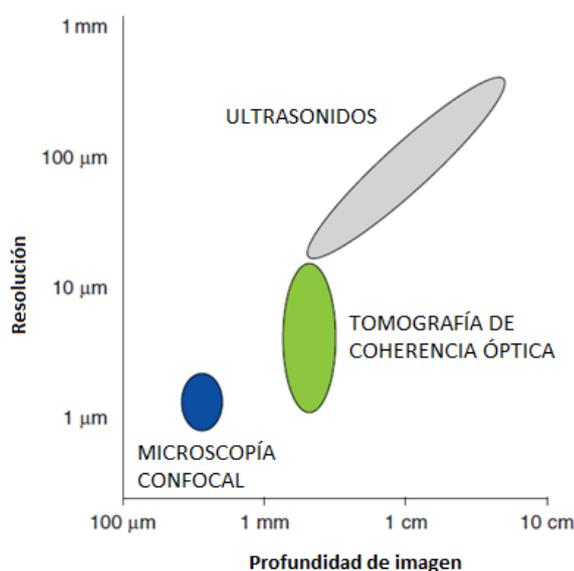


Figura 3.1 Comparativa de prestaciones en cuanto a resolución y penetración. OCT tiene unas características de compromiso entre ambas. Fuente: [10].

El método de funcionamiento es similar a los ultrasonidos (US o ecografía e IVUS o ultrasonido intravascular) en cuanto al concepto principal: el esquema de funcionamiento básico consiste en medir el eco de luz para la caracterización del tejido. Al igual que en ultrasonidos, tras obtener los ecos medidos a lo largo de un eje estos se juntan formando una imagen. Sin embargo, OCT se sirve de la luz, lo que conlleva una mayor velocidad en el elemento de medida, que da una resolución mayor. En US la resolución es del orden de decenas o cientos de micras para frecuencias inferiores a 100MHz, con el problema de que tanto resolución como absorción aumentan fuertemente con la frecuencia y se necesita obtener un compromiso. En este contexto, OCT ofrece una ventaja en cuanto a resolución (**Figura 3.2**) y además, como se verá más adelante, la resolución será independiente de la penetración, con lo que la técnica permite mejorar una y otra configurando diferentes elementos del sistema.

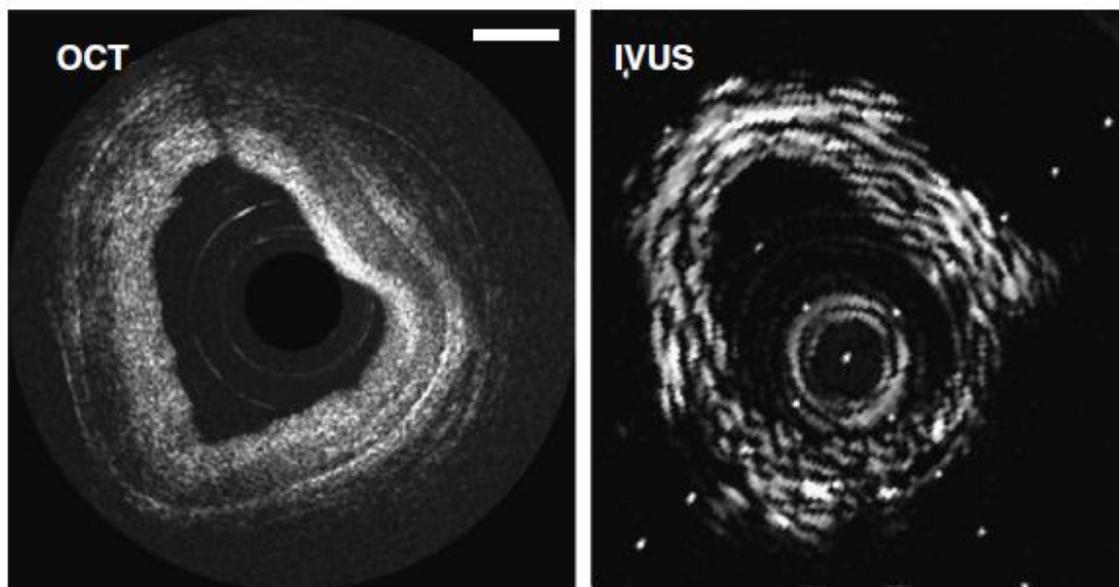


Figura 3.2 Comparativa entre OCT y ultrasonidos (IVUS, *IntraVascular UltraSound*) en una arteria coronaria. Fuente: [10].

Frente a otros métodos de imagen médica, como resonancia magnética y la tomografía computerizada (TC o TAC), el enfoque es completamente distinto. OCT e IVUS permiten ver elementos del tamaño de micras o decenas de micras, estando ideados para trabajar dentro de los vasos. Sin embargo, la resonancia magnética y el TC permiten obtener imágenes a nivel de órgano, con una menor resolución y por tanto una utilización distinta (**Figura 3.3**).



Figura 3.3 Izquierda: tomografía computarizada de tórax y aorta. Fuente: [20]. Derecha: resonancia magnética de corazón y aorta. Fuente: [4].

3.2 Interferometría de baja coherencia

La razón por la cual OCT proporciona una alta resolución es porque está basado en interferometría de baja coherencia producida por fuentes de luz con esta característica.

3.2.1 Coherencia

El término coherente se aplica en general a ondas que tienen la misma fase. En una misma onda, se dice que dos puntos pertenecientes a una onda son coherentes cuando la relación entre sus fases es constante. De esta manera, conocida la fase en un punto y en un instante, se puede predecir la fase del otro punto [22].

De forma más estricta, la coherencia se puede manifestar en forma temporal o espacial. La *coherencia temporal* refleja el parecido de un mismo punto de la onda consigo mismo con el paso del tiempo: hasta cuando es predecible el valor de fase en ese punto a partir de un momento conocido (matemáticamente será a autocorrelación). Esto dará un valor de tiempo de coherencia. Una fuente de luz con alta coherencia temporal será aquella cuya fase es predecible en el tiempo, lo cual sucede con las fuentes monocromáticas ideales. Una fuente no ideal no será coherente, sino que tendrá un tiempo de coherencia que será mayor cuanto más coherente sea, como sucede con el caso de los diodos laser de baja anchura espectral (**Figura 3.4**).

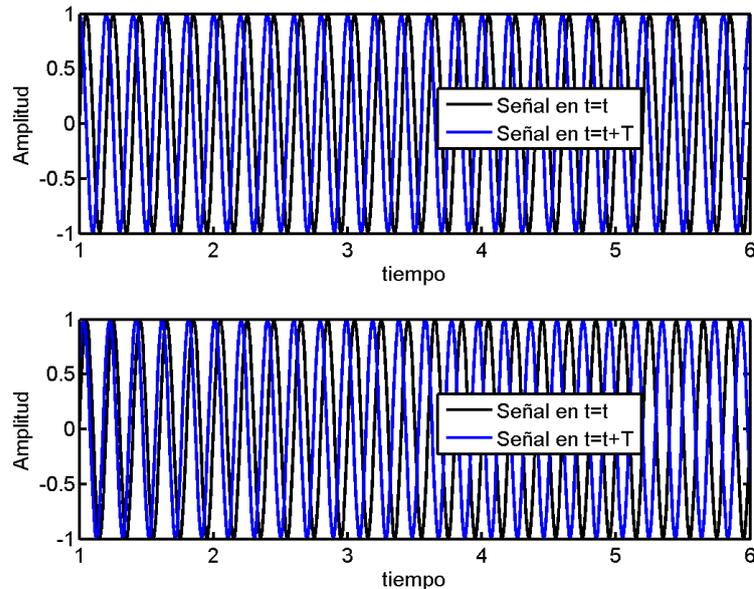


Figura 3.4 Onda coherente (superior) e incoherente (inferior). En cada gráfica se muestra una onda en color negro y la misma onda un tiempo T después superpuesta, en azul. En el primer caso, la fase es constante entre los dos momentos t y $t+T$, por tanto la señal es coherente y tiempo de coherencia es infinito. En el segundo caso, la fase es distinta a lo largo del tiempo, por lo tanto se trata de una señal incoherente y el tiempo de coherencia es finito.

La coherencia espacial se refiere a la diferencia de fase entre dos puntos distintos de la onda. Dos puntos de la onda son coherentes si su diferencia de fase es constante, esto es, conocida la fase de la onda en un punto se puede conocer la fase del otro. Matemáticamente será la correlación cruzada entre esos dos puntos. Una onda con un frente de onda puntual tendrá una alta coherencia espacial. Una fuente con un frente de emisión amplio, producirá más diferencias entre los extremos del frente de ondas y tendrá una coherencia espacial baja.

3.2.2 Interferometría: coherente e incoherente

La interferometría es la medida de la interferencia entre ondas tras su suma, ya sea constructiva o destructiva en función del desfase entre estas ondas. La fase en la que se produzca la interferencia es por tanto determinante para el patrón final. En señales monocromáticas se producirán patrones de mayor o menor intensidad a esa frecuencia y en señales policromáticas se podrán anular unas u otras componentes dando lugar a un patrón de interferencia coloreado, con distintos niveles para las distintas frecuencias (**Figura 3.5**). Las técnicas interferométricas, entre ellas OCT, se basan en hallar el patrón de interferencia de una señal consigo misma tras entrar en contacto con la muestra a medir.

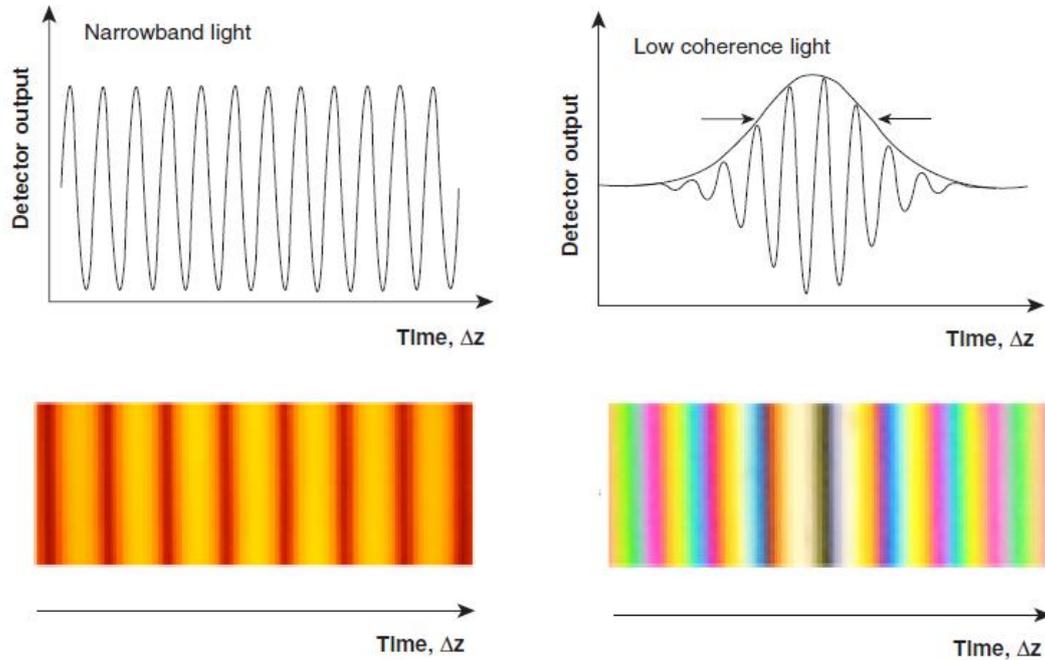


Figura 3.5 Interferencia monocromática (izquierda) y coloreada (derecha) en el detector de un interferómetro de Michelson. El caso monocromático produce una interferencia entre las señales con una diferencia de fases constante (luz coherente) lo que da lugar a una señal sinusoidal, con un patrón con máximos y mínimos de intensidades constantes. En el caso coloreado, la interferencia se produce agregándose las señales en distintas fases y por tanto la señal resultante no es uniforme. El patrón de referencia así lo refleja, mostrando su máximo/mínimo en el instante temporal en el que las longitudes de los brazos de muestra y referencia coinciden. Fuente: [16] y [10] modificadas.

En el caso sencillo, de una señal monocromática (una frecuencia) y coherente (diferencia de fase constante entre dos puntos), la onda verá modificada su amplitud y fase al entrar en el tejido, pero la diferencia de fases entre dos puntos de la onda seguirá siendo la misma y por tanto seguirá siendo monocromática y coherente. Al interferir la onda modificada con la onda incidente se producirá una interferencia con una amplitud constante y una sola fase (**Figura 3.6**).

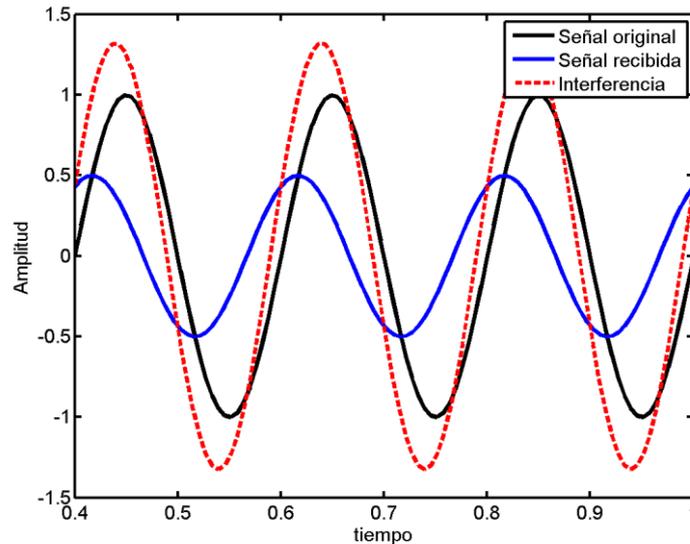


Figura 3.6 Interferencia de una señal monocromática (negro) consigo misma tras un desfase y atenuación (azul). La interferencia resultante (rojo) tiene amplitud y fase constantes: sigue siendo monocromática y coherente.

Si la señal no es monocromática, desde su origen en la fuente las distintas componentes frecuenciales tendrán diferentes fases y amplitudes. Esto hace que la señal en conjunto sea de baja coherencia y sólo se puede conocer la señal en la distancia de coherencia. Cuando se producen interferencias de esta señal con la muestra, se ven modificadas las amplitudes y fases de las distintas componentes frecuenciales de la señal. La señal interferente es más irregular (al contrario que la coherente, que tenía amplitud constante) y por tanto se pueden detectar eventos, ya sea en el dominio frecuencial (**Figura 3.5**) o temporal (**Figura 3.7**). Se puede considerar como, si con una longitud de onda, la interacción con la muestra modifica una fase y una amplitud, con n longitudes de onda se modificarán n fases y n amplitudes, aportando por tanto más información.

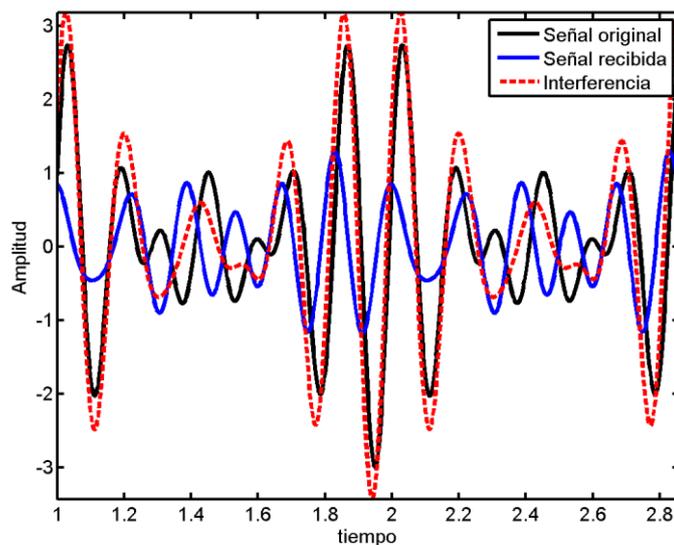


Figura 3.7 Interferencia de una señal policromática con tres tonos (negro) consigo misma tras un desfase y atenuación (azul). La interferencia resultante (rojo) tiene amplitud y fase no constantes, al igual que la señal inicial.

En general en interferometría de baja coherencia interesan fuentes de luz blanca, con un espectro de emisión ancho y plano, que permita que todas las longitudes de onda interactúen con la muestra con igual nivel de potencia. Además deben ser fuentes estables a corto plazo puesto que fluctuaciones en el tiempo darían fluctuaciones en el patrón de interferencia y por lo tanto en las medidas.

Un tipo de interferómetro común y muy utilizado en OCT es el interferómetro de Michelson (**Figura 3.8**). En este interferómetro consta de cuatro brazos: fuente, detector, muestra y referencia. La interferencia se produce entre la luz del brazo de referencia y el brazo de muestra.

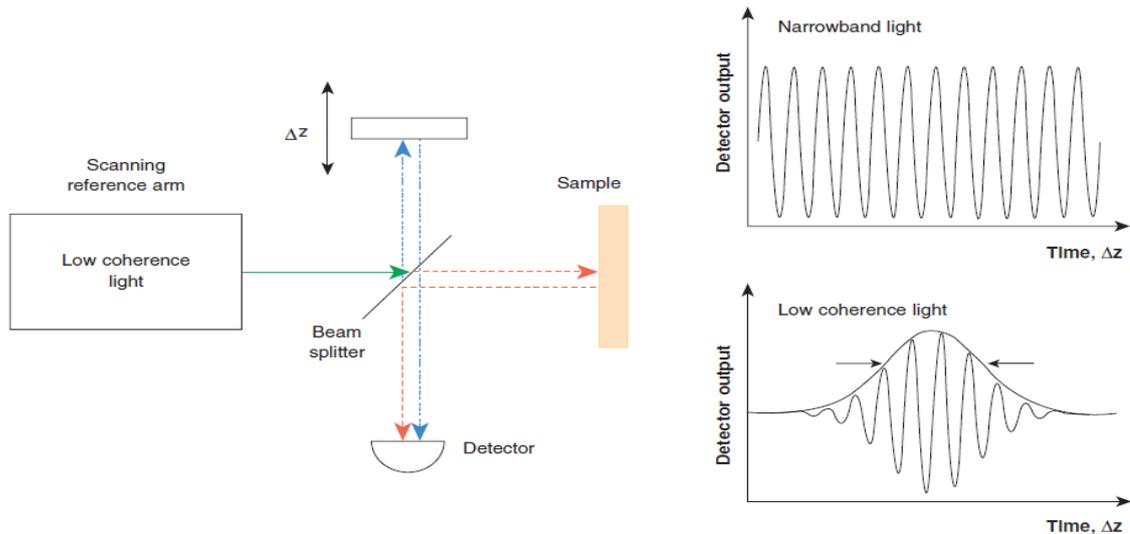


Figura 3.8 Interferómetro de Michelson como parte de un sistema de OCT. A la derecha señales detectadas en función de la coherencia de la fuente. Con una fuente coherente, la señal recibida es una sinusoidal. Con una fuente incoherente, la señal recibida será una sinusoidal de envolvente gaussiana, centrada en el punto donde la distancia del brazo de muestra y de referencia coincide y de ancho (FWHM, *Full Width Half Maximum*) la longitud de coherencia de la fuente. Fuente: [10].

La onda interferente viene determinada por la fase con que se sumen las señales de ambos brazos, y dichas fases dependen de la distancia de cada brazo. Cuando la fuente de luz utilizada es monocromática, la interferencia es una senoide mientras que con fuentes coloreadas, esto es, de ancho espectro, el patrón de interferencia tiene amplitud no uniforme. En este caso, la interferencia tiene su máximo de amplitud en el punto (temporal, posteriormente traducido a posición espacial) donde coincidan las distancias entre brazo de muestra y de referencia. La envolvente de la interferencia será gaussiana y su ancho FWHM será el valor de longitud de coherencia de la fuente de luz (**Figura 3.8**).

3.3 Tomografía de coherencia óptica

Las técnicas de OCT se dividen en dos ramas, según trabajen en el dominio temporal o frecuencial. El esquema básico de funcionamiento es similar en ambos casos. En ambos dominios, el sistema OCT está compuesto por un interferómetro que combina la señal de la muestra y un brazo de referencia para detectar el patrón de interferencia entre ambas (**Figura 3.9**). Dicho patrón depende de la diferencia de

caminos ópticos entre ambos brazos, por tanto la variación de caminos ópticos será el elemento a barrer para penetrar a distintas profundidades en el tejido, siendo el método de barrido la principal diferencia entre unos y otros sistemas. La fuente de luz será también característica de cada tipo de sistema, teniendo todas en común la característica de baja coherencia que se traduce en una gran anchura espectral.

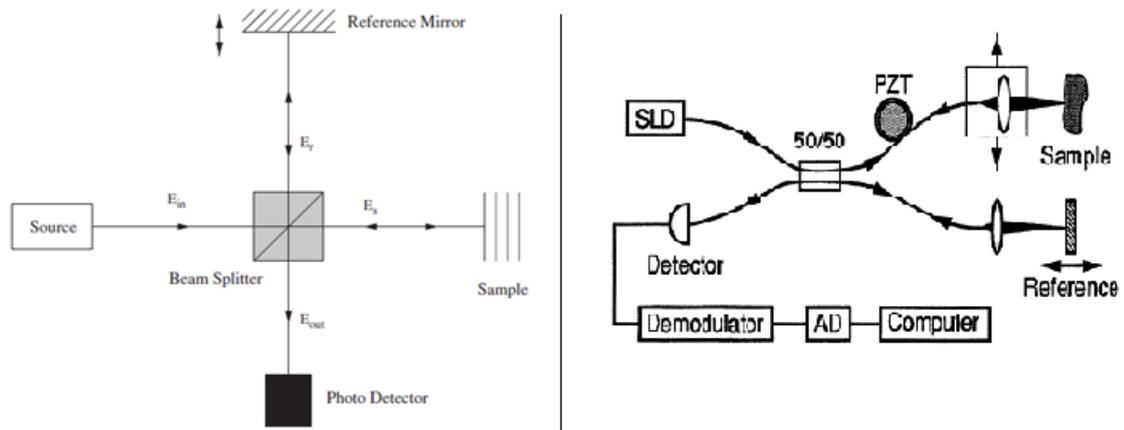


Figura 3.9 Izquierda: Esquema básico de los sistemas OCT en el dominio temporal. El sistema está formado por un interferómetro (en este caso de Michelson) que consta de dos brazos: uno de referencia y otro que lleva a la muestra. La diferencia de caminos ópticos entre estos brazos sirve para variar la penetración. La luz que recorre ambos brazos es combinada y finalmente recibida en el detector. Fuente: [21]. **Derecha:** primer sistema OCT, en el dominio temporal y construido en tecnología de fibra. Las señales se combinan con un acoplador de fibras. Fuente: [8].

La captura básica en un sistema OCT se llama *A-scan* y se toma focalizando la lente en un punto fijo de la muestra. Tras aplicar todo el proceso de interferometría y procesado se tiene un perfil de intensidad de luz retroesparcida frente a profundidad de penetración. El siguiente paso consiste en focalizar la lente en un punto adyacente para tomar otro *A-scan*, de forma que un conjunto de *A-scan* forman un *B-scan*, es decir, una imagen transversal del tejido donde se puede ver la intensidad de luz frente a la profundidad de penetración (**Figura 3.10**). Además se puede hacer un barrido adicional en otro eje, tomando un conjunto de varios *B-scan* para formar un *C-scan* o cubo tridimensional. Todos los sistemas OCT se sirven de galvanómetros para mover un espejo frente a la lente de captura que permite variar el punto de captura y obtener los *B-scan* y *C-scan*.

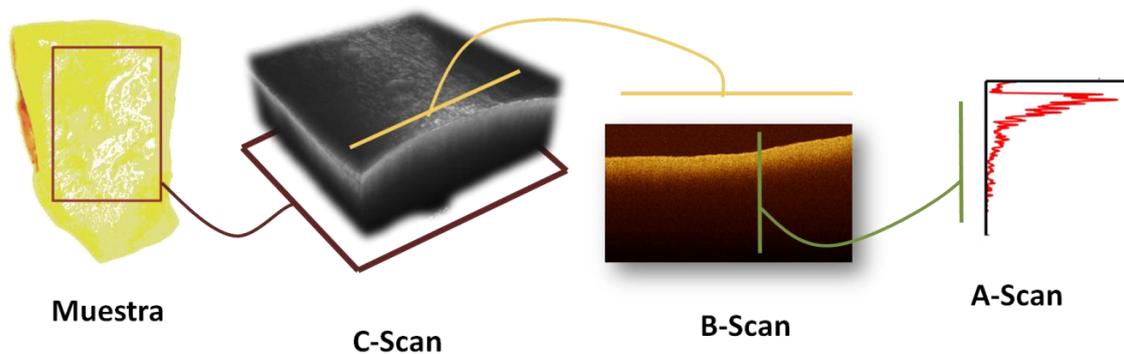


Figura 3.10 a) Resultados de medidas realizadas con un sistema de OCT. De la muestra a medir se obtienen A-scans (perfil de penetración) en cada punto. Varios A-scan forman un B-scan(imagen) y varios B-scan forman un C-scan (cubo).

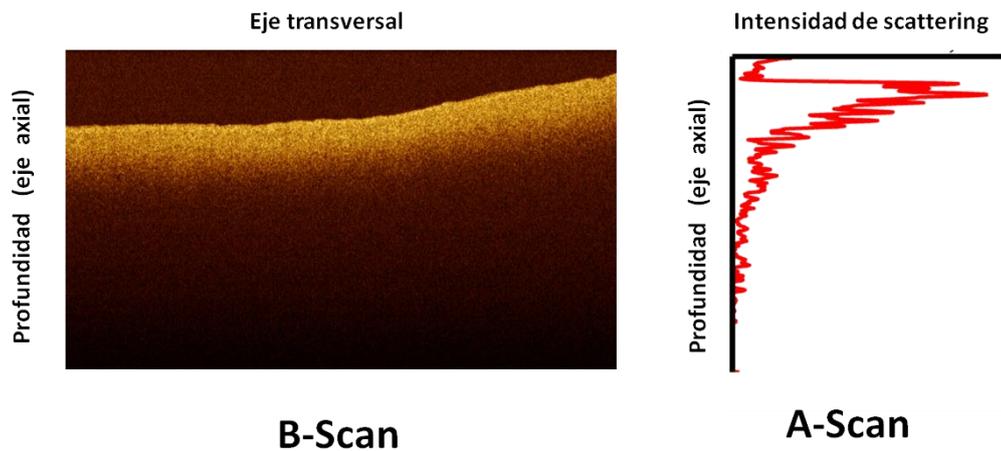


Figura 3.10 b) Resultados de medidas realizadas con un sistema de OCT: B-scan y A-scan. Un A-scan es una medida del perfil en profundidad en base a la intensidad de scattering capturada. La agrupación de varios A-scan forma un B-scan, que muestra una imagen del interior del tejido visto desde la superficie hacia la profundidad de este.

Las principales características de un sistema OCT son su resolución axial (en profundidad), resolución lateral (entre A-scan adyacentes), penetración máxima y relación señal a ruido (SNR). La resolución axial, Δz , viene dada por la longitud de coherencia de la fuente, l_c (**Figura 3.11**). Al interferir la señal consigo misma un tiempo después, la interferencia es la autocorrelación de dicha señal. La envolvente de esta función es equivalente a la transformada de Fourier del espectro de la fuente, por lo que el ancho de esa función de autocorrelación es inversamente proporcional al ancho del espectro [23]. Asumiendo una fuente de espectro gaussiano, aproximación considerada válida en términos generales en la teoría de OCT [21, 23, 24], se tiene:

$$\Delta z = l_c = \frac{2 \cdot \ln(2) \lambda_0^2}{n \cdot \pi \Delta \lambda} \quad (3.1)$$

Siendo λ_0 la longitud de onda central de la fuente y $\Delta \lambda$ su anchura espectral a anchura mitad (FWHM). El índice de refracción n de la muestra es también un limitante de la resolución.

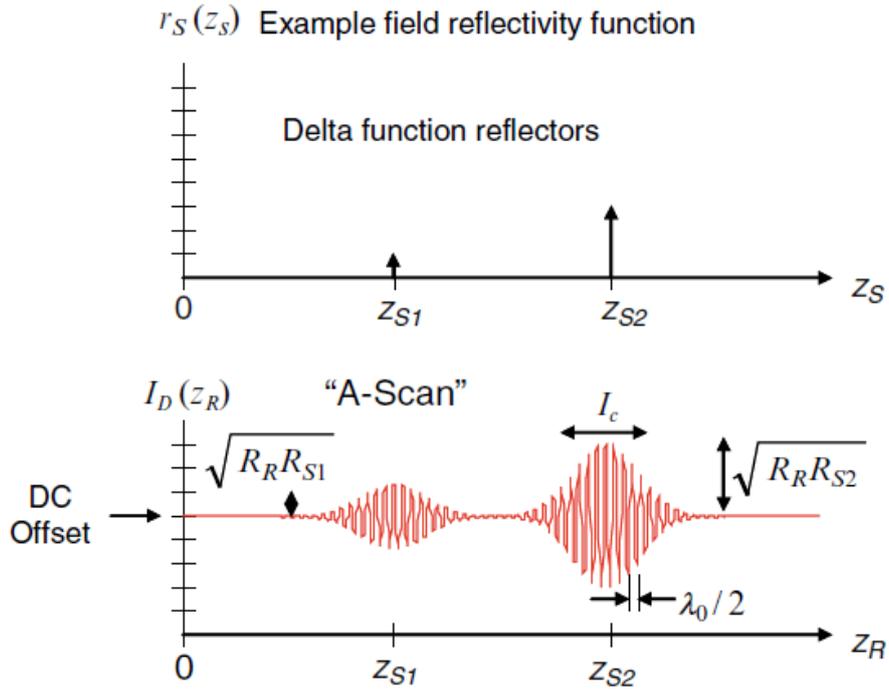


Figura 3.11 Representación de una medida en una muestra con dos eventos reflectivos en forma de delta (gráfica superior). El A-scan resultante (gráfica inferior) está compuesto de pulsos sinusoidales con envolvente gaussiana en los puntos espaciales donde se encontraron las reflexiones. El ancho de estos pulsos es la longitud de coherencia de la fuente, determinando así la resolución axial. Su amplitud es función de la diferencia de índice de refracción entre el relector y la capa anterior. Fuente: [24]

La resolución lateral o transversal, Δx , viene dada por las características de la óptica focalizadora al igual que en microscopía convencional [11]:

$$\Delta x \approx \frac{4\lambda_o f}{\pi d} = \frac{2\lambda_o}{\pi A.N.} \quad (3.2)$$

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

Al focalizar la lente en la muestra se tiene un esquema de focalización como el indicado en la **Figura 3.12**, en función de la apertura numérica de la lente. El punto más estrecho da la resolución lateral del sistema. A partir de este punto, se define la región de Rayleigh (Z_R) como aquella donde el área de enfoque es doble, y el parámetro confocal ($b=2 \cdot Z_R$). Se define la profundidad de enfoque o parámetro confocal b como:

$$b = 2Z_R = \frac{\pi \Delta x^2}{2\lambda_o} \quad (3.3)$$

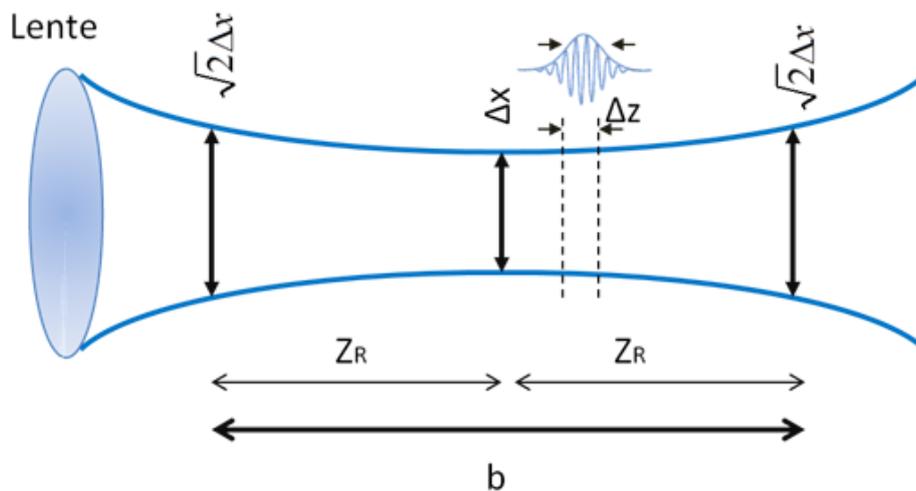


Figura 3.12 Sección de enfoque de un sistema terminado en una lente para un haz gaussiano. Z_R indica la región de Rayleigh, b el parámetro confocal. Se indican además la resolución axial (Δz), lateral (Δx) como el diámetro mínimo y las regiones de área del spot doble respecto a la mínima ($\sqrt{2}\Delta x$).

Lo descrito anteriormente es válido para los distintos tipos de sistemas OCT. Donde se encuentra la diferencia principal entre los tipos de OCT es en el método de barrido en profundidad para obtener un A-scan. Así, hay dos tipos principales de sistema: el sistema en el dominio temporal (*TD-OCT, Time Domain*) y en el dominio frecuencial o de Fourier (*FD-OCT, Fourier Domain*), que a su vez se divide en sistemas de fuente sintonizable (*SS-OCT, Swept Source*) y de fuente con frecuencia fija (*SD-OCT, Spectral Domain*). Los distintos sistemas tienen distintas características en cuanto a SNR y velocidad de adquisición, siendo los de dominio de Fourier más rápidos en adquisición y entre estos los SS-OCT los que proporcionan una mayor calidad de señal frente a ruido.

3.3.1 OCT en el dominio temporal (TD-OCT)

Cómo se ha comentado anteriormente, el patrón de interferencia depende de la diferencia de caminos entre el brazo de muestra y el brazo de referencia. Al utilizar una fuente de gran ancho de banda, el patrón de interferencia se produce de forma correcta sólo cuando la distancia en el brazo de referencia y en el brazo de muestra coinciden y además esta distancia está dentro del rango focalizable. Si se modifica la longitud del brazo de referencia, se estará haciendo un barrido hacia el interior del tejido. Los sistemas en el dominio temporal se basan en este principio y se sirven de un espejo móvil para variar la longitud del brazo de referencia y con ello hacer el barrido en profundidad en la muestra (**Figura 3.13**).

El sistema en el dominio temporal es el más sencillo puesto que la detección se hace con un detector de envolvente y el barrido moviendo el espejo del brazo de referencia con un galvanómetro. El principal inconveniente es que se debe mover el espejo punto a punto para llegar a toda la profundidad del tejido, lo que alarga el tiempo de captura para cada medida.

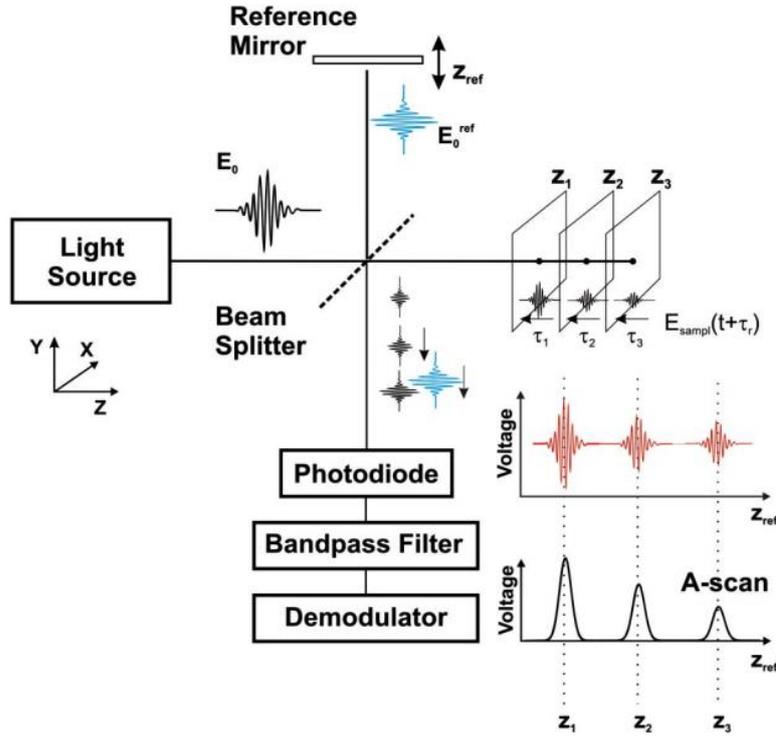


Figura 3.13 Esquema de funcionamiento de un TD-OCT. La señal original E_0 es enviada por la fuente de luz y reflejada en el brazo de referencia. Cuando la distancia de referencia y la capa de la muestra coinciden, se produce una interferencia en el fotodiodo. La portadora será λ_0 y la envolvente indica el punto espacial donde se produce la interferencia en la muestra y el nivel de la reflexión. Fuente: [25].

La ecuación que describe la intensidad recibida en el detector es la composición de las amplitudes de la intensidad reflejada en brazo de referencia y en el brazo de muestra. Pero también hay un término que depende de la función de correlación de la fuente y de las diferencias de fase de las señales interferentes. La intensidad recibida en un instante τ será la siguiente [25]:

$$I(\tau) = I_0 R_R + I_0 \sum_n R_{S_n} + 2I_0 \sum_n \sqrt{R_R R_{S_n}} |\gamma(\tau_n)| \cos(\omega\tau_n) \quad (3.4)$$

Donde I_0 es la intensidad en la fuente, R_R es el coeficiente de reflexión en el brazo de referenica y R_{S_n} en cada n –ésimo elemento reflectivo de la muestra. Los dos primeros elementos de la suma son constantes. El tercer elemento representa la correlación cruzada entre las señales y depende del instante temporal y por tanto del barrido en el espejo de referencia. El término $\gamma(\tau_n)$ es el grado de coherencia de la fuente, su autocorrelación de campo eléctrico normalizada:

$$\gamma(\tau) = \frac{\langle E^*(t)E(t+\tau) \rangle}{\sqrt{I_0 R_R + I_0 R_S}} \quad (3.5)$$

Que siendo una fuente de baja coherencia tomará valores pequeños cuando el instante τ se aleje del inicial.

En cuanto al ruido, hay tres fuentes principales en el sistema: la fuente produce ruido de intensidad o RIN, y en el detector se produce ruido shot, debido a la recepción espontánea de electrones en el receptor y ruido térmico, en la resistencia que ve la intensidad fotodetectada, ya sea la carga o el preamplificador. En general, la fuente de ruido shot en estos sistemas da una mayor densidad de ruido, lo que hace a las otras despreciables. Además, el ruido shot está dominado por la intensidad procedente del brazo de referencia, que aporta más potencia que el brazo de muestra debido a las atenuaciones de este. Por tanto, la potencia de ruido queda de la siguiente forma [24]:

$$\sigma^2 = 2qSR_R B \quad (3.6)$$

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

La potencia de señal será:

$$I^2 = \rho R_S R_R S \quad (3.7)$$

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

$$SNR = \frac{\rho R_S R_R S}{2qSR_R B} = \frac{\rho R_S}{2qB} \quad (3.8)$$

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

3.3.2 OCT en el dominio de Fourier (FD-OCT)

Este tipo de sistemas se llama de Fourier porque no obtiene directamente el perfil de la muestra en profundidad, sino que lo hace a través de una transformada inversa de Fourier. El elemento clave es el elemento detector: mientras en el dominio temporal el detector es un elemento que captura fotocorriente en distintos instantes temporales, en el dominio frecuencial se detectan todas las longitudes de onda del espectro. Esto hace que los sistemas en el dominio de Fourier sean mucho más rápidos que en el dominio temporal ya que, mientras este debe ir barriendo en profundidad, en el espectral se captura de una sola vez todo el espectro que contiene la información en profundidad.

En la forma en que se detecta este espectro es donde se encuentra la diferencia entre el sistema espectral (SD-OCT) y de barrido de fuente (SS-OCT) (**Figura 3.14**). El primero utiliza una fuente de ancho espectro y un espectrómetro que separa las longitudes de onda en un elemento receptor CCD. En el caso de SS-OCT, el detector es un único fotodiodo, pero la fuente barre las longitudes de onda del espectro, de forma que tras la captura se puede reconstruir el espectro, similar al obtenido en el caso SD-OCT.

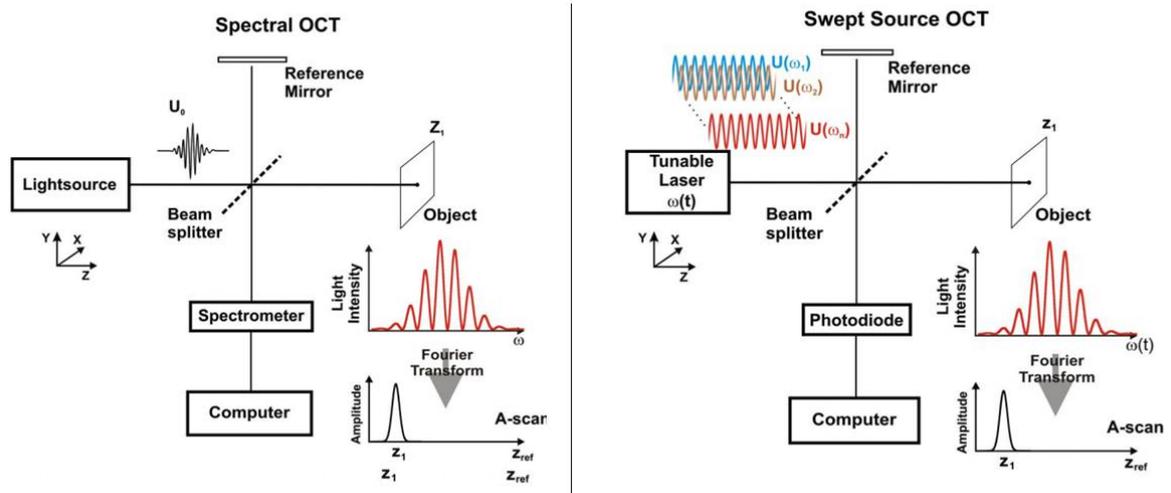


Figura 3.14 Esquemas básicos de los sistemas en el dominio de Fourier. A la izquierda se encuentra el sistema espectral. A la derecha el sistema con fuente sintonizable. Fuente: [25].

Con estas configuraciones se captura el espectro de la interferencia, no su amplitud temporal. Aplicando la transformada inversa de Fourier se puede pasar del dominio frecuencial al dominio temporal, obteniendo así un perfil de reflexiones similar al del caso temporal. Puesto que la interferencia se hace en el dominio frecuencia la ecuación que lo describe es la siguiente [25]:

$$\begin{aligned}
 S(\omega) = & S_o(\omega)R_R + S_o(\omega) \sum_n R_{Sn} + \\
 & 2S_o(\omega) \sum_n \sqrt{R_R R_{Sn}} \cos(\omega\tau_n) + \\
 & 2S_o(\omega) \sum_{n \neq m} \sqrt{R_{Sm} R_{Sn}} \cos(\omega\tau_{nm})
 \end{aligned} \tag{3.9}$$

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

Puesto que la transformada del espectro $S_o(\omega)$ de la fuente es la autocorrelación temporal de esta, $\Gamma(\tau)$ (es la función $\gamma(\tau)$ sin normalizar):

$$S_o(\omega) \xrightarrow{\text{TF}^{-1}} \Gamma(\tau) = \langle E^*(t)E(t + \tau) \rangle \tag{3.10}$$

Al aplicar la transformada inversa a la interferencia queda:

$$\begin{aligned}
 I(\tau) = & \Gamma(\tau)R_R + \Gamma(\tau) \sum_n R_{Sn} + \\
 & \sum_n \sqrt{R_R R_{Sn}} [\Gamma(\tau) \otimes (\tau \pm \tau_n)] + \\
 & \sum_{n \neq m} \sqrt{R_{Sm} R_{Sn}} [\Gamma(\tau) \otimes (\tau \pm \tau_{nm})]
 \end{aligned} \tag{3.11}$$

Con lo que al estar convolucionado, en cada reflexión encontrada se traslada la forma temporal de la autocorrelación, y por tanto de nuevo la resolución es la longitud de coherencia, que es el ancho de esa función de autocorrelación. Las interferencias entre las componentes de las reflexiones ($n \neq m$) se producen a distancias más pequeñas que con la referencia, con lo que en el eje temporal quedan más cerca del origen y son las causantes del ruido de coherencia (**Figura 3.15**). Por último, se observa el signo \pm , que producirá la imagen conjugada.

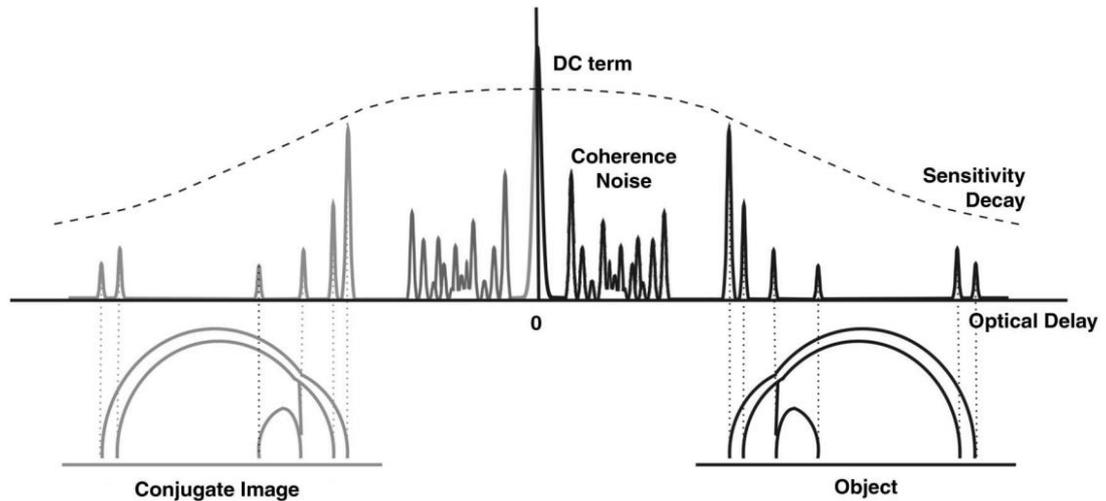


Figura 3.15 Perfil en profundidad o A-scan de un globo ocular tras aplicar la transformada inversa de Fourier a la interferencia espectral. Aparece una parte conjugada debido al proceso matemático. Se identifica el ruido de coherencia (*Coherence Noise*) y la caída de sensibilidad (*Sensitivity Decay*). Fuente: [25].

Estos sistemas son sensibles al número de elementos espectrales capturados, que vendrá dado por la precisión de la red de difracción en el espectrómetro o por el ancho de línea en la fuente de barrido, según el caso. Esto limita la sensibilidad de medida en profundidad (*sensitivity falloff* o *sensitivity decay*). Además, las distintas reflexiones dentro de la muestra producen unos términos de autocorrelación, constituyendo el denominado ruido de coherencia y que tras la transformada de Fourier se sitúa en torno a la profundidad cero (**Figura 3.15**). Por último, aparece un término constante en esa profundidad cero debido a la diferencia de longitudes entre los brazos, ya que aquí no se modifica la distancia en el brazo de referencia.

La profundidad máxima de penetración en estos casos no viene tanto marcada por la capacidad de focalización de la lente si no por la discretización del espectro. Dicha profundidad será [21]:

$$Z_{m\acute{a}x.} = \frac{1}{4 \cdot n_{medio}} \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} N \quad (3.12)$$

donde N es el número de detectores en el array detector (SD-OCT) o de longitudes de onda en la fuente (SS-OCT) y n_{medio} es el índice de refracción medio de la muestra. λ_0 y $\Delta\lambda$ son la longitud de onda central y el ancho de la fuente respectivamente.

Finalmente, el ruido en FD-OCT se ve reducido frente a TD-OCT debido a que se recibe en varias frecuencias, ampliando así la potencia. [26]

$$SNR = SNR_{TD} \frac{N}{2} \quad (3.13)$$

El factor N se aplica asumiendo que todas las longitudes de onda tienen igual potencia (espectro de la fuente plano). El factor $\frac{1}{2}$ se debe a que en realidad no se trabaja con la potencia del conjugado.

En este aspecto SS-OCT tiene otra ventaja adicional y es que, frente a las fuentes de SD-OCT y TD-OCT, que deben ser anchas, SS-OCT puede utilizar fuentes laser ya que el gran ancho de banda se consigue a través del barrido. Por esta razón las fuentes en estos sistemas pueden proporcionar mayor potencia y obtener una mejor relación señal a ruido.

3.3.3 OCT sensible a la polarización (PS-OCT)

Los sistemas descritos anteriormente toman medidas de la intensidad en las reflexiones, que permiten detectar distintos elementos y capas en la muestra. Los sistemas sensibles a la polarización no sólo miden esa intensidad en las reflexiones sino que además miden diferencias en la polarización entre las distintas reflexiones. El esquema básico consiste en separar la señal recibida en dos componentes de polarización transversal y colocar un detector para cada polarización (**Figura 3.16**). Además debe haber un control de la polarización en todo el sistema, desde la propia fuente.

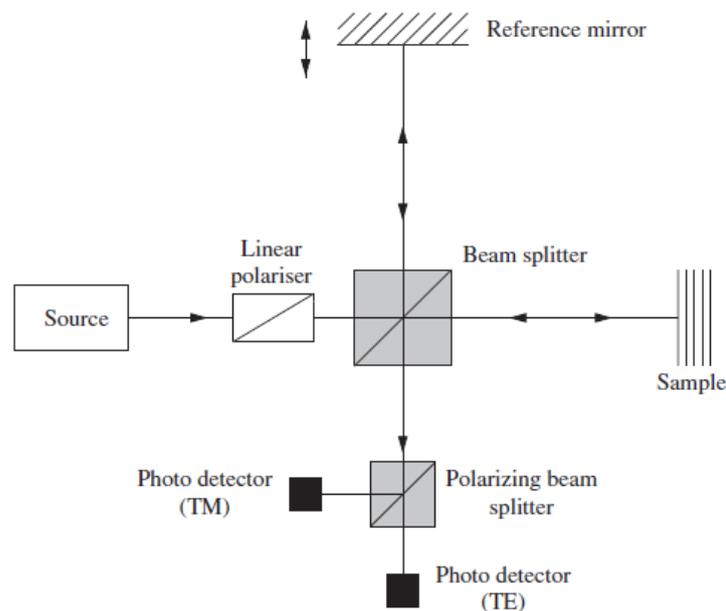


Figura 3.16 Esquema básico de un sistema PS-OCT. El mostrado es un sistema en el dominio temporal. Fuente: [21]

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

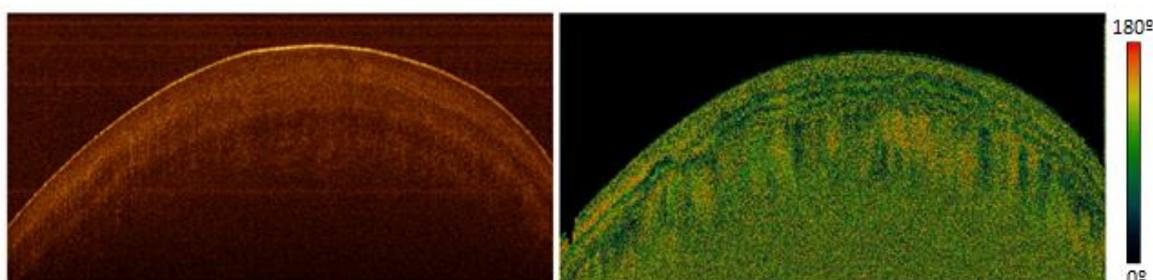


Figura 3.17 Izquierda: captura en intensidad de reflexión SS-OCT de una uña y dedo humano. Derecha: captura de PS-OCT. En este último se muestran los desfases entre los dos caminos de polarización de 0° (negro) a 180° (rojo).

3.4 Descripción del equipo OCT utilizado

El equipo utilizado en este proyecto es del tipo de fuente sintonizable (SS-OCT). Es un equipo comercial OCS1300SS del fabricante Thorlabs que consta de un módulo de medida en intensidad de reflexión y un módulo de medida en diferencia de polarización. Las principales características del sistema (**Figura 3.18**) son la longitud de onda de trabajo, 1325nm con un ancho de banda FWHM superior a 100nm, penetración de 3mm, resolución axial (en profundidad) de 12 μm y transversal o lateral de 25 μm . La resolución axial y penetración se dan para el aire como medio a medir, aunque los valores efectivos son dichos valores divididos entre el índice de refracción del material a medir (**Ecuaciones 3.1 y 3.12**).

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

Figura 3.18 Resumen de características del equipo OCS1300SS. Fuente: manual del equipo.

El equipo está fabricado en tecnología de fibra, utilizando un acoplador para sumar las señales de muestra y referencia, produciendo la interferencia. A continuación es detectada en un detector balanceado que aporta mejor cancelación de ruido. La señal interferente es finalmente digitalizada y después de ser procesada, se puede continuar con el escaneo de la muestra en otro punto tras mover el galvanómetro (**Figura 3.19**).

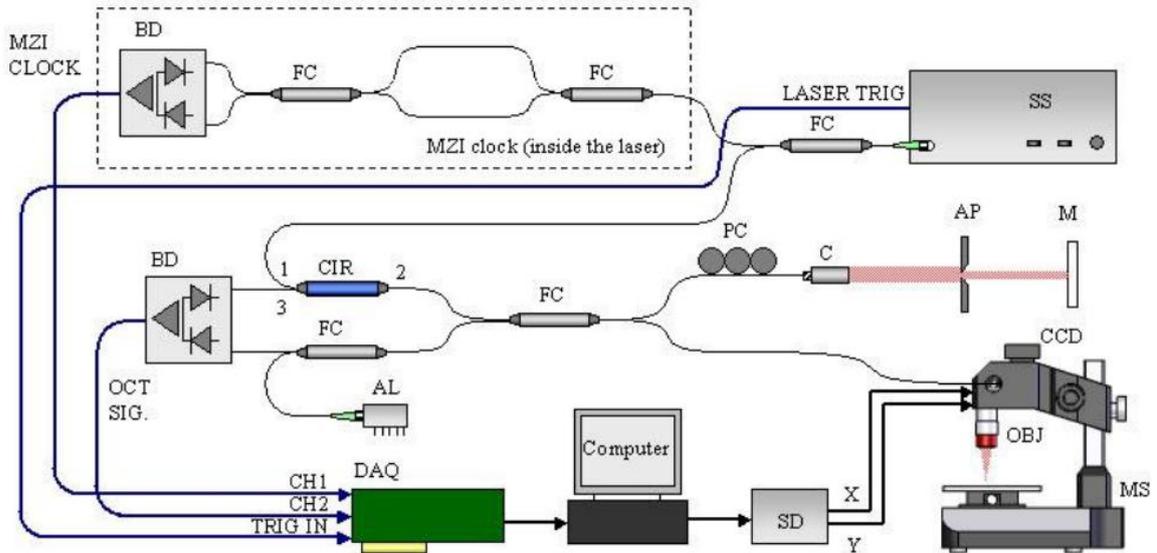


Figura 3.15 Esquema del equipo OCS1300SS. El laser sintonizable (SS) utiliza un interferómetro Mach-Zehnder como referencia de reloj (independiente del interferómetro de Michelson para la aplicación OCT). La detección la hace con detectores balanceados (BD). El resto de elementos son circuladores (CIR), acopladores (FC), control de polarización (PC), atenuador variable (AP), espejo (M) y control (AL), colimador (C). Fuente: manual del equipo de Thorlabs.

El sistema sensible a la polarización funciona de igual forma, con dos detectores, para la polarización horizontal y vertical. Por la forma en que está diseñado el equipo, no lleva reloj sino que queda guardada esa información previo uso del sistema de intensidad (**Figura 3.20**).

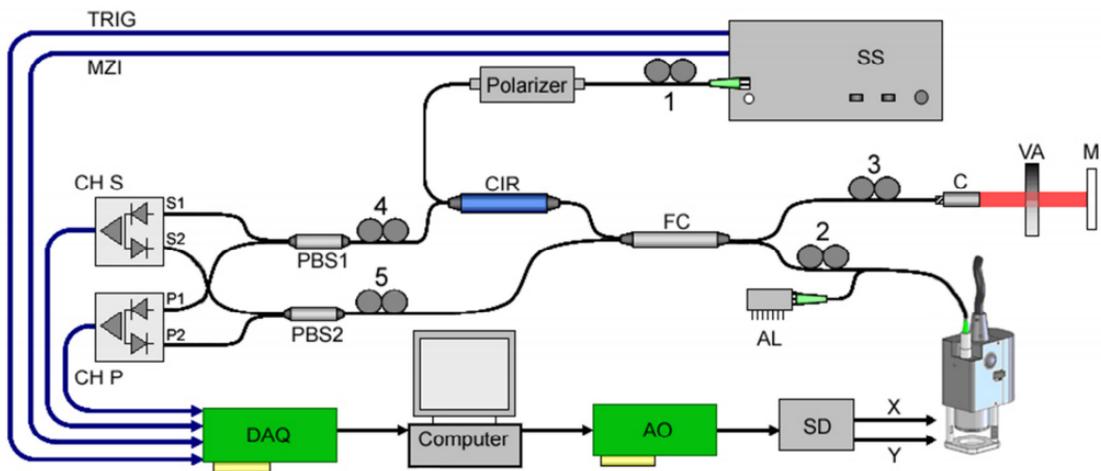


Figura 3.20 Esquema del módulo de medida en polarización. Consta de dos canales: polarización vertical (S) y horizontal (P), con divisores de polarización a su entrada (PBS). Los elementos 1 a 5 son polarizadores para la calibración de la diferencia de polarización. Fuente: manual del equipo de Thorlabs.

Con este equipo se realizaron las capturas B-scan (imágenes en 2 dimensiones, **Figura 3.21**) con una configuración de 512x1024 píxeles por imagen (profundidad x lateral), para unas dimensiones reales de 3x10 mm, siendo la profundidad de visualización inferior a 3mm debido a la atenuación producida por el tejido.

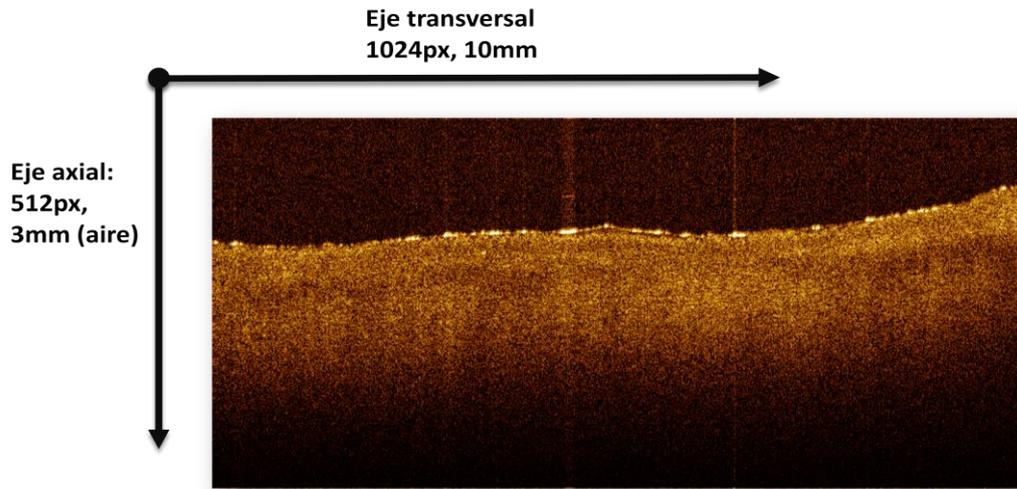


Figura 3.21 Dimensiones de las medidas tomadas con el equipo.

Capítulo 4

Técnicas de procesado

4.1 Pre-procesado

La información proporcionada por un equipo de OCT puede ser visualizada o manejada de diferentes formas. La forma básica de esta información es el perfil de interferencia de una muestra en un eje de profundidad perpendicular a esta. Con esta interferencia se obtiene un A-scan o perfil de penetración en un punto concreto de la muestra, y juntando varios A-scan adyacentes se puede tener una imagen a modo de corte del tejido o B-scan. Por último, se pueden juntar varios B-scan y obtener un cubo, como si se tratase de un trozo de la propia muestra. En general se suele trabajar con las imágenes (B-scan) por inspección visual, ya que aporta más información que un A-scan simple y es más fácil de tratar y representar que un cubo tridimensional. Al inspeccionar un B-scan se tiene un corte en profundidad del tejido y por tanto permite a simple vista observar diferentes capas, inhomogeneidades y diferencias estructurales.

A la hora de realizar un procesado automático, se trata de aplicar los mismos principios que se aplican a simple vista, o mejores si se puede, de forma independiente de cada muestra. Las peculiaridades de cada captura son una pega para esta automatización y por este motivo es necesario adaptar las imágenes eliminando u homogeneizando las peculiaridades no deseadas. Tanto los B-scan como los A-scan se ven afectados por los mismos efectos indeseados para el procesado, que se centran en ruido, detección de la interfaz de aire-muestra y segmentación de la capa íntima.

4.1.1 Ruido y artefactos de medida

Los sistemas OCT no están exentos de ruido, a pesar de su alta SNR. Este ruido se hace visible en los A-scan y B-scan, como pequeñas fluctuaciones altas frecuencias en el primero y como *speckle* o gránulos de diferentes intensidades en el segundo caso, que afectan a regiones del tamaño de unos pocos píxeles. Para llevar a cabo un procesado automático de la imagen es necesario reducir el efecto del ruido como paso previo. Para minimizar el ruido se efectúan las capturas ajustando el rango dinámico de medida a un valor óptimo y se efectúan promediados temporales (2 ó 4 muestras según la capacidad del equipo) para reducir el ruido. El ruido se hace patente en las regiones donde la intensidad de señal es baja y por tanto decae la SNR (aire y zona más profunda en la muestra), aunque en las regiones de interés en la propia muestra no es tan perjudicial, puesto que la SNR es de valores superiores (**Figura 4.1**).

Hay otro tipo de ruido de gran intensidad en los llamados artefactos de medida. Estos artefactos se expresan como líneas verticales de intensidad igual o superior al resto de la muestra y son debidos a reflexiones especulares de gran intensidad en la superficie de la muestra. Al producirse esta reflexión en la superficie, en primer lugar la luz no penetra en el material y por tanto no se pueden detectar capas. En segundo lugar, si penetra una pequeña parte de luz, la gran intensidad de la reflexión especular la ciega. Por tanto, una reflexión especular no se puede corregir, por lo que la solución pasa por evitar que se produzcan. Por este motivo es necesario eliminar el suero salino de la superficie de la muestra, aunque por motivos de deterioro del tejido, se debe mantener este hidratado. El tratamiento de los artefactos no evitados es diferente en

función del procesado posterior: interpolación con los valores de píxeles adyacentes para el pre-procesado de detección de borde, o directamente su eliminación para el procesado final de la imagen.

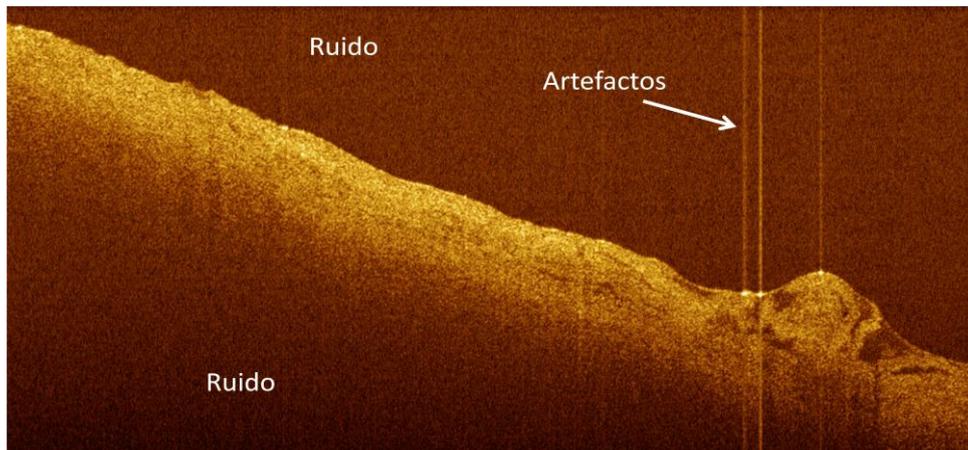


Figura 4.1 Captura de OCT ruidosa. Se aprecian artefactos de medida debidos a reflexiones especulares y ruido de tipo speckle en las regiones de baja SNR.

4.1.2 Detección de interfaces

El deterioro de la pared arterial se centra principalmente en la capa media de la arteria y por este motivo es importante centrar el análisis en esta región. Para el análisis automático es necesario aplicar un pre-procesado y detectar principalmente la parte de la captura que se corresponde con la muestra, descartando la parte que se corresponde con aire justo sobre la superficie (Figura 4.2).

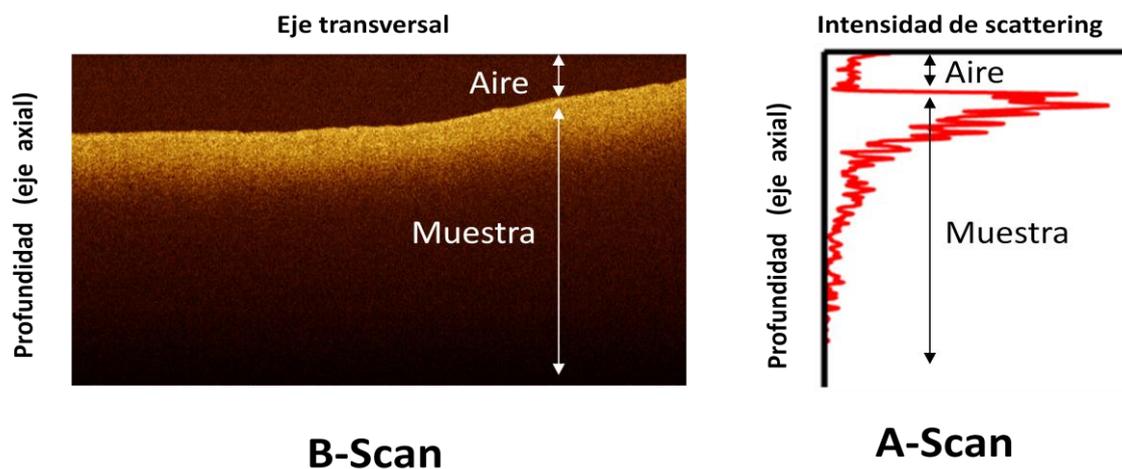


Figura 4.2 Esquema de una imagen (B-scan) y perfil de penetración (A-scan). Ambos representan un corte del tejido desde su superficie hacia el interior de la muestra. La captura incluye una pequeña región de aire sobre la superficie de la muestra. Se puede apreciar el efecto del ruido en ambos casos.

El método de de detección de la interfaz se centra en eliminación de ruido, detectar la región de aire y segmentación de la capa íntima. Posteriormente y en base a esa interfaz se aplicarán diferentes estrategias en el procesado de A-scan y B-scan. Este proceso se aplica en cada imagen obtenida de forma independiente.

El primer paso consiste en la eliminación del ruido. Las imágenes están capturadas en formato RGB y tienen una tonalidad amarilla. Esto hace que la componente azul tenga poca presencia en la imagen y sólo esté presente en los valores de mayor intensidad (cercano al blanco), con lo que su baja presencia en las zonas de baja intensidad se ve menos afectada por el ruido. El razonamiento anterior es fruto de un análisis de varias imágenes del conjunto y se ha comprobado un comportamiento mejor que otros métodos probados de eliminación de ruido. Por tanto, la detección de la interfaz se hace sobre la componente azul, para luego superponer la línea detectada sobre la imagen original (**Figura 4.3**).

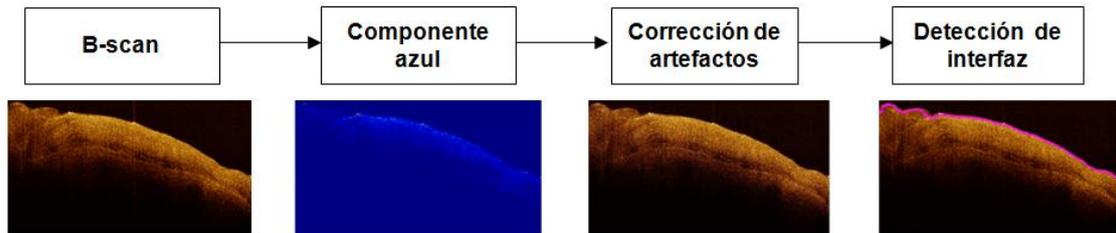


Figura 4.3 Línea de trabajo para la detección de la interfaz aire-muestra. La interfaz es obtenida de la componente azul de la imagen como método de reducción de ruido y posteriormente es aplicada sobre la imagen original.

Una vez reducido el ruido, el siguiente paso es eliminar los artefactos de medida. El proceso consiste en seleccionar una región de la parte superior de la superficie, de la que se sabe que es aire. En esta región se calcula el cuartil superior (Q_3 , 75% de ocurrencia) y el rango intercuartil (IQR, entre el 25% y 75%) [27,28]. Se establece un umbral para la detección de artefactos, de forma que los A-scan que superan este umbral son considerados artefactos:

$$I_{artefactos} = Q_3 - k \cdot IQR \quad (4.1)$$

El valor k es una constante con valor 1.5 que permite hacer un pequeño ajuste. Al ser detectado como artefacto, se interpola su valor con los píxeles adyacentes. En este paso la componente azul está más 'limpia' para detectar la interfaz. A continuación se calcula la desviación estándar, σ y la media, m , de la imagen para establecer el umbral de detección de la parte de muestra, de forma que los valores que superen este umbral son considerados muestra y no aire:

$$I_{interfaz} = m + 2\sigma \quad (4.2)$$

Este umbralizado se aplica para cada línea, desde el aire hasta la zona profunda, de forma que se pueda detectar en cada línea por separado el paso de aire a muestra (**Figura 4.4**).

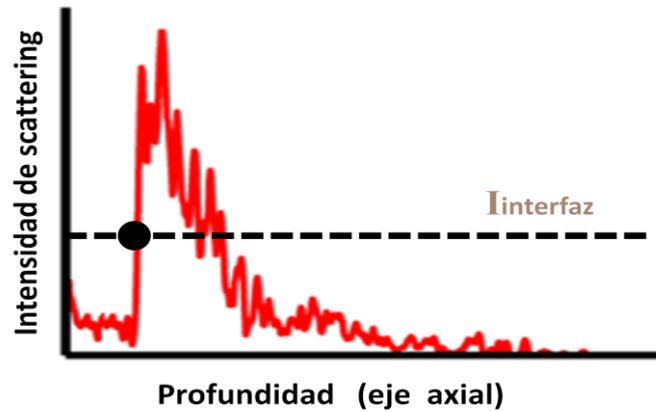


Figura 4.4 A-scan y representación del umbral para hallar el salto de la zona de aire (baja intensidad reflejada) a la muestra.

La detección del borde puede presentar alguna inhomogeneidad debido a pequeñas alteraciones en la superficie, presencia de acumulaciones de suero salino o artefactos muy gruesos que no se hayan corregido completamente. El último paso consiste en aplicar un suavizado a la línea obtenida como interfaz, ya que la superficie de la muestra varía más lentamente que estos efectos indeseados.

El objetivo de detectar la superficie es diferenciar la parte de la imagen que es aire de aquella que es muestra. En el caso del análisis en dos dimensiones, se utiliza este borde como frontera para centrar el análisis solamente en la muestra y no en el aire. No se hacen modificaciones en la imagen ya que estas cambiarían los resultados del análisis textural. En el caso del análisis en una dimensión, el análisis se aplica a cada línea vertical o A-scan independientemente de los adyacentes. En este caso, eliminar la región de aire en la imagen es equivalente a aplanar la imagen (**Figura 4.5**). Si no se hace este aplanado, el ajuste no se corresponderá exactamente con el tejido de interés y no se podrá comprar los ajustes de muestras de control y aneurisma de forma correcta.

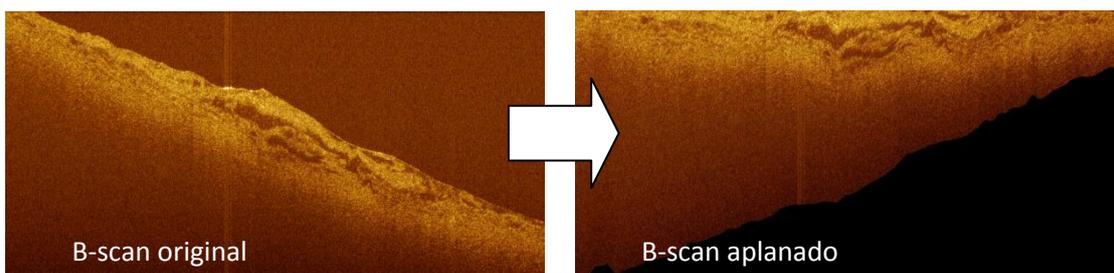


Figura 4.5 B-scan antes y después de ser aplanado. La estructura en capas de la arteria determina la necesidad de este procesado para trabajar en la capa deseada.

Este método se ha aplicado sobre un conjunto de 129 muestras y tras una inspección del conjunto de imágenes tratadas, se ha detectado de forma correcta la superficie en 111 casos, dando pequeños fallos en 18 imágenes debido a un elevado número de artefactos en estas. Esto supone un 86% de imágenes bien aplanadas, que se dan cuando la presencia de artefactos no es elevada y por tanto se puede optimizar para medidas posteriores minimizando los artefactos.

4.1.3 Segmentación de la capa íntima

El análisis de la pared aórtica se ha centrado en la capa media puesto que esta presenta más diferencias estructurales en cuanto a deterioro de su estructura en caso de aneurisma. La interfaz aire-muestra indica donde comienza la arteria y por tanto indica donde comienza la capa íntima. Puesto que se quiere trabajar con la capa media, hay que hacer un paso similar a la detección de la interfaz aire-muestra y aplicarla a la detección de la interfaz íntima-media. Pero éste problema no puede ser afrontado de la misma forma puesto que no es posible distinguir de forma precisa a simple vista entre capas. Es por esto que la segmentación de la íntima se ha hecho con los grosores de capa íntima proporcionados por los patólogos tras el análisis histológico.

A partir de los valores de grosores de la capa íntima dados por los patólogos se han calculado la media y varianza en micras (**Tabla 4.1**). También se ha traducido este valor en píxeles considerando el índice de refracción de la capa íntima $n = 1.35$ [10,29] para una longitud de onda cercana a la de trabajo, 1300nm. A partir de las medidas en micras, se puede hacer una estimación del grosor en píxeles sabiendo que, en aire, se utilizan 512 píxeles para proporcionar 3mm de penetración y teniendo en cuenta la **ecuación 3.12**, que indica que la penetración es inversamente proporcional a n . Es este caso se tiene un factor de conversión de:

$$\frac{512 \text{ píxeles}}{3 \text{ mm} / 1.35} = 0.234 \frac{\text{píxeles}}{\mu\text{m}} \quad (4.3)$$

Grosor íntima (micras)	Aneurisma	Control
<i>Media</i>	52.60	62.23
<i>Desviación estándar</i>	68.17	73.73
Grosor íntima (píxeles)		
<i>Media</i>	12.11	14.33
<i>Desviación estándar</i>	15.7	16.98
Grosor media (micras)		
<i>Media</i>	1410.8	1585.30
<i>Desviación estándar</i>	201.01	93.85

Tabla 4.1 Tabla de valores medios y desviación de grosores de las capa íntima y media dados por las medidas en histología y conversión en píxeles equivalentes para $n=1.35$ en la capa íntima.

Finalmente, para segmentar la capa íntima se trabaja con la imagen unos píxeles por debajo del borde detectado. El valor seleccionado es de 20 píxeles, ya que es un valor mayor que el grosor medio de la íntima que permite asegurar que se está trabajando sobre la capa media. Variaciones en este valor no afectaron de forma apreciable en los procesados posteriores.

La dependencia de la penetración con el índice de refracción es aplicable a la profundidad de penetración en la muestra. Si en aire esta penetración es de 3mm, en la capa media será de aproximadamente $3/1.35 = 2,22$ mm. Esta profundidad permite

penetrar hasta bien adentrada la media, ya que se supera con creces el grosor medio de la íntima.

4.2 Procesado en 1D: ajuste por coeficientes

La medida de A-scan representa medidas de intensidad de luz recibida en una dimensión, la dimensión de profundidad. Cuando la luz penetra en un material, la atenuación que sufre sigue una caída exponencial dependiente de dicho material según la ley de Beer Lambert [30]. Puesto que las muestras sanas y enfermas presentan diferencias en la estructura de sus paredes, estas diferencias se hacen patentes en el perfil de penetración en cada tipo de muestra. El análisis de estos perfiles de atenuación puede ser por tanto un elemento útil para evidenciar el deterioro de la pared arterial (**Figura 4.6**).

Como se ha comentado en la sección anterior, el análisis se ha de centrar en la capa media, por lo que es necesaria eliminar la sección de aire de la imagen, aplicando el aplanado y la segmentación de la íntima mencionados en el pre-procesado.

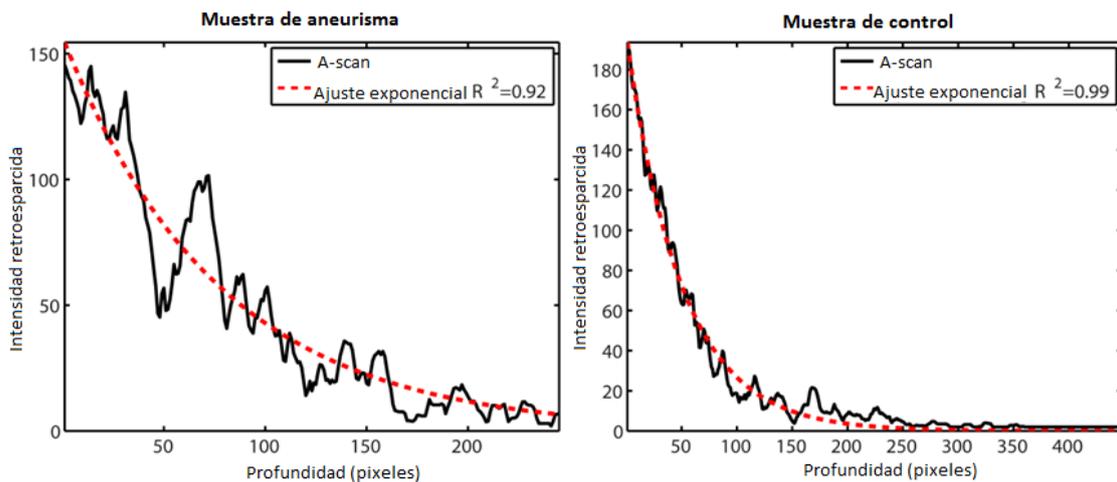


Figura 4.6 A-scan de una muestra de aneurisma (izquierda) y de control (derecha) tras el aplanado previo. En ambos casos se ha aplicado un ajuste por una curva exponencial y se ha medido la bondad del ajuste en base al coeficiente de correlación de Pearson (R).

Una vez se tiene preparada la imagen, el ajuste en una dimensión consiste en tomar cada A-scan que compone la imagen y aplicar un ajuste por una función matemática. Se seleccionaron dos tipos de ajuste: un ajuste exponencial y un ajuste por un polinomio de grado tres (**Figura 4.7**). El primer tipo de ajustes es más físico ya que se corresponde con la ley de Beer Lambert, que indica que la atenuación de la luz en un material sigue una curva exponencial [30]:

$$I(z) = Ae^{\alpha z} + C \quad (4.4)$$

Donde $I(z)$ representa la variación de intensidad con la penetración, α es la constante de atenuación del medio, A representa la potencia de *scattering* o esparcimiento y C un offset de intensidad.

El segundo tipo de ajuste, un polinomio de grado tres es un ajuste surgido de la observación del perfil. Al haber marcados eventos en distintas profundidades del tejido, en estas no se sigue de igual manera la curva exponencial y un polinomio puede aportar un mejor ajuste:

$$I(z) = Az^3 + Bz^2 + Cz + D \quad (4.5)$$

Donde los coeficientes A a D no se corresponden con ninguna magnitud física.

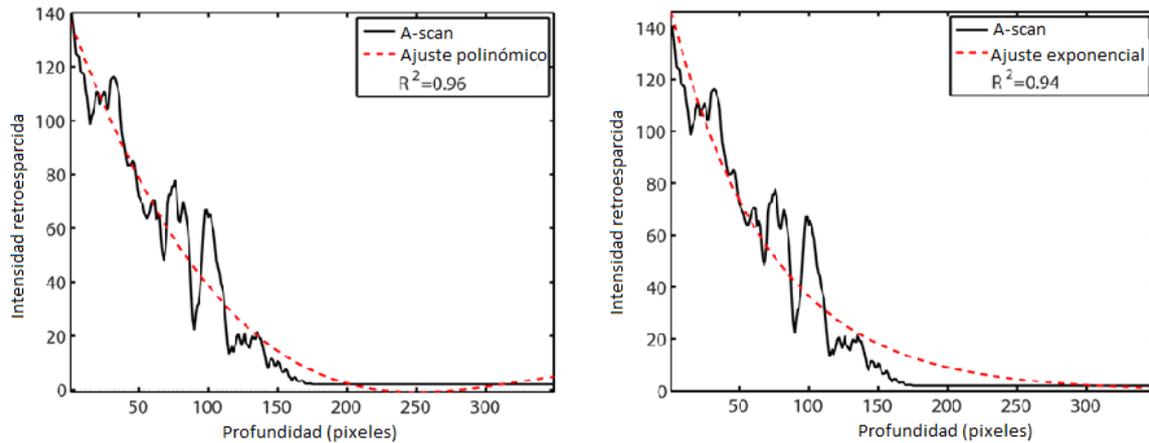


Figura 4.7 Ajuste polinómico (izquierda) y exponencial (derecha) de un A-scan para una muestra con aneurisma. en el caso presentado, el ajuste polinómico proporciona un mayor grado de ajuste en base al coeficiente de correlación de Pearson.

Los parámetros obtenidos en cualquier caso, permiten obtener una reconstrucción sintética del perfil de atenuación y permite comparar los perfiles de las muestras en base a esos parámetros de ajuste.

El criterio elegido para medir la calidad del ajuste es el coeficiente de Pearson. Este coeficiente mide la correlación entre dos señales x e y como [31]:

$$r = \frac{Cov(x,y)}{\sigma_x \sigma_y} \quad (4.6)$$

siendo $Cov(x,y)$ la covarianza entre las señales x e y , σ_x, σ_y la desviación estándar de x e y respectivamente. En general, se considera que dos señales ‘se parecen’ para $r > 0,9$.

4.3 Procesado en 2D: análisis textural

La ventaja de un B-scan es que comprende la información de un A-scan y la de sus adyacentes. Con un análisis visual de las imágenes se pueden conocer más características del tejido, que permiten intuir con qué se corresponden unos u otros picos y regiones que se podían intuir en un A-scan, ya que a simple vista se puede diferenciar eventos de gran tamaño (decenas de pixeles) en una imagen. Aun así, para estudiar las características de dichas imágenes de forma automática y con elementos

de cuantificación, se ha aplicado un método textural basado en matrices de coocurrencia.

Una textura es un patrón que se repite en la formación de una imagen o una estructura, a un nivel inferior a esta. Aplicado al caso de imagen OCT de arterias, la estructura principal sería por ejemplo la propia arteria o la capa media, en la que centramos el análisis y una textura la disposición de los gránulos en la esta estructura. El análisis textural va más allá por tanto de los grandes rasgos de la imagen y se centra en pequeños elementos en esta.

En este caso se ha aplicado un método de matrices de coocurrencia de niveles de intensidad. Este método se basa en hacer un cómputo del número de repeticiones de un determinado patrón en la imagen y almacenarlo en una llamada matriz de coocurrencia. Este método necesita un parámetro principal a establecer que es la distancia de coocurrencia, que indica la longitud de los patrones que se van a buscar en la imagen. El funcionamiento básico se ilustra en la **Figura 4.8**. A partir de la imagen original, *I*, se crea una matriz vacía, *GLCM* (de sus siglas en inglés *Grey Level Co-occurrence Matrix*) que tenga de ancho y largo todos los valores posibles de la imagen original. A continuación se cuenta en la imagen original el número de veces que se encuentran pixeles adyacentes con los valores fila-columna y se anota en la matriz de coocurrencia. Al final se tiene un cómputo de todos los patrones encontrados en la imagen y el número de veces hallados. Para obtener la matriz GLCM hay dos parámetros a establecer, que son la distancia de coocurrencia mencionada, o longitud de las cadenas de pixeles a computar y la dirección en que se buscarán estos patrones: horizontal, vertical u oblicuo y teniendo en cuenta el sentido.

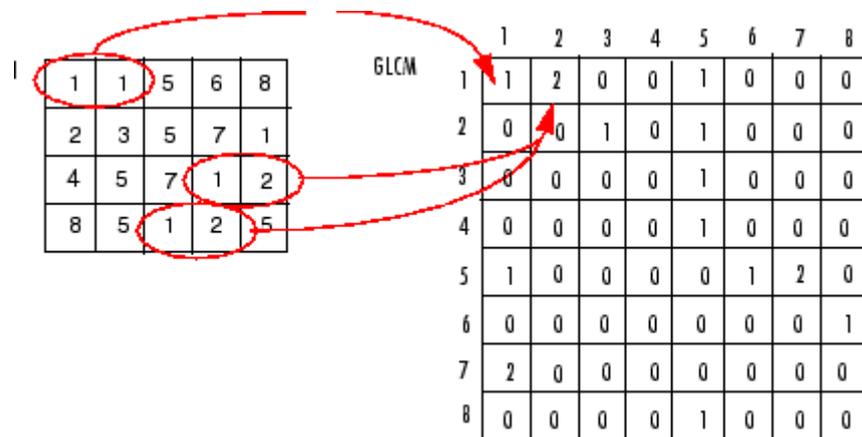


Figura 4.8 Ilustración del método de matrices de coocurrencia para una distancia de coocurrencia de 2 pixeles en dirección horizontal. En la imagen original, *I*, se repite una sola vez el patrón 1-1 entre pixeles adyacentes y el patrón 1-2 se repite dos veces. Estas cifras se almacenan en la matriz de coocurrencia, GLCM. Fuente: [31].

La matriz de coocurrencia no suele ser el objeto final a análisis, si no que se suelen obtener algunos parámetros o propiedades de esta. Estos parámetros consisten en el cálculo de métricas como el contraste, la correlación, la energía y la homogeneidad de la matriz GLCM. El contraste mide la diferencia de niveles entre los pixeles adyacentes, la energía la repetición total de los patrones, la correlación mide el parecido entre las cadenas de pixeles y la homogeneidad mide el número de ocurrencia de los patrones.

$$\text{Contraste} = \sum_{i,j} |i - j|^2 p(i, j) \quad (4.7)$$

$$\text{Correlación} = \sum_{i,j} \frac{(i - \mu_i)(j - \mu_j) p(i, j)}{\sigma_i \sigma_j} \quad (4.8)$$

$$\text{Energía} = \sum_{i,j} p(i, j)^2 \quad (4.9)$$

$$\text{Homogeneidad} = \sum_{i,j} \frac{p(i, j)}{1 + |i - j|} \quad (4.10)$$

Siendo i y j los valores de intensidad de los píxeles adyacentes y p_{ij} el número de ocurrencias de dicha adyacencia. μ y σ son las medias y varianzas de estos respectivamente.

4.4 Criterios de detección

El conjunto de muestras analizado está compuesto por muestras sanas y muestras procedentes de operaciones de aneurisma, por lo tanto, enfermas. El objetivo principal de un elemento de diagnóstico es la detección de la patología de la forma más fiable posible. En este caso, el diagnóstico consiste en detectar la presencia de aneurisma en base a los diferentes parámetros obtenidos como resultado del procesado de B-scan y A-scan. Se tomarán unos u otros parámetros como elementos de diagnóstico en función de su capacidad de clasificación en los grupos de sana y enferma. Es por tanto necesario contar con un criterio que permita cuantificar y comparar la calidad de cada método de clasificación elegido.

Cuando se trata con un problema de detección, se puede simplificar dicho problema eligiendo un parámetro clasificador, establecer un umbral de decisión y en función del valor de ese parámetro para cada muestra tomarla como aneurisma (detectada o 'positiva') o como sana (no detectada o 'negativa'). La parte compleja a la hora de construir un detector es precisamente establecer el umbral óptimo para obtener la menor tasa de fallos al detectar. Cuando se conoce el modelo analítico del parámetro y su relación con la patología, se puede tratar de llegar al umbral óptimo que ofrezca las cualidades del detector esperadas. Cuando el modelo no es conocido, una solución típica de problemas de detección consiste en obtener una curva ROC (del inglés *Receiver Operating Characteristic*), donde el umbral se barre desde el valor mínimo al máximo posible del parámetro clasificador y se observa su capacidad como detector en función del valor de umbral barrido (**Figura 4.9**). Puesto que lo que se pretende es detectar, los ejes de una curva ROC son dos parámetros de esa detección: la tasa de detección, sensibilidad o verdaderos positivos y la tasa de falsa detección o 1-especificidad, siendo la especificidad los verdaderos negativos.

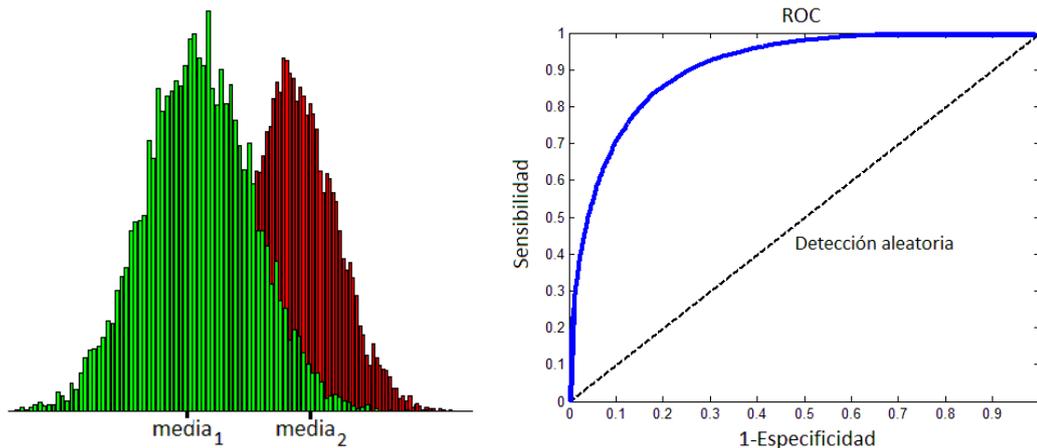


Figura 4.9 Izquierda: histograma de dos señales con distribución gaussiana y distintas medias y varianzas. Derecha: curva ROC de dichas señales. La línea diagonal representa una detección aleatoria.

La relación (sensibilidad, 1-especificidad) óptima sería el valor (1,0), donde se detectan todas las muestras patológicas y no se producen falsas detecciones. Pero este caso es ideal ya que los parámetros a clasificar suelen solaparse en cierta proporción (**Figura 4.9 Izquierda**). Por tanto la elección del criterio para elegir el mejor umbral de clasificación está supeditada al compromiso “detección - falsa alarma”. En el caso de detección de una patología, en general, tiene consecuencias menos graves para la salud del paciente que se produzca una falsa alarma frente a que no se produzca la detección de la patología. Por este motivo, suele ser preferible tener una detección alta (típicamente sensibilidad > 0.9) aunque la falsa alarma también sea elevada (típicamente 1-especificidad > 0.2). En función del valor obtenido se elige el umbral que proporciona dicho valor en la ROC.

La detección se puede hacer con diferentes parámetros, que producirán diferentes curvas ROC. Finalmente se necesita una medida de la calidad de cada parámetro como clasificador para así elegir el que produzca una mejor detección. El parámetro que cumple esta función es el área bajo la ROC (AUC, *Area Under Curve*). Interesa una ROC con una gran área bajo la curva puesto que esto significa en general que se obtienen buenos pares detección-falsa alarma. Esta área estará comprendida entre 0.5 (detección aleatoria) y 1 (detección ideal).

Capítulo 5

Resultados

5.1 Protocolo de manejo de las muestras y medida

Como parte necesaria para el desarrollo del proyecto se ha desarrollado un protocolo de manejo y medida de muestras. Las muestras son proporcionadas por cirujanos del grupo de cirujanos del Departamento de Cirugía Cardiovascular del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. En el momento de la intervención quirúrgica se obtiene una sección de la aorta torácica y se introduce en suero salino fisiológico. Esta muestra es conservada a temperatura aproximada de 5°C, según el procedimiento típico realizado con las muestras del hospital. En las 2 horas próximas tras la intervención, la muestra es recogida y transportada al laboratorio del Grupo de Ingeniería Fotónica en un contenedor manteniendo la temperatura. En el laboratorio se realizan las medidas con el equipo de OCT, obteniendo medidas en varias regiones del tejido siendo estas regiones seleccionadas y marcadas con tinta. Se conserva la hidratación de la muestra durante el tiempo de medida y tras ella las muestras se conservan en una disolución en formol al 4% en agua, de nuevo a temperatura de 5°C. Finalmente las muestras son recogidas y analizadas en el Departamento de Anatomía Patológica del mismo hospital, aplicando las técnicas histológicas y obteniendo las medidas de los grosores de cada capa y las imágenes histológicas. Estos datos servirán como referencia para los resultados obtenidos con el equipo de OCT.

Las medidas con el equipo OCT se realizan en varias regiones de área rectangular. El número de regiones a tomar en cada muestra depende del tamaño de esta y la orientación de la región se toma axial y transversal al eje de la arteria. Las medidas se toman desde la capa íntima de la arteria, adaptando el enfoque y rango dinámico del equipo para obtener una máxima definición justo debajo de la superficie (evitando reflexiones). Este procedimiento permite ver la capa íntima, que es la que está en contacto con la sangre durante el flujo normal y además permite ver una región importante de la capa media, donde se produce el deterioro principal del vaso en caso de aneurisma. Se realizaron medidas desde la capa adventicia pero el resultado no fue satisfactorio, ya que esta capa es más gruesa que la íntima y no permite ver la capa media con claridad.

Las regiones medidas tienen unas dimensiones de 2,5x10mm, de acuerdo con el rango máximo de medida del equipo. En cada región a medir se tomaron medidas en 2 dimensiones (B-scan) en varios puntos: zona central de la región y ± 5 mm (en ocasiones también en ± 2 mm). También se realizó una medida de cada región completa en 3 dimensiones (C-scan), compuesta por 1024 B-scan (**Figura 5.1**). Por último, se indican con tinta los bordes de la región para que pueda existir un co-registro con las medidas en histología y se toma una fotografía. Las medidas con el OCT se toman tanto con el módulo de intensidad como con el de desfase de polarización, repitiendo todas las medidas en 2 y 3 dimensiones en los mismos puntos para conseguir un co-registro entre ambos.

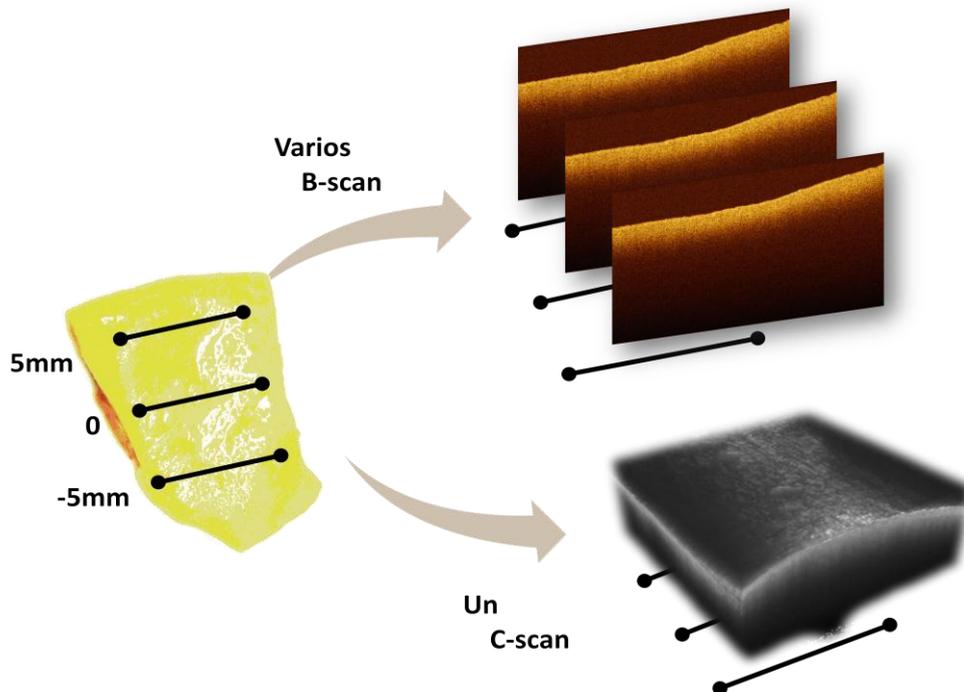


Figura 5.1 Esquema de la región a medir y el marcado (puntos y líneas negras). De cada región se toman varios B-scan y un C-scan. Estas medidas se adquieren tanto con el módulo de polarización como con el de intensidad.

5.2 Registro de medidas

Fruto de las medidas realizadas durante este proyecto se ha creado un registro de medidas de 14 muestras hasta el momento (y en aumento), que han sido las analizadas. El registro incluye capturas B-scan y C-scan tomadas con OCT en intensidad y desfase, imágenes histológicas y fotografías a modo de correlación. También se ha almacenado la historia relevante de cada paciente, incluyendo las causas de riesgo y el motivo de la intervención quirúrgica. La importancia de este registro va más allá del presente trabajo, puesto que pueden ser utilizadas para posteriores estudios en profundidad de la pared aórtica y el aneurisma.

Estas 14 muestras se corresponden con 4 controles, procedentes de donantes y 10 enfermas, procedentes de operaciones quirúrgicas. Cada muestra se divide en varias regiones para su medida, dando lugar a 36 regiones en total. Además, de cada área se tomaron entre 3 y 5 B-scan, con lo que se tienen un total de 129 B-scan independientes, que pueden ser analizados de tal forma. En lo referente a los cubos en tres dimensiones, constituyen una reconstrucción de un cubo de tejido en medida de su esparcimiento. Este cubo está compuesto por 1024 B-scans, con lo que se tiene una cifra aún mayor de imágenes para ser analizadas y una caracterización más amplia (3 dimensiones) que la analizada aquí (1 y 2 dimensiones).

El procesado y análisis de este trabajo se centra en las medidas de intensidad, pero también se ha tomado medidas en retardo de fase procedentes del módulo OCT

sensible a la polarización. Estas medidas se han realizado con un co-registro completo con las de intensidad, por lo que para cada medida de intensidad, en B-scan o C-scan, se ha guardado su correspondiente captura de retardo de fase. Estas imágenes también pueden ser analizadas en conjunto con las de intensidad para obtener una correlación entre secciones detectadas en intensidad y el desfase producido, que puede resaltar la distinta composición y estructura de determinadas regiones, como se puede ver a simple vista en algunas imágenes.

5.3 Comparativa de histología con OCT

Un primer análisis y diagnóstico se ha comprobado en el momento de tomar las capturas con el equipo OCT, puesto que permite ver la pared arterial de forma análoga a las técnicas histológicas. La calidad de unas y otras no es equiparable, pero el sistema OCT permite obtener una histología prácticamente instantánea que puede reflejar algunos de los desperfectos en la pared arterial. Cuando la muestra se corresponde con un elemento de control, la imagen en OCT se puede definir como uniforme y ordenada. Esto se traduce desde la morfología de la pared, como se puede ver en la histología utilizada como referencia, en una alta densidad de células musculares y elastina y estas se encuentran perfectamente alineadas con la superficie (**Figura 5.2**).

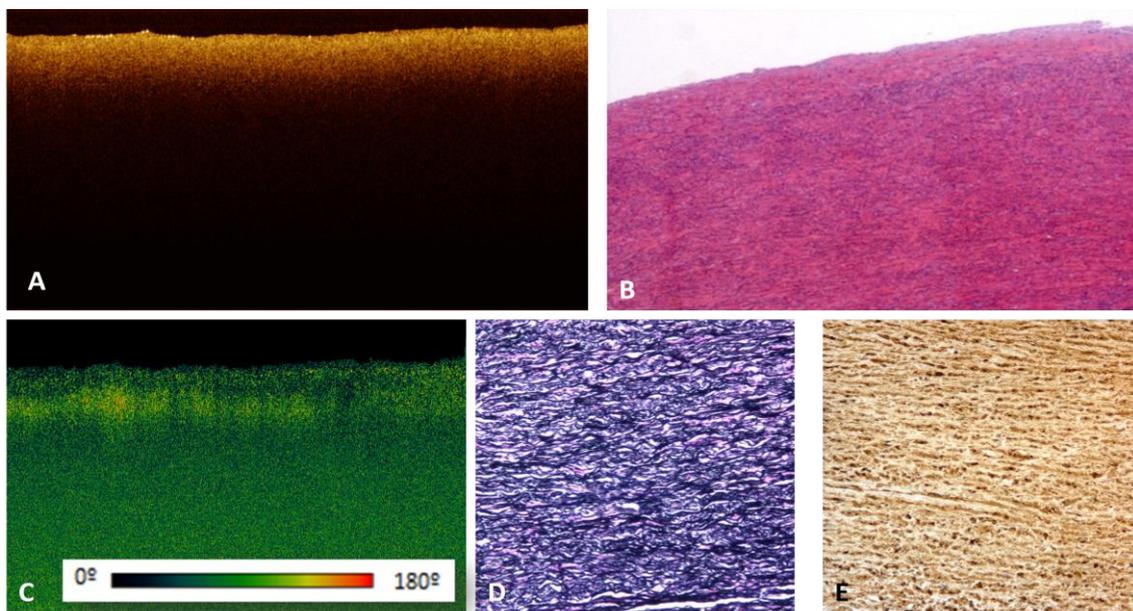


Figura 5.2 Medidas en OCT e histología de una muestra de control. (A) Intensidad OCT. No se aprecian desperfectos en la pared. (B) H&E. El músculo es denso, sin huecos. Se aprecia una zona azul y alineada con la superficie, con mayor densidad de elastina. (C) Desfase OCT. Se observa una región con diferencia de fases alineada con la superficie (D) Verhoeff van Gieson. Hay una alta densidad de fibras elásticas. (E) ASMA. Las células musculares están alineadas.

En el caso de las medidas en aneurisma, en las capturas de OCT se pueden apreciar alteraciones en la estructura, vistas como desalineamientos y huecos oscuros (baja intensidad) en el interior de la pared arterial. Cuando se analiza la muestra

histológicamente se observa cómo estos desalineamientos se deben a la falta de células musculares y elastina. Además se puede ver como hay zonas vacías de células musculares y elastina, que son rellenadas por una sustancia fundamental, mucopolisacáridos ácidos o quistes. Estas regiones son las causantes de los huecos oscuros en la imagen OCT.

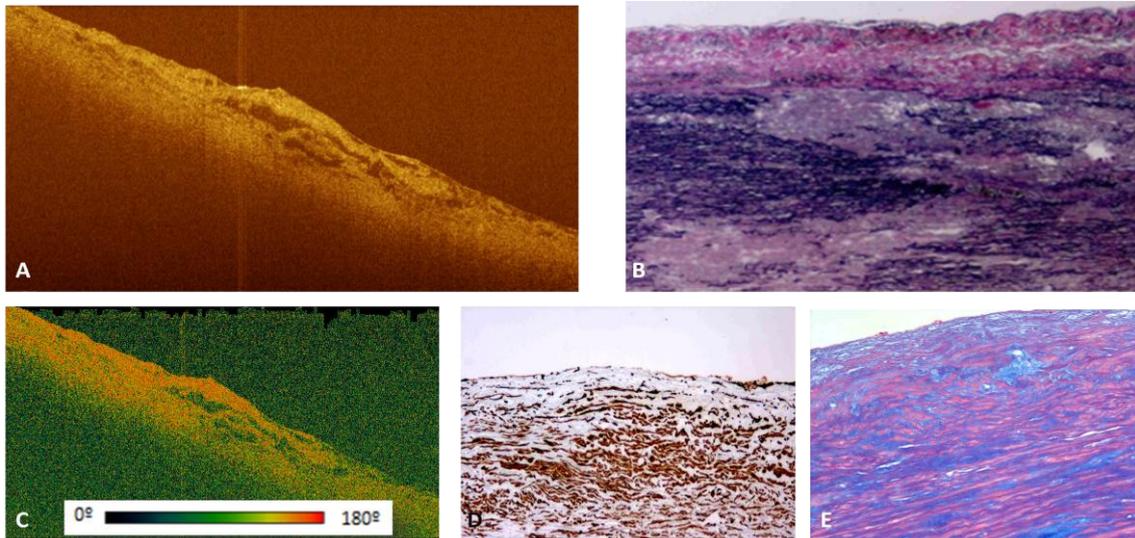


Figura 5.3 Medidas en OCT e histología de una muestra aneurismática. **(A)** Intensidad OCT. Se aprecian grandes desperfectos en la pared. **(B)** Verhoeff van Gieson. Hay grandes regiones con falta de elastina (morado claro) y con falta de músculo (rosa). **(C)** Desfase OCT. Se aprecian grandes huecos al igual que en intensidad. **(D)** ASMA. Las células musculares están desordenadas y hay grandes huecos. **(E)** Alcian Blue. Hay grandes regiones con falta de células musculares (azul).

5.4 Detección de aneurisma

Más allá de la detección visual que puede realizar el operador, o incluso el cirujano previo entrenamiento, en este trabajo se pretende llegar a un detector automático de la patología en la pared que sea fiable y objetivo. A simple vista, el usuario puede observar ciertas discontinuidades en la pared, pero esto supone una valoración un tanto subjetiva.

Se han planteado dos métodos de análisis de la pared para procurar la detección del deterioro en la arteria. El primero de ellos es un método basado en la atenuación del tejido, diferenciando en el caso de tejido sano y tejido enfermo. El segundo método consiste en un análisis textural, atendiendo a la estructura y morfología de la pared arterial.

5.4.1 Ajuste exponencial y polinómico

Para las 14 muestras se aplica el procesado mencionado en el **capítulo 4**, consistiendo en detectar el interfaz aire-muestra, aplanar cada imagen y quitar la capa íntima según el grosor indicado por las medidas en patología. Tras este proceso, se aplica el ajuste por una exponencial (**Ecuación 5.1**) y por un polinomio de grado 3

(Ecuación 5.2). Este ajuste se aplica a cada línea vertical de todos los B-scan. En cada uno de estos B-scan se aplica el ajuste a cada A-scan que lo compone (Figura 5.4), esto hace 1024 ajustes por imagen, con lo que se realizan 120832 ajustes por curvas exponenciales y polinómicas. Para cada ajuste, se obtiene un valor para cada parámetro de las ecuaciones 5.1 y 5.2. Además de los parámetros de ajuste, se obtiene otra medida que indica la bondad del ajuste, en este caso se usa el coeficiente de correlación de Pearson (R).

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

$$I(z) = Az^3 + Bz^2 + Cz + D \quad (5.2)$$

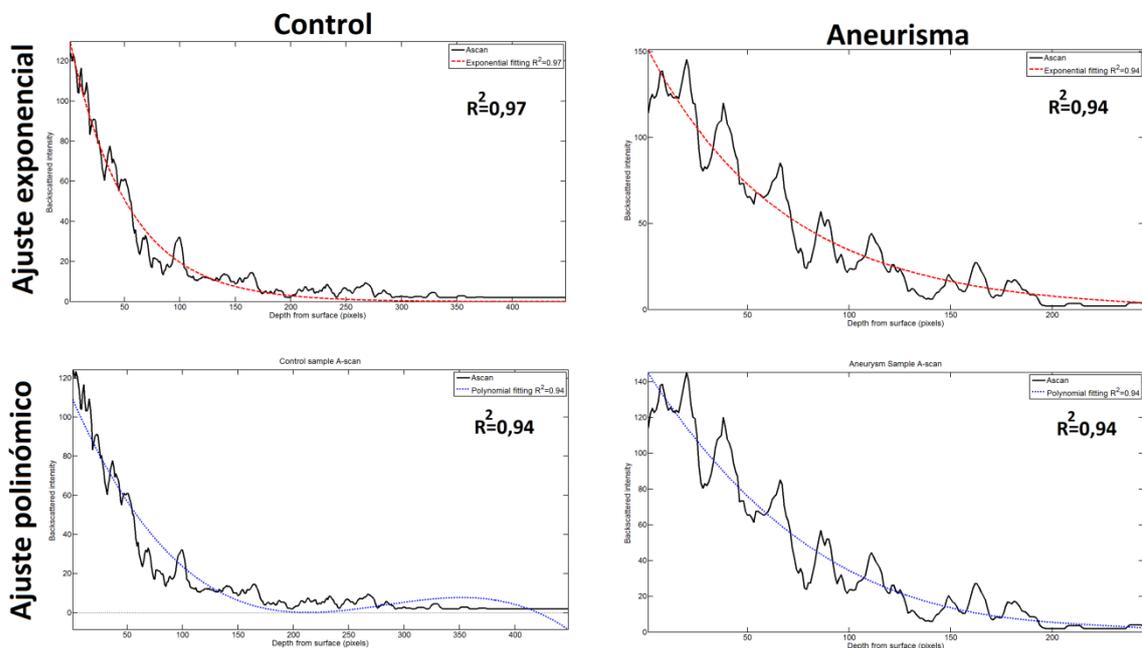


Figura 5.4 Ejemplo de dos A-scans correspondientes a una muestra de control y otra de aneurisma. Se muestran los ajustes polinómico y exponencial en estos A-scan y el coeficiente de correlación de Pearson como medida del ajuste.

Los parámetros obtenidos del ajuste se dividen según procedan de una muestra sana o de aneurisma para observar diferencias y ver si es factible una detección de la patología en base a estos. La primera forma utilizada con este fin son los *boxplot*: gráficos en cajas de acuerdo a los estadísticos de cada parámetro (Figura 5.5). Para cada parámetro, se dibujan los valores estadísticos mediana, cuartiles (25% a 75%) y 99% de las observaciones. La función de los *boxplot* es ver si se puede establecer un nivel umbral que permita decidir claramente si valores superiores o inferiores a este se corresponden con aneurisma o control, según el principio básico de detección.

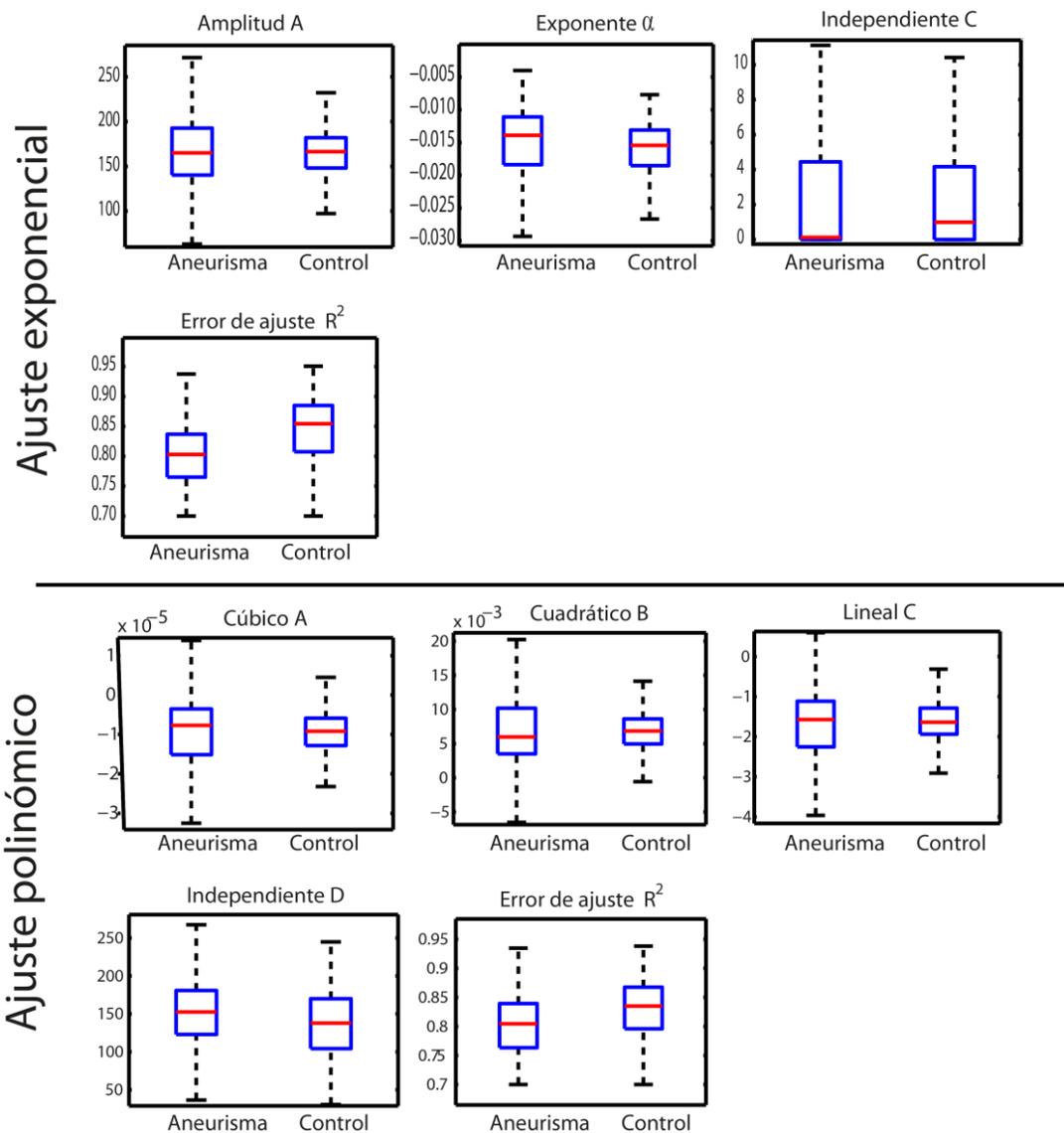


Figura 5.5 Boxplot para los parámetros obtenidos de los ajustes exponenciales (superiores) y polinómicos (inferiores). En cada boxplot se contraponen los valores mediana (50% de observaciones) en rojo, cuartiles (25% y 75%) en azul y 99% en negro.

En los boxplot obtenidos se aprecia como existe un gran solapamiento entre cajas, lo que significa que los valores más obtenidos de cada parámetro son similares en los casos de control y aneurisma. De todos los parámetros, el menor solapamiento se produce en los casos de R^2 , bondad del ajuste tanto en el caso polinómico como exponencial. Esto significa que si se establece un umbral para el parámetro R^2 y se sitúa dicho umbral en la zona donde las cajas no se solapan, se puede detectar si la muestra se corresponde con un control o aneurisma: sana o enferma. En la **figura 5.4** se ve como, en efecto, los perfiles sanos difieren en menor medida de los ajustes matemáticos aplicados, debido a que son más suaves y tienen menos inhomogeneidades.

La forma de establecer este umbral no puede ser arbitraria, ya que se desea conseguir el mejor detector posible. Por este motivo se sigue el método de la curva ROC, que se obtiene aplicando un barrido del umbral para todos los valores posibles y

con la que se obtienen las características como detector de cada uno de esos umbrales (Figura 5.6).

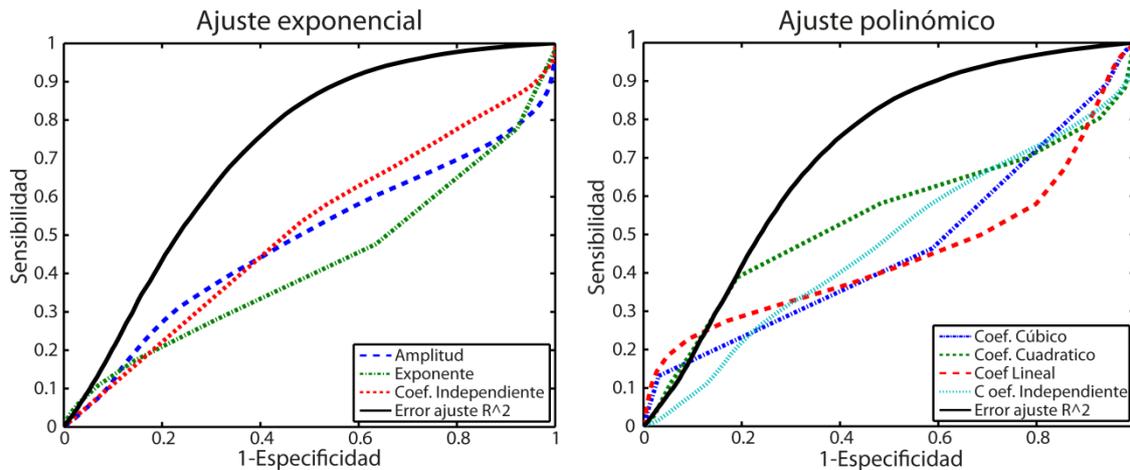


Figura 5.6 Curvas ROC para todos los parámetros de los ajustes exponencial y polinómico.

De las de la figura 5.6 y aplicando el criterio de mayor área bajo la curva, se ve que los mejores detectores se consiguen con el parámetro R^2 como detector: consiguen los mejores valores de sensibilidad o detección para los valores más bajos de falsa detección o 1-especificidad. El área bajo la ROC en el caso de R^2 y ajuste exponencial es de 0,72 y en el caso de ajuste polinómico de 0,71. Se puede obtener una característica de sensibilidad frente a especificidad de 72% frente a 65% en ambos casos. Esto significa que para detectar el 72% de muestras con aneurisma habría un 35% de muestras sanas consideradas como de aneurisma.

5.4.2 Análisis textural

El análisis textural se centra en elementos de la imagen que no afectan a la estructura de esta, sino que afectan a un nivel inferior. En función del tipo de textura, esta puede ser o no ser perceptible a simple vista. Los componentes más pequeños de la pared arterial (células y fibra elásticas) ayudan a conformar la estructura final de esta, pero estos elementos no son visibles a simple vista. Sin embargo, sí que definen la forma en que se rellena la capa y por tanto, si están ordenados de forma diferente en los controles y en el aneurisma (Figura 5.7), se pueden cuantificar algunas de sus propiedades texturales y utilizarlas como método de detección, al igual que con los parámetros de los ajustes del apartado anterior.

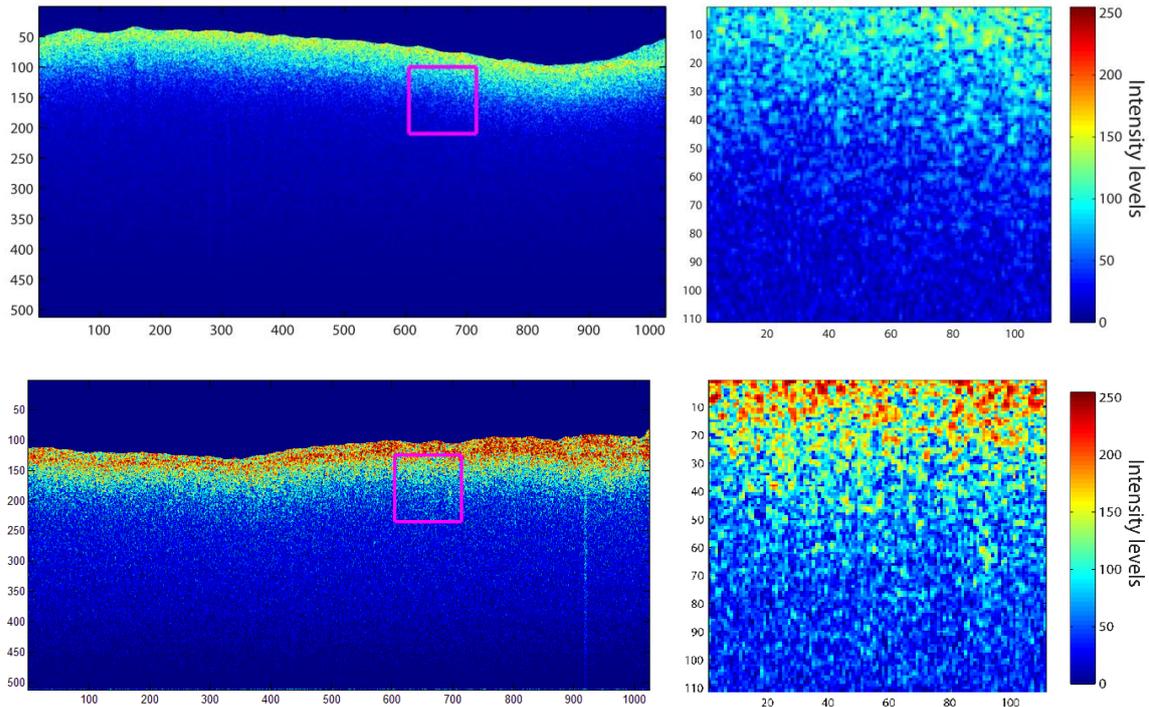


Figura 5.7 B-scans representados en falso color de intensidad de 8 bits. Superior: muestra sana. Inferior: muestra aneurismática. A la derecha se muestran regiones agrandadas de 110 píxeles de lado. La estructura puede parecer similar a simple vista, aunque se pueden obtener diferencias cuantificadas con un análisis textural.

El análisis textural con el método de matrices de coocurrencia depende principalmente del tamaño de la región a analizar y de la distancia de coocurrencia que se analice, lo que significa, la distancia entre píxeles adyacentes entre los que se va a buscar patrones de repetición. En este trabajo se ha realizado un barrido en ambos parámetros, variando el tamaño de las regiones o ventanas a medir entre 10 y 150 píxeles y la distancia de coocurrencia entre 2 y 6 píxeles. El primer barrido se establece en unos rangos que permitan analizar la imagen en una zona con suficiente calidad de imagen (la sensibilidad de la capturas OCT disminuye con la penetración). El segundo barrido, la distancia de coocurrencia, toma un valor suficientemente pequeño como para no obviar elementos importantes en la imagen, tomados en función de una inspección visual de los gránulos que se aprecian en los B-scan. La distancia de coocurrencia depende también del ángulo en que se mida, sobre todo en el caso de la pared arterial que está ordenada en capas. Por este motivo se seleccionan también dos ángulos para el análisis, de 0° (dirección horizontal en la imagen) y 90° (dirección vertical en la imagen) con respecto a la superficie de la muestra.

Para automatizar el procesado y evitar tomar zonas muy profundas (poca sensibilidad debida a la atenuación en profundidad) o en la zona de la capa íntima y aire sobre la muestra, es necesario el pre-procesado comentado en el **capítulo 4**. Tras dicho pre-procesado se conoce la superficie donde comienza la muestra para aplicar en esta el análisis. Además, se evita una región de los primeros 20 píxeles justo debajo de la superficie, evitando así tomar píxeles de la capa íntima, que presenta un valor medio holgadamente menor que esta cifra, según las medidas proporcionadas en patología (**Tabla 4.1**).

Para cada valor de coocurrencia y tamaño de ventana a medir, se obtienen las propiedades de la matriz de coocurrencia que permiten tener unos valores numéricos que definan las imágenes. Se obtienen los parámetros de energía, correlación, contraste y homogeneidad a 0° y 90° , para distintas distancias de coocurrencia y distintos tamaños de ventana. Para cada

combinación de los anteriores se obtiene una curva ROC, que indica cómo funciona esa combinación como detector. Puesto que el número de ROCs es muy elevado para ser analizado uno a uno de forma rápida y precisa, se ha tomado el método del área bajo la curva ROC (AUC) para seleccionar las mejores combinaciones (**Figura 5.8**).

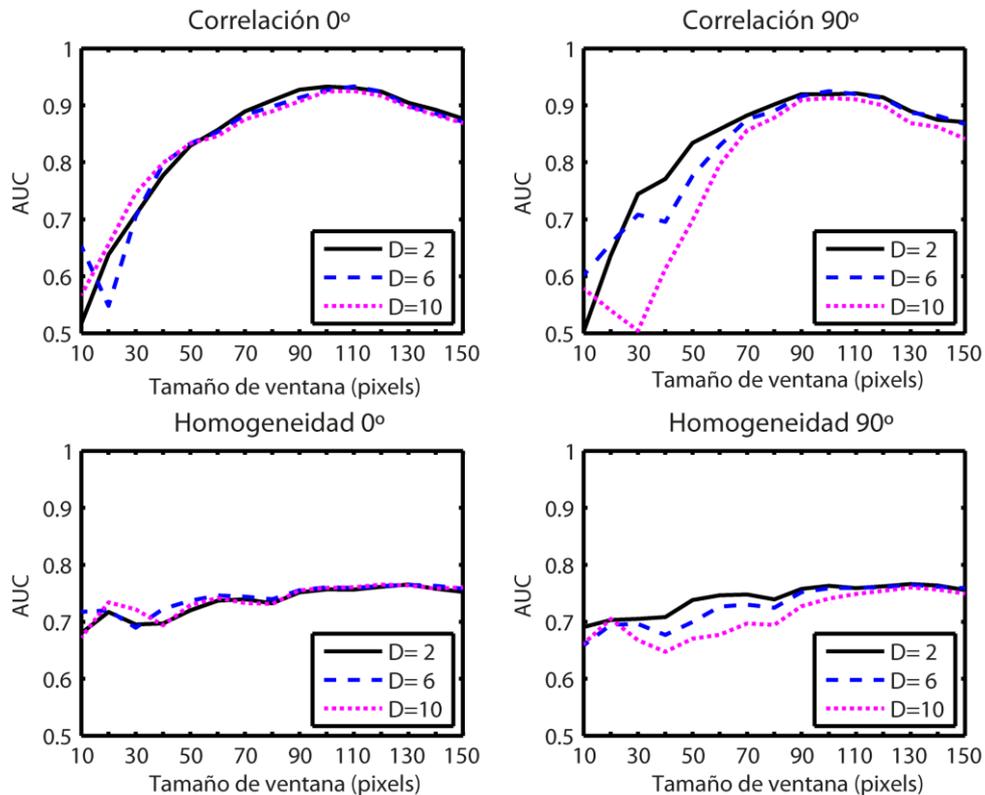


Figura 5.8 Áreas bajo las ROC (AUC) para las mejores combinaciones de distancia de coocurrencia (D), ángulo de coocurrencia (0° y 90°), tamaño de ventana y propiedades de las matrices de coocurrencia (correlación y homogeneidad).

De entre las propiedades de las matrices de coocurrencia, las que proporcionaban unas mayores áreas bajo la ROC son la correlación y homogeneidad. Estas características que se corresponden con las diferencias que se aprecian a nivel visual, siendo la imagen más o menos uniforme según se trate de muestras sanas o enfermas y el orden de las capas se mantiene en el caso de las sanas, no tanto en el caso de las enfermas.

Estas propiedades de correlación y homogeneidad están representadas en la **figura 5.8** en función del resto de variables. En cuanto a las distancias de coocurrencia, no aportan grandes diferencias y el ángulo de coocurrencia afecta más para tamaños de coocurrencia pequeños. De la figura anterior se obtiene que las mejores ROC se extraen en los casos de correlación, tamaño de ventana de 110 píxeles, distancia de coocurrencia 2 píxeles y el ángulo no es muy relevante en este punto. Para estos valores se observa la ROC que da origen a estas áreas, en la **figura 5.9**.

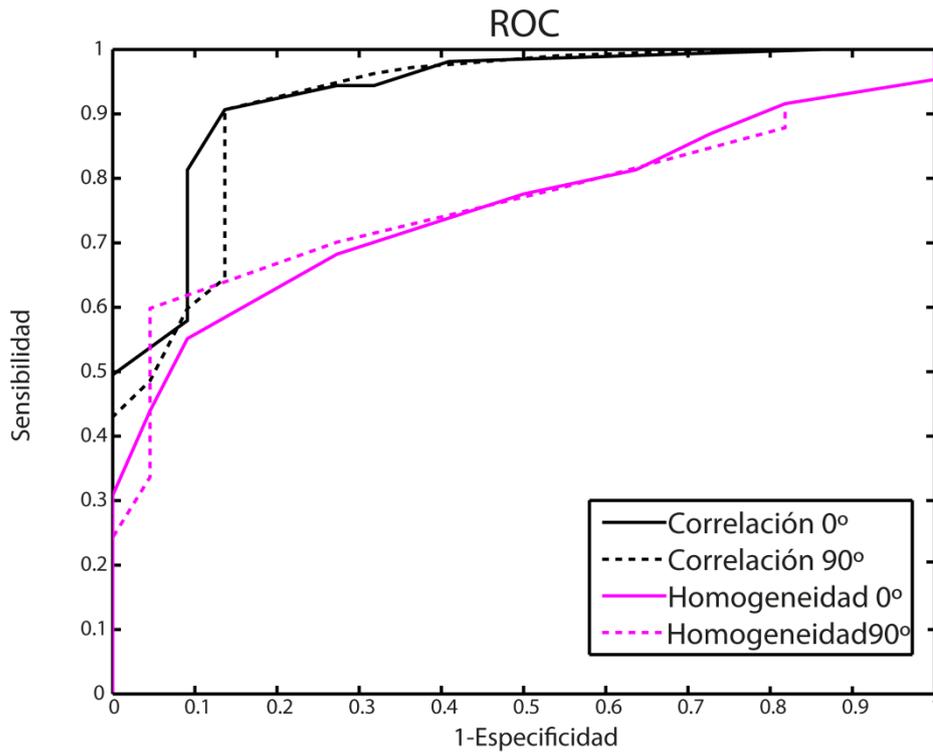


Figura 5.9 ROC para las propiedades de correlación y homogeneidad de las matrices de coocurrencia.

Una vez obtenida la ROC, se puede seleccionar el par detección (sensibilidad) frente a falsa detección (1-especificidad) que más se adapte a las necesidades. En este caso, se puede obtener para correlación a 0° y 90° una sensibilidad del 90,65% y una especificidad del 86,36%. En el primer caso de correlación-0° el umbral que da lugar a dicha característica es 0,6193 y para correlación-90° el umbral es de 0,5852. Esto significa que se puede tomar la decisión de si la pared arterial está enferma o no en base a si es inferior o superior a dicho umbral. En este caso la técnica OCT presenta una la probabilidad de detectar correctamente una muestra enferma de 90,65% y se tomarán muestras sanas como enfermas en el 13,64% de las ocasiones.

Capítulo 6

Conclusiones y líneas futuras

6.1 Conclusiones

La conclusión principal de este trabajo coincide con el principal objetivo: se ha probado la viabilidad de la tomografía de coherencia óptica aplicada a la caracterización de aneurisma aórtico y se ha conseguido detectar la anomalía centrando el análisis en la capa media de dicha arteria. Cabe remarcar que la aplicación de OCT en la arteria aorta es novedosa, como también lo es el estudio centrado en la capa media de esta arteria.

La importancia de este trabajo recae en la necesidad surgida en cirugía cardiovascular de herramientas de diagnóstico del deterioro arterial. Los métodos actuales no siempre consiguen detectar el aneurisma, como sucede en casos complicados por síndromes degenerativos o lesiones que no evidencian un engrosamiento de la arteria. La solución presentada en este documento se basa en la aplicación de la técnica de OCT para la caracterización de la pared arterial, lo que permite conocer directamente el estado de la arteria. El uso principal de este método se centra en servir de ayuda intraoperativa, de forma que el cirujano pueda caracterizar la pared arterial in situ. La necesidad de dicha caracterización está fundada en la incertidumbre que surge a la hora de colocar y suturar el implante en la zona afectada. El cirujano se debe asegurar de estar sustituyendo toda la región afectada por aneurisma y a su vez, debe procurar no extirpar más arteria de la estrictamente necesaria.

Para conseguir este resultado final se ha desarrollado un plan de proyecto que va desde la adquisición y medida de muestras hasta el procesado para la detección final. Las conclusiones se pueden dividir en las diferentes tareas realizadas:

En primer lugar se diseñó un protocolo de manejo de muestras para su adquisición, conservación, transporte y medida. Este protocolo sirve y es transferible no sólo para las muestras ya medidas, sino para futuras muestras, ya sea en arterias u otro tipo de tejidos.

En segundo lugar, se ha caracterizado con OCT un conjunto de muestras in vitro procedentes de aortas sanas y regiones de aortas con aneurisma de aorta torácica ascendente. A parte de estas medidas se ha configurado un almacén conjunto de información multidisciplinar que agrupa el historial médico (datos relevantes para el estado de la arteria), la histología (como referencia del estado verdadero de la muestra) y las fotografías para cada una de las muestras tomadas. Las muestras in vitro de aorta han sido analizadas de forma visual y en el caso de las capturas OCT también con un análisis de perfiles de atenuación y con un análisis textural. El análisis visual ofrece claras evidencias de cuándo una pared arterial está deteriorada y el cirujano, con un previo entrenamiento, podría llegar a interpretar las medidas. Sin embargo, el trabajo pretende ofrecer una cuantificación objetiva del diagnóstico patológico para que el trabajo del cirujano se vea facilitado.

Como parte del objetivo principal, se ha identificado la patología en las imágenes de OCT mediante inspección visual. De esta forma se tiene una biopsia óptica, que no

llega a la resolución de la histología (nivel celular o inferior) pero que es instantánea, cómoda y obtiene una imagen similar a las histológicas convencionales. Durante la realización de las capturas OCT se ha comprobado, en el mismo momento de realizar las medidas, cómo hay grandes diferencias entre muestras sanas y enfermas que un ojo con muy ligero entrenamiento puede identificar.

Por último, se ha aplicado un pre-procesado a las imágenes obtenidas con OCT que permiten analizar de forma automática los perfiles de atenuación y penetración de la luz en el tejido arterial y la textura de la pared arterial. Se han probado estos métodos para la detección de aneurisma en las muestras medidas y se ha obtenido una característica de detección frente a falsa alarma de 72% - 35% con el método de una dimensión y 90% - 13% con el análisis textural, siendo este último la mejor opción en base a estas cifras. Este método de detección se basa el cálculo de la correlación de las matrices de coocurrencia y en función de su valor se hace la detección de forma automática, sin necesidad de la presencia del patólogo para indicar si la muestra es o no correcta. Los valores de diagnóstico son posteriormente comparados con la referencia global que es el análisis histológico. Los valores obtenidos con análisis textural evidencian que la detección del debilitamiento arterial es posible con la técnica OCT aplicada.

En cualquier caso, la aplicación de OCT al análisis de la pared aórtica no puede competir con la histología convencional en cuanto a calidad de imagen y resolución, pero sí que ha demostrado su utilidad y sencillez para la detección de la debilidad de la pared de forma muy rápida y sencilla. Además, se pueden tomar capturas o medir en tiempo real en distintas regiones, con lo que se puede examinar una región de tejido de forma instantánea, lo que puede resultar de gran utilidad en el quirófano.

Por último, remarcar que los resultados de este trabajo han sido presentados en la conferencia ECBO (*European Conferences on Biomedical Optics*, Munich, Mayo 2013)[32].

6.2 Líneas futuras

Este trabajo tiene como objetivo probar la viabilidad de aplicación de OCT al diagnóstico de aneurisma de aorta y la caracterización de la pared aórtica. Los resultados obtenidos son satisfactorios, por lo que las líneas futuras implicarían continuar con el acercamiento desde las muestras *in vitro* medidas aquí, hasta la implantación de esta tecnología en un quirófano para su utilización *in vivo*. En este sentido, sería necesario un sistema OCT con terminación en catéter preparado para un entorno intravascular y que cumpla los requisitos de resolución y penetración.

En cuanto al procesado, se ha realizado de forma satisfactoria un análisis en dos dimensiones basado en texturas. También se ha planteado el uso de técnicas basadas en estadísticos de alto orden, como son la *skewness* (o asimetría estadística) y *curtosis* (función de probabilidad picuda). Esta idea surge viendo los *boxplot* de la **figura 5.5**, donde se observa que comparando parámetros de muestras sanas y enfermas, no sólo

hay diferencias en la media y varianza, sino en este caso también en la skewness. Con la aplicación de estos métodos se pueden remarcar diferencias en las imágenes que sean indicativas de anomalías en la pared arterial.

Al aplicar un análisis en dos dimensiones se aprecia como la capacidad de detección aumenta considerablemente frente al método unidimensional. La extensión de este análisis a una tercera dimensión podría producir una mejora significativa, al hacer posible el estudio de las capas no sólo en dos ejes sino en tres, correspondiente con toda la extensión del tejido medida. El análisis en este caso supone trabajar con otros algoritmos o adaptar los métodos utilizados para tener en cuenta esa tercera dimensión.

El paso siguiente más inmediato consiste en la medida del grosor de la capa íntima. Hasta ahora, esta capa se ha obviado ya que la información más importante se encuentra en la capa media. Para evitar esta capa se ha utilizado como referencia los valores de grosor indicados por los patólogos y se ha dejado un margen de seguridad, de forma que se asegura que el procesado se está aplicando sobre la capa media. Sin embargo, sería interesante tener la capacidad de medir dicho grosor en la propia imagen OCT. Dichas medidas no son triviales según se ha visto durante la realización de este trabajo: no se ve la interfaz a simple vista ni tampoco se ve claramente en los perfiles de atenuación. Pero su información debe estar contenida en las capturas de alguna forma puesto que la resolución del equipo OCT es inferior hasta en nueve veces a dicho grosor. Los métodos a aplicar para poder realizar esta medida pueden ir por la vía de reducción de ruido, media entre A-scan adyacentes y la aplicación de algún método estadístico, ya sea en una o dos dimensiones, aunque presumiblemente será mejor en dos dimensiones ya que se dispondría de más información.

A parte del caso de la arteria aorta, parece posible aplicar tanto las técnicas de OCT como el procesado, a otras arterias de gran tamaño como son las carótidas, ilíacas etcétera. En comparación con la aorta, estas arterias tienen un menor diámetro y un grosor de pared inferior, lo que hace que sea a priori más sencillo obtener imagen OCT de sus paredes, pudiendo incluso llegar a medir completamente la pared. Además, el flujo sanguíneo es menor en estas arterias, con lo que la obtención de imagen intravascular para su utilización diagnóstica in vivo podría resultar más fácil.

Bibliografía

- [1] Instituto Nacional de Estadística. Consultado 7/2/2013, 2013, en <http://ine.es/>
- [2] Ruddy, J. M., Jones, J. A., Spinale, F. G., & Ikonomidis, J. S. (2008). Regional heterogeneity within the aorta: Relevance to aneurysm disease [Abstract]. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 136(5) 1123-1130.
- [3] Eric J. Topol, Robert M. Califf, Eric N. Prystowsky, James D. Thomas, Paul D. Thompson. (2008). , *Tratado de medicina cardiovascular* (3ª ed.), Barcelona, Ed. Wolters Kluwer
- [4] José Manuel Revuelta Soba. (2004). *Avances en cirugía de la aorta* (1ª ed.). Barcelona: J. Uriach y Compañía.
- [5] Clínica Dam (A.D.A.M), (9/3/2013). Consultado en <http://www.clinicadam.com>
- [6] Herrero-Garibi, J., Cruz-Gonzalez, I., Parejo-Diaz, P., & Jang, I. K. (2010). Optical coherence tomography: Its value in intravascular diagnosis today. *Revista Española De Cardiología*, 63(8), 951-962.
- [7] Fujimoto, J., & Brezinski, M. (2003). *Biomedical Photonics Handbook*, Capítulo 13: Optical coherence tomography imaging. CRC Press.
- [8] Huang, D., Swanson, E., Lin, C., Schuman, J., Stinson, W., Chang, W., et al. (1991). Optical coherence tomography. *Science*, 254(5035), 1178-1181.
- [9] Swanson, E. A., Izatt, J. A., Hee, M. R., Huang, D., Lin, C. P., Schuman, J. S., . . . Fujimoto, J. G. (1993). In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Opticst Letters.*, 18(21), 1864-1866.
- [10] Eveline Regar, Patrick W. Serruys, Ton G. Van Leeuwen, P. W. Serruys. (2007). *Optical coherence tomography in cardiovascular research* ,Informa healthcare.
- [11] James G. Fujimoto. (2001). Optical coherence tomography. *Comptes Rendus De l'Académie Des Sciences*, 2(IV), 1099-1111.
- [12] Finn Geneser. (2000). *Histología* (3ª ed.) Panamericana.
- [13] García-Porrero, Juan A. Juan Mario, Hurlé González. Colvee Benlloch, Elvira. Ros Lasierra, María Ángeles. (2005). *Anatomía humana*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, cop.
- [14] School of anatomy and human biology - the university of western australia. Consultado 7/3/2013, 2013, en <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/vascular/vascular.htm>

- [15] Ince, H., & Nienaber, C. A. (2007). Etiology, pathogenesis and management of thoracic aortic aneurysm. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 4(8), 418-427.
- [16] Wikimedia commons Consultado 7/3/2013, 2013, en <http://commons.wikimedia.org/>
- [17] Protocol database - histology, immunohistochemistry, molecular and cell biology Consultado 7/3/2013, 2013, en http://www.ihcworld.com/protocol_database.htm
- [18] WRITING COMMITTEE MEMBERS, Hiratzka, L. F., Bakris, G. L., Beckman, J. A., Bersin, R. M., Carr, V. F., . . . Williams, D. M. (2010). 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease: Executive summary: A report of the american college of cardiology Foundation/American heart association task force on practice guidelines, american association for thoracic surgery, american college of radiology, american stroke association, society of cardiovascular anesthesiologists, society for cardiovascular angiography and interventions, society of interventional radiology, society of thoracic surgeons, and society for vascular medicine. *Circulation*, 121(13), 1544-1579.
- [19] Thorlabs - OCT imaging Consultado 7/3/2013, 2013, en http://www.thorlabs.com/navigation.cfm?Guide_ID=2039
- [20] Sebastia, C., Pallisa, E., Quiroga, S., Alvarez-Castells, A., Dominguez, R., & Evangelista, A. (1999). Aortic dissection: Diagnosis and follow-up with helical CT. *Radiographics : A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 19(1), 45-60; quiz 149-50.
- [21] P H Tomlins and, R. K. W. (2005). Theory, developments and applications of optical coherence tomography. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 38(15), 2519.
- [22] Leonard Mandel, E. W. (1995). *Optical coherence and quantum optics* Cambridge University Press.
- [23] Lee, M. R., Izatt, J. A., Swanson, E. A., Huang, D., Schumun, J. S., Lin, C. P., . . . Fujimoto, J. G. (1995). Optical coherence tomography for ophthalmic imaging: New technique delivers micron-scale resolution. *Engineering in Medicine and Biology Magazine, IEEE*, 14(1), 67-76.
- [24] A F Fercher and W Drexler and C K Hitzenberger and,T.Lasser. (2003). Optical coherence tomography - principles and applications. *Reports on Progress in Physics*, 66(2), 239.
- [25] Wojtkowski, M. (2010). High-speed optical coherence tomography: Basics and applications. *Applied Optics*, 49(16), D30-61.

- [26] Izatt, J. A., & Choma, M. A. (2008). Theory of optical coherence tomography., 47-72.
- [27] Garcia-Allende, P., Amygdalos, I., Dhanapala, H., Goldin, R. D., Hanna, G. B., & Elson, D. S. (2011). Morphological analysis of optical coherence tomography images for automated classification of gastrointestinal tissues. *Biomedical Optics Express*, 2(10), 2821-2836.
- [28] Bazant-Hegemark, F., & Stone, N. (2008). Near real-time classification of optical coherence tomography data using principal components fed linear discriminant analysis. *Journal of Biomedical Optics*, 13(3), 034002-034002-8.
- [29] van der Meer, F. J., Faber, D. J., Cilesiz, I., van Gemert, M. J., & van Leeuwen, T. G. (2006). Temperature-dependent optical properties of individual vascular wall components measured by optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 11(4), 041120.
- [30] Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz, James R. Vyvyan. (2009). *Introduction to spectroscopy* (4ª ed.) BOOKS/COLE CENGAGE Learning
- [31] MATLAB and simulink for technical computing - MathWorks españa Consultado 7/3/2013, 2013, en <http://www.mathworks.es/>
- [32] Real, E., Eguizabal, A., Pontón, A., Val-Bernal, J. F., Mayorga, M., Revuelta, J. M., Conde, O. M. (2013). Optical coherence tomography assessment of vessel wall degradation in aneurysmatic thoracic aortas., *SPIE Proceedings*, 8802, Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques VI, 88020G-88020G-7

Índice de figuras

Figura 1.1 Representación de la aorta en el cuerpo humano.....	8
Figura 1.2 Resolución de OCT con respecto a las dimensiones de algunos componentes de los tejidos biológicos..	10
Figura 1.3 Descripción de la interacción de OCT con un tejido.	10
Figura 1.4 Imágenes de un stent o implante intravascular en coronarias.....	11
Figura 1.5 Técnica de sustitución de diferentes tramos de la aorta con una prótesis o <i>graft</i>	12
Figura 2.1 Anatomía básica de la aorta.....	16
Figura 2.2 Esquema de la pared arterial..	17
Figura 2.3 Tipos de aneurisma.a.	18
Figura 2.4 Resonancia magnética (RM) de aneurisma de arco aórtico. Ecografía transtorácica (ETT) de aorta normal. Tomografía computerizada (TC) de dos aneurismas de aorta abdominal.....	21
Figura 2.5 Injertos en la aorta torácica. y endoprótesis en la aorta abdominal.	23
Figura 2.6 Técnicas de tinción utilizadas sobre la capa media de la aorta.	25
Figura 2.7 Puntos típicos de medida del diámetro en la aorta.	26
Figura 3.1 Comparativa de prestaciones en cuanto a resolución y penetración.....	28
Figura 3.2 Comparativa entre OCT y ultrasonidos	29
Figura 3.3 Tomografía computerizada de tórax y aorta. resonancia magnética de corazón y aorta.....	30
Figura 3.4 Onda coherente e incoherente.	31
Figura 3.5 Interferencia monocromática y coloreada en el detector de un interferómetro de Michelson.	31
Figura 3.6 Interferencia de una señal monocromática	31
Figura 3.7 Interferencia de una señal policromática.	31
Figura 3.8 Interferómetro de Michelson como parte de un sistema de OCT.....	31

Figura 3.9 Esquema básico de los sistemas OCT en el dominio temporal y primer sistema OCT, en el dominio temporal, construido en tecnología de fibra.	31
Figura 3.10 Resultados de medidas realizadas con un sistema de OCT..	31
Figura 3.11 Representación de una medida básica en un sistema OCT..	31
Figura 3.12 Sección de enfoque de un sistema terminado en una lente para un haz gaussiano.	31
Figura 3.13 Esquema de funcionamiento de un TD-OCT.	31
Figura 3.14 Esquemas básicos de los sistemas OCT en el dominio de Fourier.	41
Figura 3.15 Perfil en profundidad o A-scan de un globo ocular tras aplicar la transformada inversa de Fourier a la interferencia espectral.	42
Figura 3.16 Esquema básico de un sistema PS-OCT.....	423
Figura 3.17 Captura en intensidad de reflexión SS-OCT in intensidad y PS-OCT de una uña y dedo humano.....	44
Figura 3.18 Resumen de características del equipo OCS1300SS.	44
Figura 3.19 Esquema del equipo OCS1300SS, módulo de intensidad.	45
Figura 3.20 Esquema del equipo OCS1300SS, módulo de polarización.....	45
Figura 3.21 Dimensiones de las medidas tomadas con el equipo	46
Figura 4.1 Captura de OCT ruidosa..	49
Figura 4.2 Esquema de una imagen (B-scan) y perfil de penetración (A-scan).	49
Figura 4.3 Línea de trabajo para la detección de la interfaz aire-muestra.....	50
Figura 4.4 A-scan y representación del umbral para hallar el salto de la zona de aire a la muestra.	51
Figura 4.7 Ajuste polinómico y exponencial de un A-scan para una muestra con aneurisma..	54
Figura 4.8 Ilustración del método de matrices de coocurrencia.	55
Figura 4.9 Histograma y curva ROC de dos señales con distribución gaussiana y distintas medias y varianzas	57

Figura 5.1 Esquema de la región a medir en las muestras y el marcado.....	60
Figura 5.2 Medidas en OCT e histología de una muestra de control.....	61
Figura 5.3 Medidas en OCT e histología de una muestra aneurismática.	62
Figura 5.4 Ejemplo de dos A-scans correspondientes a una muestra de control y otra de aneurisma..	63
Figura 5.5 Boxplot para los parámetros obtenidos de los ajustes exponenciales y polinómicos.	64
Figura 5.6 Curvas ROC para todos los parámetros de los ajustes exponencial y polinómico.....	65
Figura 5.7 B-scans representados en falso color de intensidad de 8 bits.....	66
Figura 5.8 Áreas bajo las ROC (AUC) para las mejores combinaciones de distancia de coocurrencia (D), ángulo de coocurrencia (0º y 90º), tamaño de ventana y propiedades de las matrices de coocurrencia (correlación y homogeneidad).	67
Figura 5.9 ROC para las propiedades de correlación y homogeneidad de las matrices de coocurrencia.	68