

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**TÉCNICAS DE REALCE MULTIESPECTRAL
APLICADAS A TEJIDOS TUMORALES**
(Multispectral enhancement techniques
applied on tumoral tissue samples)

Para acceder al Título de

***Graduado en
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación***

Autor: Arturo Pardo Franco

Julio - 2015



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

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

Realizado por: Arturo Pardo Franco
Directora del TFG: Olga M^a Conde Portilla
Título: “Técnicas de realce multiespectral aplicadas a tejidos tumorales”
Title: “Multispectral enhancement techniques applied on tumoral tissue samples”

Presentado a examen el día:

para acceder al Título de

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre):	López Higuera, José Miguel
Secretaria (Apellidos, Nombre):	Conde Portilla, Olga M ^a
Vocal (Apellidos, Nombre):	Sánchez González, Luis

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de:

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

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

Vº Bº del Subdirector

Trabajo Fin de Grado Nº
(a asignar por Secretaría)

Trabajo realizado en parte con los medios aportados por los proyectos DA2TOI (proyecto FIS 2010-19860) y FOS4 (proyecto TEC 2013-47264-C2-1-R) y la Beca de Colaboración del MECD de título „Sistemas de mejora multiespectral para diagnóstico de tejidos en oncología y cardiovascular” otorgada al autor en el Grupo de Ingeniería Fotónica del departamento TEISA.

Técnicas de realce multiespectral aplicadas a tejidos tumorales

ALUMNO: *Arturo Pardo Franco*
DIRIGIDO POR: *Olga M^a Conde Portilla*

Trabajo realizado en parte con los medios aportados por los proyectos DA2TOI (proyecto FIS 2010-19860) y FOS4 (proyecto TEC 2013-47264-C2-1-R) y la Beca de Colaboración del MECD de título ‘Sistemas de mejora multiespectral para diagnóstico de tejidos en oncología y cardiovascular’ otorgada al autor en el Grupo de Ingeniería Fotónica del departamento TEISA.

Palabras Clave: Espectroscopía, multiespectral, realce, enhancement, reconstrucción, cáncer, estimador, densidad, clasificador, direccional.

Agradecimientos

Siempre he considerado que no existe trabajo o actividad que un individuo humano sea capaz de hacer desde cero, y sin la ayuda de nadie. Incluso el más insignificante de los últimos trabajos en ciencia se apoya en tremendos pilares, constituidos con el paso de los años a través del esfuerzo de cientos de miles de autores que lo preceden. Del mismo modo, este escrito no existiría sin el apoyo de la incontable cantidad de personas que aún me acompañan en este viaje incierto, y nunca habría conocido el depósito de no ser por el esfuerzo del tribunal y el tiempo que éste ha dedicado para analizarlo con detalle.

Toda historia comienza con una oportunidad. A Olga le debo la oportunidad de comenzar ésta ya que, sin su optimista visión, este trabajo no habría tenido lugar, y yo no estaría escribiendo un trabajo útil. Gracias, de veras, por abrirme la puerta a un mundo que para mí es completamente nuevo, con cariño y libertad para explorarlo. A través de ella, he podido conocer con profundidad el Grupo de Ingeniería Fotónica, y he sido testigo de su capacidad, día tras día, de transformar un simple ambiente de trabajo en una comunidad viva con un potencial inconmensurable. Sería un error no agradecer a José Miguel, a Marian, a Luis, a Eusebio, a Fran, a Iñaki y a todos los demás la maravillosa bienvenida que he recibido de su parte; tentado a escribir la lista del grupo entera, a todos vosotros os debo mi comienzo en este mundo de ciencia y tecnología, el cual no podría haber empezado de una forma más emocionante.

Se podría decir que mi formación como graduado comenzó con la primera clase – y con el primer examen *fastidiado* –, y que concluye con un Trabajo de Fin de Grado. En cambio, cómo he llegado hasta aquí se debe a otras personas. Mi existencia sería una absurda idea de no ser por mis padres, Luis Miguel y María Jesús: a ellos les debo la vida, la ilusión por vivir y amar, y por hacer cada cosa con ilusión y esfuerzo, pensando siempre en los demás. Gracias a mi familia, no tengo miedo a querer, a confiar, a soñar y a creer en otros. Sin el apoyo de mis padres, el cariño y el inaprensible esfuerzo y sacrificio de mis abuelos, mis tíos y prima, hoy sería otra persona, una que no quiero ser jamás.

Se suele decir que la pareja y los amigos son la familia que te elige, y en mi caso bien podrían haber desaparecido tras cuatro años con muy pocas tardes libres. Sin embargo, no fue así. Gracias, María, por aguantarme incluso cuando ni yo me soportaba; haría lo que fuera con tal de ser capaz de hacer la mitad de lo que has hecho por mí hasta hoy. Gracias a José, Diego, Marta, Sergio, Javier, Ana, Aizea, Elías, y tantos otros amigos con los que he compartido momentos buenos y momentos geniales. Gracias también a compañeros como Adrián, Julián, Jesús y Alberto, pues decidimos en su momento luchar juntos para superar esta pelea en lugar de competir unos contra otros. Por último, quiero agradecer a profesores como Marta y Tomás su compromiso y cariño conmigo y con muchos otros estudiantes, en momentos en los que quizá no nos atrevíamos a decirlo, pero lo necesitábamos.

A todos vosotros, **gracias**. Es por todos vosotros que por fin siento que puedo formar parte de algo mayor, por pequeña que sea mi contribución, mientras os acompaño y mejoro como persona. Sólo espero que el viaje que compartimos no termine nunca.

Índice general

1. Introducción. Motivación y Objetivos	1
1.1. Cáncer.	
Fundamentos básicos.	1
1.1.1. Morbilidad y mortalidad.	2
1.1.2. Cáncer de mama: Nociones básicas	4
1.2. Cirugía para el cáncer de mama	7
1.2.1. Métodos más comunes.	7
1.2.2. Márgenes quirúrgicos en BCT.	8
1.3. Objetivo del Trabajo de Fin de Grado	9
1.4. Estructura del documento	9
2. Contexto y fundamentación.	11
2.1. Fenómenos de interacción luz-materia en medios turbios	11
2.1.1. Reflexión, absorción y esparcimiento	11
2.1.2. Reflectancia retroesparcida. Esparcimiento elástico de Mie	13
2.2. El sistema de medida	15
2.2.1. Métodos de calibración	15
2.2.2. Especímenes. Etiquetas sobre el tejido. <i>Regions of Interest</i> (ROIs).	16
2.3. Nociones de colorimetría	18
2.3.1. Color Matching Functions	18
2.3.2. Transformación XYZ a sRGB	23
3. Realce y reconstrucción multiespectral	24
3.1. Álgebra Lineal e Imagen Multiespectral.	24
3.2. Extracción de características mediante métodos de reducción de dimensio- nalidad.	26
3.2.1. La Descomposición en Valores Singulares (SVD).	26
3.2.2. Análisis de Componentes Principales (PCA).	29
3.2.3. Reducción de dimensionalidad en los datos.	32
3.3. Técnicas de realce espectral basadas en PCA	34
3.4. Método de Mitsui	34
3.5. Método de Hashimoto	40
3.6. Modificación de los métodos	44

3.6.1.	Amplificando el residuo en valor absoluto	44
3.6.2.	Tomando todas las longitudes de onda	46
3.6.3.	Eligiendo el residuo por encima del ruido	47
4.	El Clasificador de Direccionalidad Espectral	49
4.1.	Condicionamiento de los datos espectrales	50
4.2.	Espacio de señales discretas	51
4.3.	Sólo importa la dirección: Proyección sobre la n-esfera de radio unidad . .	51
4.4.	El Estimador Kernel Multivariable de Densidad Direccional	53
4.5.	Criterio MAP para hipótesis equiprobables.	57
4.6.	Post-procesado y reconstrucción	58
4.6.1.	Uso de un overlay	58
4.6.2.	Evaluación del clasificador. Receiver Operating Characteristic . . .	58
4.6.3.	Inclusión en el realce multiespectral.	61
5.	Resultados experimentales	62
5.1.	Métodos de realce multiespectral	62
5.1.1.	Algunos ejemplos ilustrativos	62
5.2.	Clasificador de direccionalidad espectral	70
5.2.1.	Metodología de obtención de resultados.	70
5.2.2.	Resultados globales.	70
5.2.3.	Receiver Operating Characteristic. Elección del parámetro γ	72
5.2.4.	Algunos ejemplos ilustrativos	74
6.	Conclusiones	82
6.1.	Resumen	82
	Bibliografía	87
Anexo 1.		
	Resultados completos	1

Capítulo 1

Introducción. Motivación y Objetivos

"Los ingenieros operan en la interfaz entre la ciencia y la sociedad."

— Gordon S. Brown

El oficio de ingeniero existe con un propósito más allá de meros ejercicios académicos; un verdadero ingeniero dedica amplio tiempo a estudiar y desarrollar sistemas y máquinas con el propósito de que éstos sean útiles para la sociedad que los ha formado y apoyado. Por tanto, es lógico comenzar el Trabajo de Fin de Grado con el problema que tratamos de resolver.

1.1. Cáncer. Fundamentos básicos.

Podemos llamar *cáncer* a todos los procesos de crecimiento, desarrollo y/o reproducción celular que son producto de mutaciones genéticas en un subconjunto de células.

Hoy día, gracias al avance de la genética celular, podemos asociar algunos tipos de cáncer a mutaciones o grupos de mutaciones específicas. Es conocida la firma genética de varios sub-grupos de cáncer, así como las secuencias de mutaciones que llevan al desarrollo de tumores y procesos de metástasis.

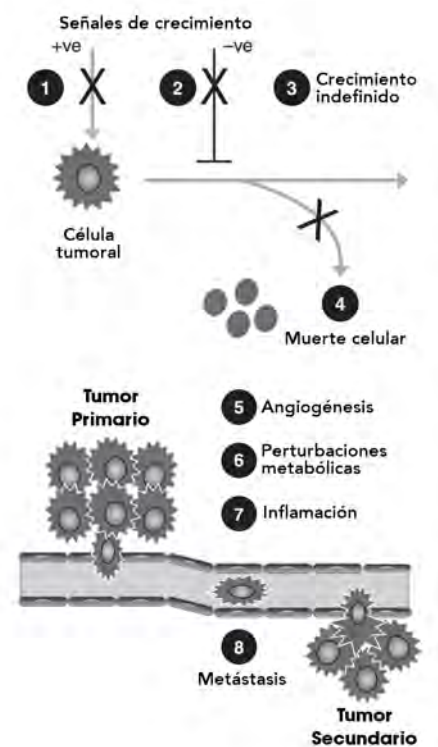


Figura 1.1: Generación, proliferación y metástasis del cáncer [Hesketh, 1, 2008].

Para que se produzca la aparición de un tumor, un conjunto de células deberá sufrir una serie de cambios fenotípicos tales que se garantice su supervivencia en el entorno donde están. Por ejemplo, pueden omitir las señalizaciones de control del crecimiento, evitar la muerte celular (o el suicidio celular), o bien adquirir un metabolismo diferente al de su entorno, entre otras cosas. Si unas cuantas células sufren una secuencia de cambios adecuada, nos encontramos ante un *tumor*.

En la Figura 1.1 encontrará las ocho mutaciones más comunes que definen un cáncer [1]: (1) Las células terminan dependiendo menos de las señales de crecimiento externas a las mismas, y además (2) ignoran aquéllas señales que limitan su crecimiento. A partir de cierto instante (3,4), el ADN de las células queda modificado de forma que evitan el suicidio celular, creciendo indefinidamente. Posteriormente, (5,6,7) las células son capaces de producir inflamación, modificar su metabolismo y lograr adquirir sus propios subsistemas vasculares de alimentación. Finalmente, (8) transportándose a través del sistema vascular, logran diseminarse a otras áreas del cuerpo. El primer problema que nos encontramos es que la frontera entre lo que constituye un tumor maligno y uno benigno no está totalmente definida; ambos comparten, a veces, las mismas mutaciones. Sin embargo, uno es letal, y el otro no.

El cáncer puede dividirse en dos clases fundamentales: tumores *sólidos* y *líquidos*. El primero es el más común, compuesto por *carcinomas* (tumores malignos de tejido epitelial) y *adenocarcinomas* (de tejido glandular epitelial). Los carcinomas tienen una etapa previa a la invasiva – es la etapa *in situ*, en la cual las células que lo componen se multiplican de forma anormal (hiperplasia). El resto de cánceres son la mayoría *sarcomas* (11 %) – tumores de tejido conectivo, hueso, cartílago, músculo, grasa, sistema circulatorio – y *leucemias* y *linfomas* (3 %) [1].

1.1.1. Morbilidad y mortalidad.

Incidencia mundial. Una forma de analizar la incidencia del cáncer es a partir de estudios anuales. Según la IARC (*International Agency for Research on Cancer*), 12.7 millones de nuevos casos de cáncer ocurrieron en 2008 en todo el planeta (5.6 millones en países desarrollados, 7.1 millones en países en desarrollo), y 7.6 millones de muertes en ese mismo año (2.8 millones y 4.8 millones, respectivamente). Estas cifras podrían ser mayores, ya que el muestreo en países en desarrollo es mucho más complicado [1, 2]. En las Figuras 1.2 y 2.4 se pueden contemplar estas estadísticas.

El cáncer es la segunda causa de mortalidad en el planeta, sólo superada por enfermedades de tipo cardiovascular, las cuales producen 13.5 millones de muertes al año (24 % de las muertes anuales). Éstas agrupan en un mismo conjunto enfermedades como isquemia de corazón, problemas cerebrovasculares e hipertensión.

Factores de riesgo. Prevención. Se estima que más de la mitad de los casos de cáncer y de las muertes que producen son potencialmente evitables. Aquéllos cánceres relacionados con el uso de tabaco, alcohol y problemas de nutrición son fáciles de prevenir,

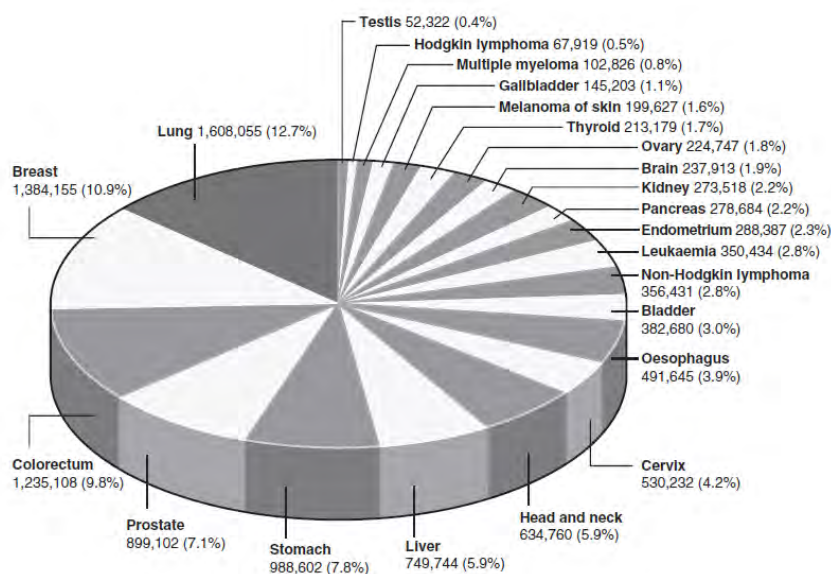


Figura 1.2: Incidencia anual mundial del cáncer
[R. Hesketh, 1, 2008]

si se toman medidas sociales adecuadas – especialmente, educando a la población sobre las consecuencias de consumir estas sustancias. Algunos cánceres relacionados con agentes infecciosos, como la Hepatitis B, el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o el papilomavirus humano (HPV), son fáciles de prevenir a través de métodos conocidos, como los ya existentes protocolos de vacunación, o el uso de anticonceptivos. Otros, como el cáncer colorrectal y el cáncer cervical, muestran lesiones precancerosas fácilmente detectables y eliminables antes de que la situación empeore.

Los tipos de cáncer más prevenibles son: cáncer de mama, cervical, colorrectal, de próstata, oral, y de piel. Sin embargo, la prevención mediante revisiones periódicas sólo se ha demostrado efectiva para el cáncer de mama, el cáncer cervical y el cáncer colorrectal. Para lograr una prevención adecuada, la Organización Mundial de la Salud propone cuatro protocolos a considerar en todos los países [2]:

- **Prevención primaria**, o reducción de la exposición de la población a entornos o sustancias que produzcan cáncer, mediante métodos de inmunización, control del consumo de sustancias cancerígenas y concienciación y educación social sobre los fenómenos que producen cáncer.
- **Detección temprana y prevención secundaria**. Este protocolo sólo es válido si la detección temprana permite un tratamiento mucho más efectivo. *Grosso modo*, es recomendable realizar análisis esporádicos, o análisis planificados por edad, a la población en riesgo.

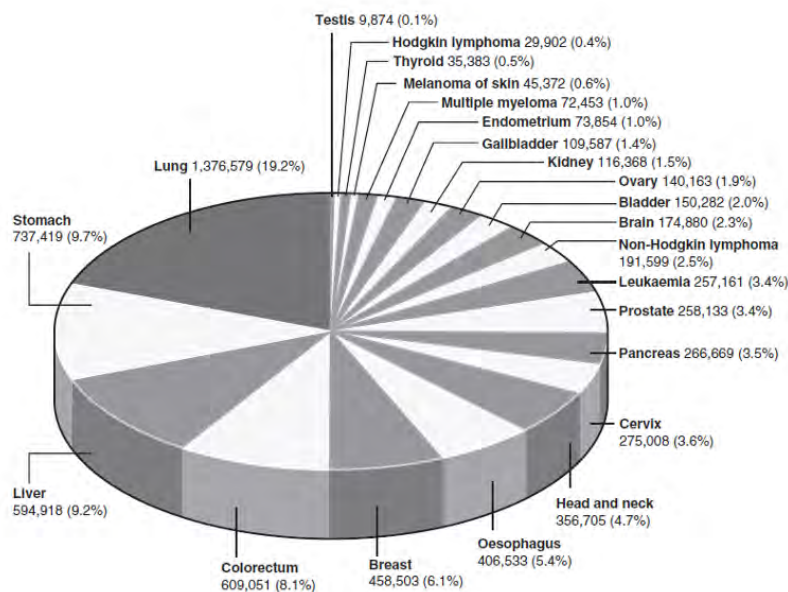


Figura 1.3: Muertes anuales producidas por el cáncer
[R. Hesketh, 1, 2008]

- **Diagnóstico y tratamiento.** Deberá hallarse un estándar de sistemas de diagnóstico fiables, y también protocolos de cirugía, quimioterapia, y radioterapia.
- **Cuidado paliativo.** Para los casos en los que la etapa del cáncer sea avanzada, deberá existir una metodología de tratamiento del dolor, en función de las necesidades del paciente.

Tasa de supervivencia. Para reconocer qué porcentaje de individuos sobreviven al cáncer, se cuentan los individuos que sobreviven a la enfermedad tras cinco años del diagnóstico inicial. Lo que más modifica esta tasa de supervivencia es el tipo de cáncer, la etapa a la que se diagnostica, y si hay tratamiento disponible [2]. Para aquellos tipos de cáncer donde se llevan a cabo protocolos de revisión, existen diferencias notables entre países desarrollados y países en desarrollo (por ejemplo, para el caso del cáncer de mama, la tasa de supervivencia en España es del 80.3 %, mientras que la de Algeria está en torno al 39 %).

1.1.2. Cáncer de mama: Nociones básicas

Nos interesa el cáncer de mama en particular ya que, como veremos más adelante, las muestras con las que trabajamos son muestras de pecho. El cáncer de mama tiene la segunda posición en incidencia mundial, y la cuarta en mortalidad [1–3], si bien la tasa de supervivencia es aproximadamente un 80 % en la mayoría de países desarrollados (80.3 % en España, 1995-1999).

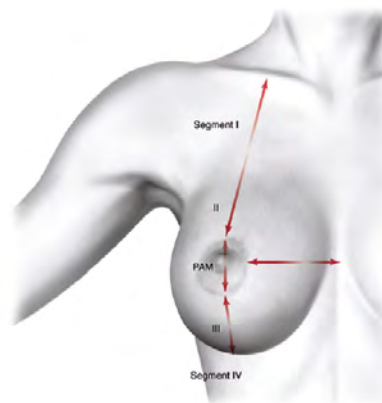
Sintomatología. En general, este tipo de cáncer no produce síntomas particulares en su estado inicial. Una vez éste se desarrolla, es palpable y localizable en forma de masa indolora. Existen algunos síntomas secundarios (dolor de pecho, inflamación, irritación de la piel, cambios en la forma, consistencia y densidad del tejido mamario, así como supuración de fluidos en la areola), pero son menos comunes.

Mutaciones. Factores de riesgo. Las mutaciones más comunes son aquéllas en los genes BRCA1 y BRCA2, así como en el gen P53 (que también muta en el caso de tumores benignos [1]). El factor que más afecta el riesgo de contraer cáncer de mama es la edad: aquellos individuos con historial familiar de cáncer de mama tienen más riesgo de adquirirlo a medida que pasen los años.

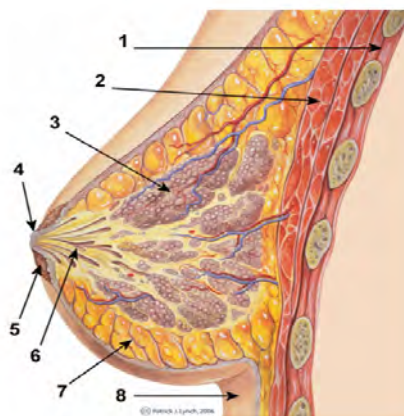
Otros factores primarios son hormonales (menopausia, y terapias hormonales usadas en estos contextos), la obesidad del paciente a la hora de alcanzar la menopausia y después de la misma, y el consumo diario de bebidas alcohólicas.

Prevención y detección temprana. Por lo general, se recomienda mantener un conjunto de hábitos saludables típicos: mantener un peso saludable, alimentación adecuada y variada, y reducir el consumo de alcohol. En el caso de países con infraestructuras sanitarias suficientemente fuertes, son recomendables las revisiones periódicas (mamografías) en los colectivos de mayor riesgo.

Tratamiento. El tipo de tratamiento depende principalmente del tamaño del tumor, y de las preferencias del paciente. Por lo general, son comunes: (1) procedimientos de tumorectomía (en el caso de existir márgenes claros) y mastectomía (para los casos más radicales); (2) quimioterapia y radioterapia (previa o posterior a la cirugía); (3) terapias hormonales o biológicas. Se suelen combinar estos tratamientos para garantizar la supervivencia del paciente.



(a) Segmentos del pecho: Vista anteroposterior.



(b) Diagrama anatómico lateral: (1) caja torácica, (2) músculos pectorales, (3) lóbulos, (4) pezón, (5) areola mamaria, (6) conductos galactóforos, (7) tejido adiposo, (8) capa de piel externa

Figura 1.4: Segmentos y anatomía del pecho [A. Fitoussi et al., 5]. Imagen (b) de Patrick J. Lynch, ilustrador médico.

Tasas de supervivencia. La tasa de supervivencia tras cinco años es alta siempre y cuando se lleven a cabo los protocolos de detección temprana. En EEUU, la tasa de supervivencia tras cinco años en mujeres de más de 15 años es del 89 %; en Suiza, del 82 %, y en España, del 80 %. Es mucho más trágica la tasa de supervivencia en países en desarrollo, donde los métodos de detección temprana (como el uso de mamografías de forma regular) resultan costosos: 38.8 % en Algeria, 36.6 % en Brasil, y 12 % en Gambia [2].

Etapas del cáncer de mama. La etapa del cáncer se establece en función del tamaño del tumor, de su invasividad y de si ha alcanzado o no los nodos linfáticos axilares.

Existen clasificaciones exhaustivas, con el propósito de situar al paciente en un contexto clínico adecuado. Hay un total de cinco etapas: Etapas 0 (cáncer *in situ*), I (cáncer invasivo de pequeñas dimensiones), II (cáncer diseminado a parte del sistema linfático axilar), III (invasión del sistema linfático axilar y eventos de inflamación y aparición de úlceras), IV (cáncer con metástasis fuera del pecho), con subetapas que especifican distintas configuraciones de tumores, con diferentes tamaños.

Anatomía del pecho.

Las glándulas mamarias se sitúan en el tórax anterior, y son por definición bilaterales y simétricas. Su forma, volumen y contenidos varían según la edad, haciendo difícil su caracterización precisa. El pecho es primeramente una glándula secretora, con lóbulos que producen leche para las etapas de lactancia y conductos que parten de los lóbulos y terminan en la areola y el pezón.

Esta glándula se une a la piel circundante a través de un tejido fibroso, denominado *crestas de Duret*, y está rodeada de tejido conectivo cuya densidad – y, con ésta, la consistencia y dificultad de mamografiar el espécimen – varía de forma inversamente proporcional a la edad.

Su posición anatómica se define por cuatro segmentos diferenciados (Figura 1.4): Los segmentos I-II se corresponden con la sección entre la clavícula y el Complejo Areola-Pezón (NAC), mientras que los segmentos III y IV definen la posición del pliegue inframamario y la posición respectiva entre el pecho y el margen costal [3,5].



(a) Inyección del colorante posterior a la anestesia.



(b) Incisión en la axila.



(c) Localización de ganglios linfáticos.



(d) Dos ganglios linfáticos centinela (cancerígenos): (1) detectado por colorante, (2) detectado por radiación.

Figura 1.5: Localización de ganglios con cáncer en BCT [A. Fitoussi et al., 5].

Variantes del cáncer de mama.

El cáncer de mama se desarrolla, por lo general, en la unión lóbulo-ductal. Las causas exactas de origen de estos tipos de cáncer sigue siendo desconocido, así como la razón por la cual algunos tumores se hacen lobulares, mientras que otros se hacen ductales [3].

Si se localiza un cáncer, lo más fundamental es determinar si ha ocurrido la metástasis, o diseminación del cáncer más allá de los conductos galactóforos o de los lóbulos. Si es así, se dice que el cáncer está en una etapa *invasiva*, y en caso contrario, el cáncer se define como *in situ*. Se presentan a continuación los tipos de cáncer de mama más comunes [4]:

CDIS,CLIS (Carcinoma Ductal/Lobular *in situ*).

Son un tipo de cáncer no invasivo. El CDIS se desarrolla en los conductos galactóforos, mientras que el CLIS crece en la zona lobular. Este último no es un cáncer realmente, pero sí un precursor de un cáncer futuro.

CDI/CLI (Carcinoma Ductal/Lobular Invasivo).

Este cáncer aparece en los conductos/lóbulos y se ha abierto paso hasta llegar a tejido normal. El ductal es el tipo el tipo de cáncer más común.

1.2. Cirugía para el cáncer de mama

En aquellos casos donde se localice un tumor o tejido, mediante métodos comunes de detección o revisión, y sea diagnosticado como cancerígeno (antes o después de una biopsia) parte del tratamiento consiste en la excisión del tejido peligroso. Es en este paradigma donde se sitúan las contribuciones de este Trabajo de Fin de Grado.

1.2.1. Métodos más comunes.

El tipo de cirugía que se aplica a cada espécimen depende de la localización y dimensiones del tumor. Si éste tiene dimensiones reducidas, el tratamiento más común es la *cirugía con conservación del seno (Breast Conserving Treatment)*. Esta técnica garantiza una tasa de recurrencia del 1 al 4%, y es equivalente en tratamiento a una mastectomía, si se hace en las etapas tempranas (I-II). En aquellos casos donde la cirugía con conservación del seno no es



(a) Incisión areolar.



(b) Elevación de la piel cortando la capa subdermal.



(c) Tumor. Se insertan los hilos de orientación.



(d) Retracción por tres puntos y extracción del tumor.

Figura 1.6: Segunda parte del procedimiento BCT: Mastectomía segmental. [A. Fitoussi et al., 5].

una buena técnica, se termina recurriendo a una mastectomía, parcial o radical. Es un procedimiento quirúrgico considerado de bajo riesgo, y comúnmente se lleva a cabo bajo anestesia general.

1.2.2. Márgenes quirúrgicos en BCT.

Existen al menos tres técnicas populares de cirugía: La cuadrantectomía (extracción de un cuarto de la mama), la resección sectorial (menos invasiva que la anterior) y la tumorectomía – esta última la menos invasiva y la más peligrosa [6].

En las Figuras 1.5 y 1.6 se muestran los sucesivos pasos llevados a cabo en una intervención quirúrgica con conservación de pecho (en este caso, una tumorectomía). Primero, se inyectan al paciente tintes e isótopos radiactivos que se adhieren a ciertos tejidos cancerígenos; se buscan los ganglios linfáticos más próximos al tumor y se verifica si tienen cáncer – si es así, se extraen. En los siguientes pasos se procede a la extracción del tumor. La incisión deberá hacerse directamente encima del mismo, siempre que sea posible, maximizando la exposición del tejido maligno. La masa tumoral se extrae y se termina cauterizando la cavidad resultante [3,5,6].

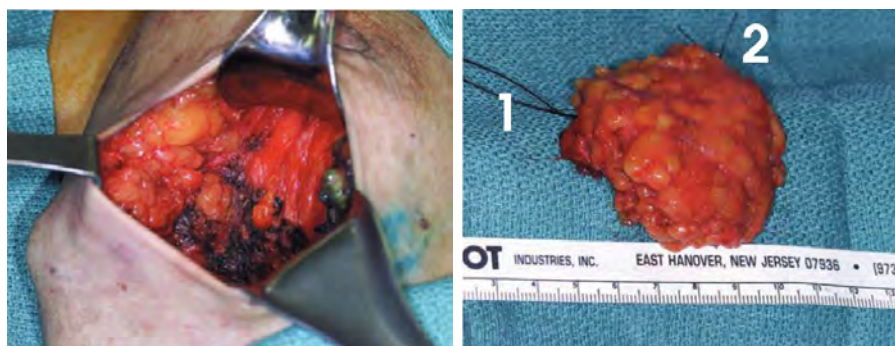


Figura 1.7: Cavidad cauterizada y espécimen orientado con suturas (1 y 2) [A. Fitoussi et al., 5].

Existe una problemática a la hora de extirpar un cáncer de mama: En un seno, no hay órganos o partes claramente diferenciadas, así que el cirujano sólo puede apoyarse en la existencia de tejido sano uniformemente dispuesto alrededor del tumor recién extraído [6]. Llamamos *margen quirúrgico* al margen de tejido sano que queda en la muestra tras ser extraída. El margen posee diversas clasificaciones: puede ser *negativo/limpio*, *positivo*, o *próximo*. Si el margen es **negativo**, las células cancerosas extraídas están rodeadas de tejido sano (normal). Si el margen es **positivo**, existen células cancerosas en el borde; si éste es **próximo**, las habrá muy cerca del borde. En esos dos últimos casos, se requerirá continuar con la excisión, o planificar otra en el futuro [1,4,5].

Es importante destacar que la prognosis del paciente depende del tipo de margen quirúrgico obtenido durante la extracción. Existe un compromiso entre la cantidad de tejido sano que se extrae y el riesgo de recurrencia del cáncer. Por lo general, se suele

establecer como regla de oro superar un margen de 2 milímetros, aunque otros estudios sugieren utilizar márgenes de 5 milímetros o más [6,9].

Sin embargo, es difícil hallar dichos márgenes durante el procedimiento quirúrgico dada la casuística de la operación; los márgenes pueden estar entintados, pintados o cauterizados, dificultando su distinción. Como consecuencia, las muestras extraídas son analizadas mediante métodos histológicos o citológicos, que o bien requieren de un tiempo de preparación y finalización del orden de horas (por lo cual, la prognosis se descubre tras finalizar la operación), o bien su sensibilidad y especificidad varían notablemente entre paciente y paciente. Este paradigma trae, como consecuencia frecuente, que entre el 20 y el 40 % de los pacientes tengan que volver a entrar a quirófano debido a márgenes próximos o positivos, a las 36 horas de la primera operación. **La prognosis del paciente medio mejoraría significativamente de hallar un método rápido y fiable de evaluación de los márgenes quirúrgicos del tumor extraído y de la cavidad durante la operación**, evitando tener que repetirla. [7].

1.3. Objetivo del Trabajo de Fin de Grado

El objetivo del Trabajo de Fin de Grado es ahora evidente: En aquellos casos donde se pueda llevar a cabo una cirugía con conservación del seno, se pretende hallar un sistema o método que facilite al cirujano la determinación de los márgenes del tumor, tanto sobre el espécimen como en el interior de la cavidad que ocupaba, *durante la operación, y de forma rápida y fiable*. Para ello, no utilizaremos sistemas electromagnéticos (MRI) ni de Rayos-X (CT-scan) por razones evidentes; buscaremos amparo en la *fotónica*, rama de la ciencia y la tecnología encargada de generar, controlar y detectar fotones – partículas de luz. En particular, el foco de análisis de este trabajo es el del procesado de la reflectancia simple retroesparcida, y en particular los temas de :

- **Reconstrucción espectral:** Obtención de imágenes en color a partir de los espectros disponibles.
- **Realce multiespectral:** Lograr replicar métodos que añaden colores en mitad del proceso de reconstrucción para vislumbrar uno o varios parámetros de reflectancia.
- **Clasificación multiespectral:** Sería ideal hallar un modelo generalista, práctico y útil para el caso que nos concierne y para otros casos similares, que bien puede combinarse a los métodos anteriores si esto facilita el trabajo del cirujano.

1.4. Estructura del documento

El documento se organiza de forma sencilla y modular. Cada capítulo trata de ser lo más autosuficiente posible, conteniendo toda la información necesaria para explicar y discutir cada tema apropiadamente. Se ha elegido la siguiente estructura:

- En el primer capítulo, se introducen nociones sobre el origen del *dataset* multiespectral, las interacciones luz-medios turbios y la generación de color RGB a partir de espectro.
- En el segundo capítulo, se explica la Descomposición en Valores Singulares de una matriz, y los métodos de realce multiespectral que hemos decidido modificar. Se explican con detalle las razones por las cuales se llevan a cabo dichos cambios.
- El tercer capítulo está dedicado a un nuevo sistema, que se ha decidido llamar *Clasificador de Direccionalidad Espectral*. Este sistema trabaja con una serie de conceptos que se exponen paso a paso.
- Finalmente, los dos últimos capítulos exponen los resultados (cualitativos) de los métodos de realce replicados y modificados, y los resultados cualitativos y cuantitativos del Clasificador de Direccionalidad Espectral, así como las conclusiones obtenidas a lo largo del desarrollo del Trabajo.

Además, se anexiona a este documento un conjunto de 29 gráficas, correspondiente a las 29 muestras utilizadas. En cada gráfica, se muestran los resultados de todas y cada una de las técnicas indicadas a lo largo del Trabajo.

Capítulo 2

Contexto y fundamentación.

*"Engineers like to solve problems.
If there are no problems handily available, they will create their own problems. "*
— Scott Adams

2.1. Fenómenos de interacción luz-materia en medios turbios

Conocido el dispositivo de medida, es buena idea analizar la escala de los objetos que se analizan, y cuáles son los modelos de interacción entre luz y materia para estas dimensiones, y en este contexto. De esta forma, sólo nos quedará comprender los métodos de procesamiento de señales de reflectancia.

2.1.1. Reflexión, absorción y esparcimiento

Fundamentalmente, hay que establecer que existen tres interacciones entre la luz y los materiales. Son los fenómenos de absorción, reflexión y esparcimiento, y ocurren en todos los medios por igual, pero en diferentes proporciones.

Reflexión. Se dice que existe reflexión de la luz sobre una superficie cuando, dado un rayo de luz con ángulo de incidencia θ_i respecto de la normal de la superficie, ésta es reflejada con el mismo ángulo respecto de la normal: θ_r . Los fenómenos de reflexión se suelen explicar modelando la luz como un campo electromagnético, con las expresiones de los coeficientes de reflectancia de Fresnel y la ley de Snell. Por ejemplo, para una onda polarizada *en s*, el coeficiente de reflexión del campo eléctrico incidente sobre un cambio de medio puede expresarse mediante

$$\Gamma_s = \frac{E_s^-}{E_s^+} = \left| \frac{n_1 \cos(\theta_i) - n_2 \cos(\theta_t)}{n_1 \cos(\theta_i) + n_2 \cos(\theta_t)} \right|,$$

donde θ_t es el ángulo con el que la luz se transmite al segundo medio, n_1, n_2 son los índices de refracción del medio de partida y del medio de llegada, respectivamente, y

$$n_1 \sin(\theta_i) = n_2 \sin(\theta_t).$$

Absorción. Los fenómenos de absorción se producen cuando la energía contenida en un fotón es absorbida por un electrón, resultando en una transición a un estado excitado. La luz puede interaccionar con moléculas y átomos de los diferentes materiales con los que se encuentra. Esta interacción es dependiente de la frecuencia de los fotones y de las características energéticas del medio sobre el que inciden, por lo que sólo existen un conjunto finito de transiciones permitidas. Para el caso de medios no puros, establecer modelos de niveles energéticos o elásticos de absorción, fluorescencia y fosforescencia es tarea imposible.

La absorción suele modelarse mediante el *coeficiente de absorción*, que se suele escribir como $\mu_a(\lambda)$, en unidades de $[1/\text{cm}]$. Este coeficiente es una probabilidad de interacción: la probabilidad de que un fotón con longitud de onda λ_0 sea absorbida en un diferencial de distancia ds es $\mu_a(\lambda_0) \cdot ds$. El camino medio antes de que un fotón sea absorbido es, por tanto, su recíproco: $1/\mu_a(\lambda)$ [8].

Esparcimiento. El esparcimiento de la luz es un fenómeno por el cual los fotones que inciden sobre el material toman múltiples trayectorias diferentes. Su modelado requiere la introducción del *coeficiente de esparcimiento/scattering*, $\mu_s(\lambda)$, y puede entenderse como la probabilidad de ocurrir dispersión por unidad de espacio, así como el número medio de eventos de dispersión (cambios de trayectoria) que un fotón puede sufrir por unidad de longitud.

Para modelar los cambios de dirección de un fotón, se introducen funciones de fase $p(\vec{s}, \vec{s}')$ que establecen la probabilidad (por estereorradián) de que un fotón que parte de una dirección \vec{s} termine propagándose en la dirección \vec{s}' , y funciones de retardo temporal (puesto que el fotón pasa un tiempo cambiando de dirección hasta propagarse en la otra dirección).

Estas funciones de fase se modelan como distribuciones de probabilidad angular para todas las posibles direcciones de apuntamiento de luz (θ, ϕ) , aunque en muchos casos sólo se estudia la dispersión en función del ángulo de incidencia θ . Para estos casos, se suele definir el parámetro de *anisotropía*, que indica la tendencia del material a exhibir dispersión en el sentido del frente de onda incidente:

$$g = \int p(\vec{s}, \vec{s}') \cos(\theta) d\omega'.$$

Valores nulos de g definen materiales que dispersan la luz de forma isotrópica, mientras que valores próximos a 1 definen una fuerte dispersión hacia delante. La densidad de probabilidad $p(\vec{s}, \vec{s}')$ puede ser cualquiera, con tal de que cumpla las características de una función de densidad de probabilidad (FDP):

$$\int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') d\omega' = 2\pi \int_0^\pi p(\theta) \sin(\theta) d\theta = 1.$$

Para nuestra desgracia, se hace muy complicado elegir una función de fase para materiales con variaciones de índice de refracción y diferentes distribuciones espaciales de partículas de distintos tamaños.

El efecto combinado de absorción y esparcimiento se suele llamar *atenuación*, y su coeficiente asociado μ_{total} es la probabilidad total de que un fotón sea absorbido o esparcido.

Ley de Beer-Lambert-Bouguer. Para un caso de luz coherente que incide sobre un material isótropo y homogéneo en la dirección de las z positivas, la expresión de la fracción irradiancia que atraviesa el material sin llegar a ser esparcida ni absorbida es modelable mediante la expresión

$$I(z) = I_0 e^{-(\mu_a + \mu_s)z} = I_0 e^{-\mu_{total}z},$$

donde I_0 es la irradiancia transmitida (la porción de luz que ha sobrevivido a la reflexión especular y ya está en el medio a analizar), y z es la dirección de propagación (o la profundidad).

Por lo general, para aquellos casos donde exista una mezcla de sustancias, podemos establecer el *coeficiente de absorción total* de un tejido como la suma de las contribuciones de cada uno de los coeficientes de absorción, es decir:

$$\mu_a(\lambda) \approx \sum_{i=1}^N \epsilon_i(\lambda) \cdot c_i, \quad (2.1)$$

donde $\mu_a(\lambda)$ es el coeficiente de absorción total para una radiación electromagnética de longitud de onda λ , $\epsilon_i(\lambda)$ es el coeficiente de extinción molar espectral, y c_i es la concentración de dicha sustancia en el medio.

2.1.2. Reflectancia retroesparcida. Esparcimiento elástico de Mie

La mayoría de los medios a analizar se definen como **medios turbios**. Un medio turbio es cualquier medio donde no existe uniformidad en sus características ópticas (es un medio no homogéneo), ante lo cual la interacción entre la luz y un medio turbio produce cambios en la dirección de propagación de la luz – debido a variaciones del índice de refracción n –, así como eventos de esparcimiento y absorción diferentes en función de la posición donde incide la luz.

Ya se ha mencionado que encontrar un modelo de distribución de fase que realmente se ajuste a medios turbios es tarea casi imposible. Como ventaja, cabe destacar que el hecho de trabajar en longitudes de onda del infrarrojo cercano (NIR) implica que el sistema está trabajando en frecuencias de luz donde el fenómeno predominante es el

llamado *esparcimiento elástico*. Por suerte, existen modelos de esparcimiento elástico, así como curvas que aproximan los resultados teóricos, para casos, como el nuestro, en los que no es posible tampoco derivar un modelo teórico.

En particular, ya que este sistema opera en el infrarrojo cercano ($500 - 1000nm$), y que las dimensiones de los orgánulos de la célula epitelial humana están en el entorno del micrómetro, hay que utilizar modelos de esparcimiento donde las partículas tengan dimensiones similares a la longitud de onda del espectro NIR.

Curva empírica de ajuste basada en el modelo de Mie.

Gustav Mie describe, en una de sus publicaciones más conocidas [14], un modelo para explicar el esparcimiento de la luz, a partir de un medio compuesto por esferas de diámetro comparable a la longitud de onda de la radiación incidente. En primer lugar, Mie define la solución a las Ecuaciones de Maxwell en coordenadas esféricas y para un campo incidente sobre una esfera de radio variable. Posteriormente, define el campo esparcido total por un conjunto de esferas radiantes. Por desgracia, para medios turbios, aún no existe un modelo teórico completo que defina perfectamente la interacción entre la luz y un medio con múltiples tipos de partículas reflectantes.

Como alternativa, existen curvas empíricas de ajuste [10, 13] que aproximan el modelo de Mie para la emulsión *Intralípido 10 %* (un tipo de nutriente intravenoso que se utiliza como tejido de prueba (*phantom*) en sistemas ópticos de análisis tisular) y que son utilizadas con frecuencia. En particular, para el sistema utilizado, se emplea la expresión

$$R(\lambda) = A\lambda^{-b}e^{-\mu_{tissue}D}, \quad (2.2)$$

donde A y b reciben el nombre de *amplitud de esparcimiento* y *potencia de esparcimiento*, respectivamente; D es la longitud media a recorrer por la luz, y μ_{tissue} es el coeficiente de atenuación de los cromóforos más relevantes presentes en el tejido, definida por

$$\mu_{tissue} = c_{HbT} (f_{StO_2}\epsilon_{HbO_2}(\lambda) + (1 - f_{StO_2})\epsilon_{Hb}(\lambda)), \quad (2.3)$$

siendo c_{HbT} la concentración de hemoglobina, ϵ_{HbO_2} y ϵ_{Hb} los coeficientes de extinción molar de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada, respectivamente, y f_{StO_2} el factor de saturación de oxígeno, definido como la fracción de hemoglobina oxigenada respecto del total:

$$f_{StO_2} = \frac{c_{HbO_2}}{c_{HbT}}.$$

2.2. El sistema de medida

Los datos de reflectancia difusa $R(\lambda)$ se han obtenido del sistema confocal representado en la Figura 2.1. Este aparato, desarrollado por la *Thayer School of Engineering* del *Dartmouth College* [10–12], consta de un subsistema mecánico de orientación del espécimen y de escaneo línea a línea (*raster-scanning*), y de un subsistema óptico que recoge la luz retroesparcida.

En primer lugar, una fuente de luz blanca de tungsteno-halógeno (HL) se acopla a una fibra de $50\ \mu\text{m}$ (F1), y ésta se apunta a una fuente acromática (L1) para dirigir la luz blanca al espécimen. La segunda lente (L2) se encarga de focalizar la luz sobre el plano de muestra, de forma que el ancho del haz que alcanza la muestra siempre resulta ser menor de $100\ \mu\text{m}$ para todas las longitudes de onda de operación.

Posteriormente, la luz retroesparcida se recoge a través de la misma lente, para luego atravesar un divisor de haz (BS) y una lente acromática (L3) que proyecta el haz en la cara proximal de una fibra de $100\ \mu\text{m}$, que actúa también como el agujero de una cámara estenopeica. El sistema de detección lumínica proporcionaba una magnificación de aproximadamente 2.5, por lo cual el sistema es capaz de recoger luz en una región circular de $40\ \mu\text{m}$ en el plano de la muestra.

Por último, el espectrómetro basado en CCD fue calibrado en el rango de los 510 a los 785 nanómetros, con una resolución espectral de 1 nm [12]. Un computador (COMP) controla el posicionamiento del sistema XY y recoge las medidas del espectrómetro basado en CCD (SPEC). Éste está configurado de forma que se toma un total de 512 valores uniformemente distribuidos de reflectancia en el rango estipulado, para cada píxel medido. Las imágenes multispectrales tienen una resolución del orden de los 100×100 píxeles (varían según el espécimen).

2.2.1. Métodos de calibración

Para el caso de incidencia normal, la interfaz de cristal (XY) proporcionará reflexión de tipo Fresnel sobre el sistema de medida, por lo cual este sistema se orienta a 45° respecto del eje óptico; sin embargo, el divisor de haz también proporcionaba reflexión directa a través de algunas de sus caras. Se cumple que, para todo objeto medido,

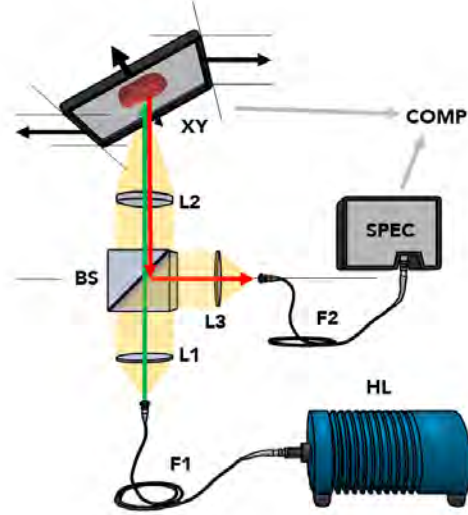


Figura 2.1: Sistema confocal de medida. **L1,L3:** Dos lentes acromáticas idénticas. **L2:** Lente objetivo. **BS:** Divisor de haz. **F1,F2:** Fibras de iluminación y de detección. **SPEC:** Espectrómetro basado en tecnología CCD. **XY:** Desplazador *raster-scan*.

$$I_{meas}(\lambda) = I_{obj}(\lambda) \cdot H_{sys}(\lambda) + I_{bg}(\lambda), \quad (2.4)$$

donde $I_{meas}(\lambda)$ es el espectro medido, $I_{bg}(\lambda)$ es el espectro que se obtiene cuando no hay espécimen en el sistema, $I_{obj}(\lambda) = R(\lambda) \cdot I_{source}(\lambda)$ es la luz retrodispersada por el objeto y $H_{sys}(\lambda)$ la respuesta espectral del sistema de medida (que no es ideal).

Ya que nuestro objetivo es obtener la luz retrodispersada por los tumores, un material de reflectancia unitaria y uniforme (en este caso, una resina termoplástica) es elegido como material de referencia para calibrar. Tras tomar medidas de su reflectancia, se quita el material de referencia del dispositivo y se dispone en su lugar un tumor. Entonces, se mide la luz que éste devuelve, $I_{meas}(\lambda)$. Tras estas medidas, la reflectancia de dicho tumor puede obtenerse mediante

$$R(\lambda) = \frac{I_{meas}(\lambda) - I_{bg}(\lambda)}{I_{ref}(\lambda) - I_{bg}(\lambda)}, \quad (2.5)$$

y aquí

$$I_{ref}(\lambda) = R_{ref}(\lambda) \cdot I_{source}(\lambda) \approx I_{source}(\lambda), \quad \forall \lambda \in [\lambda_{inicio}, \lambda_{fin}]$$

es la luz recibida al medir el material de referencia, ya que éste es de reflectancia aproximadamente igual a la unidad para todo el rango de longitudes de onda a analizar. De esta forma, la respuesta espectral de los instrumentos de medida es eliminada, obteniendo una magnitud de la reflectancia retroesparcida.

Cuando se toman medidas línea a línea en una región rectangular (lo que se conoce como *raster-scanning*) moviendo la plataforma XY, el resultado es la *imagen multiespectral* de lo que sea que esté sobre la plataforma. Dicho de otra forma, **este montaje genera imágenes multiespectrales de las muestras y de sus márgenes.**

2.2.2. Especímenes. Etiquetas sobre el tejido. *Regions of Interest* (ROIs).

En total, se analizaron 29 especímenes de tejido tumoral, proporcionados por el Departamento de Patología en el Centro Médico Dartmouth-Hitchcock. Los tumores tienen dimensiones de entre 1 y 2 centímetros cuadrados, con un grosor de entre 3 y 5 milímetros [10].

Estos especímenes se llevaron al sistema de medida nada más ser extraídos y se tomaron las medidas de reflectancia en el sistema confocal de medida, sobre la plataforma XY. Inmediatamente después, se llevó a cabo el procedimiento estándar de tratamiento histológico de tejidos y se determinaron los tipos de tejidos existentes en las muestras.

Un equipo de patólogos posteriormente utilizó este análisis histológico para estipular un diagnóstico, dibujado sobre las imágenes multiespectrales generadas por el sistema de medida (no sobre la imagen histológica). Éstas se adjuntan, a cada muestra, como ROIs o regiones de interés.

Una Región De Interés es un mapa de bits con una etiqueta. Las dimensiones espaciales del mapa de bits son las mismas que las de la imagen multiespectral. En total, los patólogos

definieron siete ROIs importantes: (1) Normal, (2) Tumor benigno, (3) Carcinoma Ductal In Situ (DCIS), (4) Carcinoma Ductal Invasivo (IDC), (5) Carcinoma Lobular Invasivo (ILC), (6) Inflamación y (7) Tejido adiposo. Estas regiones son circulares y no definen la forma exacta de los tejidos, pero el patólogo nos asegura con certeza experta que dichas áreas etiquetadas en la imagen multispectral son de un tipo de tejido específico.

En la Figura 2.2 encontrará un diagrama que representa la reflectancia media de todos los tejidos. Éstos exhiben, como se hipotetizó inicialmente [12], diferentes valores de amplitud y potencia de esparcimiento (A, b), las cuales describen la forma y distribución de las partículas difusoras, y su densidad. El problema aquí está en que las desviaciones típicas son muy anchas, y algunos tejidos normales pueden incluso ser confundidos con tejido benigno, o hasta cáncer. Si se consigue tener en cuenta la firma espectral media de cada tipo de tejido, resulta más fácil establecer mayores diferenciaciones que las definidas por el esparcimiento (que también van incluidas, implícitamente, en los datos).

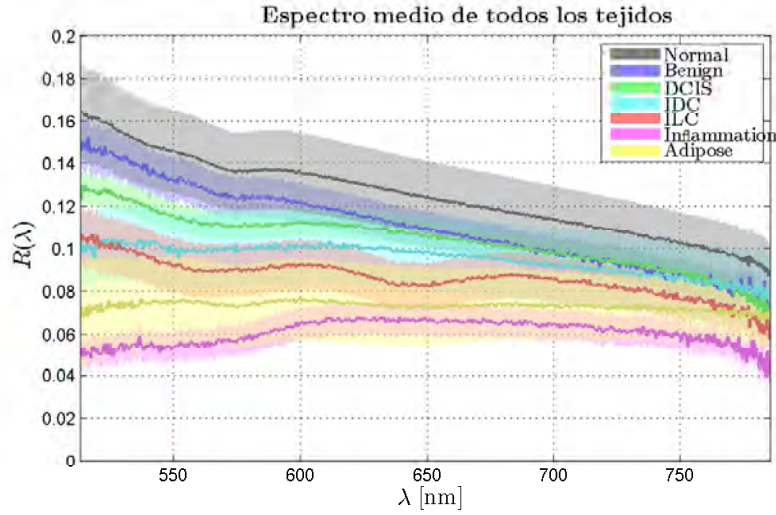


Figura 2.2: Reflectancia media y desviación típica de los siete tipos de datos etiquetados.

Dimensiones del problema.

Conviene hacer una revisión de lo hasta ahora mencionado. El sistema de medida posee un *spot* o diámetro de focalización de la luz es de unos $40 \mu m$ sobre el material a analizar. Las pequeñas dimensiones del foco nos permite simplificar todo el problema a un modelo de *retroesparcimiento simple*, es decir, la fracción de luz que alcanza el espectrómetro se debe fundamentalmente a la radiación retroesparcida ($s' = -\vec{s}$).

La luz incide sobre células de tejido mamario, cuyas dimensiones (hablando de tejido mamario epitelial sano) son del orden de los $50 \mu m$. Podemos aducir con seguridad, dadas las circunstancias del problema, que los tejidos biológicos a analizar son medios turbios.

Incluso en el caso de impactar luz directamente en el centro de la célula, ésta se compone de múltiples orgánulos y éstos terminan siendo los elementos radiantes.

En el entorno del micrómetro, algunos orgánulos como las mitocondrias, de diámetros entre los $0,5\mu m$ y los $10\mu m$, serán los encargados de rerradiar la luz infrarroja incidente. Las variaciones en tamaño, composición y densidad de cada célula en cada tipo de tejido es la razón por la que, en teoría, unos tejidos exhibirán diferentes patrones de esparsimiento que otros.

2.3. Nociones de colorimetría

El paso fundamental que se lleva a cabo en todo procedimiento de reconstrucción espectral es la conversión del espectro a lo que se conoce como *triestímulo XYZ*, espacio de color que el humano promedio percibe cuando contempla un espectro en particular. Este valor triestímulo puede convertirse a RGB y mostrarse en cualquier pantalla – y éste es nuestro propósito final.

2.3.1. Color Matching Functions

A diferencia de lo que el sentido común podría dictar, los objetos no *tienen* un color en función del espectro que reflejan – el *color* es una percepción estrictamente humana y depende de cómo cada individuo recolecta el espectro reflejado por el objeto y lo interpreta como color.

A lo largo del último siglo han aparecido varios modelos que tratan de estimar el color percibido por el humano medio dado un espectro específico incidiendo en su retina. Allá por 1931, y basándose en unos informes sobre colorimetría creados por la Optical Society of America en 1992, la Comisión Internacional de Iluminación (en francés, la *Commission Internationale de l'Éclairage*, CIE) determinó, en una reunión internacional, un modelo a tomar como referencia. Es el **Observador Estándar CIE**, y se fundamenta en los siguientes principios empíricos:

1. Para identificar un color, sólo se necesitan tres variables independientes, conocido como *valor triestímulo*.
2. Dada una mezcla aditiva de colores, sus valores triestímulo son suficientes para explicar dicha mezcla – no son necesarios sus espectros.
3. Para toda mezcla aditiva de colores, si uno o varios componentes de la mezcla varían gradualmente, el valor triestímulo de la mezcla también cambia gradualmente.

El trabajo de la CIE para estandarizar el observador estándar se fundamentó en resultados empíricos de 1920 llevados a cabo con múltiples sujetos. Éstos eran sometidos a una serie de estímulos lumínicos, los cuales se sentaban ante montajes que garantizaban siempre la *visión foveal* del color – es decir, sólo sus fóveas (zona del ojo con alta densidad

de conos y bastones sensibles a diferentes longitudes de onda) eran iluminadas con diferentes colores.

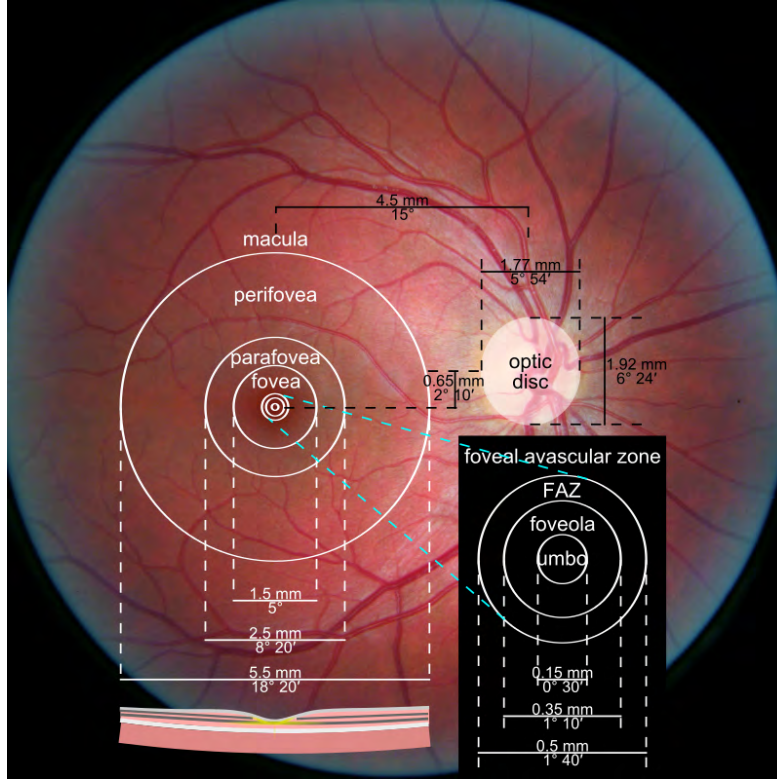


Figura 2.3: Retina del ojo humano, con especificaciones de las regiones más relevantes [<https://www.flickr.com/photos/13316988@N00/2607304048/>]

Bajo el estándar CIE 1931, la percepción del color se define con la siguiente expresión:

$$[C] \equiv R[R] + G[G] + B[B], \quad (2.6)$$

donde $[C]$ es el estímulo desconocido, el símbolo " \equiv " significa "coincidencia de color", $[R]$, $[G]$, $[B]$ son las unidades en las que escribimos el estímulo y R , G , B son las cantidades de cada estímulo básico a utilizar. En los experimentos del estándar, cada sujeto era expuesto a un color $[C]$ y éstos intentaban luego construir el mismo color disponiendo diferentes cantidades de $[R]$, $[G]$ y $[B]$ a su disposición; este procedimiento recibe el nombre inglés de "*color match*". Hay que denotar que, aunque se utilicen las letras R , G y B en la expresión, ello no implica que se traten de los colores rojo, verde y azul – son tres estímulos lumínicos en cantidades específicas.

El siguiente paso consiste en hallar la respuesta espectral de cada uno de los valores triestímulo. Esto se consigue con la pregunta siguiente: Dada una luz monocromática, ¿qué proporciones de valores triestímulo son necesarias para conseguir que el color

se corresponda con ese espectro monocromático? Si lleva a cabo pruebas empíricas, desarrollará lo que se conoce como Funciones de Correspondencia de Color (*Color Matching Functions*). Las CMF $\bar{r}, \bar{g}, \bar{b}$ representan las cantidades necesarias de valores triestímulo para lograr una correspondencia con el color de esa longitud de onda. Esas cantidades son función del color monocromático a corresponder y, por tanto, funciones de la longitud de onda: $\bar{r}(\lambda), \bar{g}(\lambda), \bar{b}(\lambda)$.

Al final, la ecuación de correspondencia de un color $[C]$ puede escribirse como

$$[C] = I_R[R] + I_G[G] + I_B[B], \quad (2.7)$$

y los valores I_R, I_G e I_B se corresponden con

$$I_R = \int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} \bar{r}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad (2.8)$$

$$I_G = \int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} \bar{g}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad (2.9)$$

$$I_B = \int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} \bar{b}(\lambda)P(\lambda)d\lambda, \quad (2.10)$$

y $P(\lambda)$ es el color no monocromático que cada sujeto intenta corresponder con la suma de tres estímulos básicos. Estas integrales se llaman *valores triestímulo*. Por lo visto, utilizar CMFs con valores negativos en algunos cálculos colorimétricos resulta un problema, así que se intentó encontrar un espacio de color basado en tres estímulos X, Y y Z , tales que sus CMFs fuesen positivas para todas las longitudes de onda del espectro visible. Este es el *modelo CIEXYZ*. Para lograr corresponder un color específico a partir de tres estímulos, la percepción humana se modela con la suma ponderada

$$[C] = X[X] + Y[Y] + Z[Z], \quad (2.11)$$

donde los valores triestímulos están definidos con las integrales

$$X = k \int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} \phi_\lambda(\lambda)\bar{x}(\lambda)d\lambda, \quad (2.12)$$

$$Y = k \int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} \phi_\lambda(\lambda)\bar{y}(\lambda)d\lambda, \quad (2.13)$$

$$Z = k \int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} \phi_\lambda(\lambda)\bar{z}(\lambda)d\lambda, \quad (2.14)$$

k representa una constante a ponderar, $\phi(\lambda)$ es el estímulo colorimétrico (luz) visto por el observador, y $\bar{x}(\lambda), \bar{y}(\lambda), \bar{z}(\lambda)$ son las funciones de correspondencia de color del *Observador Estándar CIE 1931*.

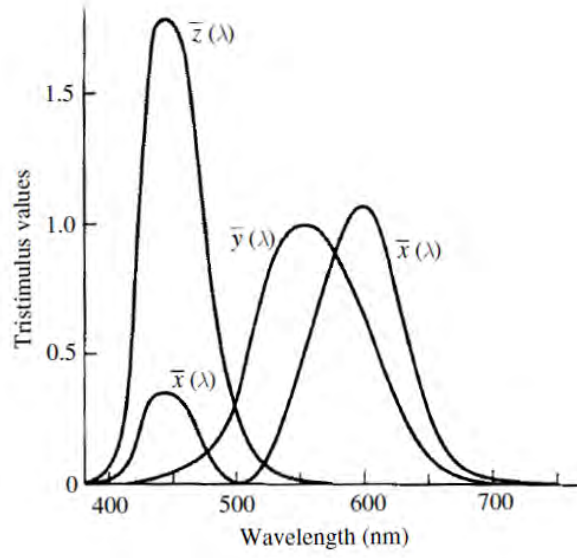


Figura 2.4: Funciones de Correspondencia de Color del Observador Estándar CIE 1931 [Noboru Ohta, 17, 2006]

Es frecuente que el espectro sea muestreado con una resolución específica, con lo cual realmente sólo disponemos de datos discretos del espectro del material. El estándar CIE establece que las integrales pueden aproximarse mediante sumas de Riemann:

$$X \approx k \sum_{\lambda} \phi_{\lambda}(\lambda) \cdot \bar{x}(\lambda) \Delta_{\lambda}, \quad (2.15)$$

$$Y \approx k \sum_{\lambda} \phi_{\lambda}(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda) \Delta_{\lambda}, \quad (2.16)$$

$$Z \approx k \sum_{\lambda} \phi_{\lambda}(\lambda) \cdot \bar{z}(\lambda) \Delta_{\lambda}. \quad (2.17)$$

Existen varios tipos de estímulos colorimétricos, clasificados en función del origen de la luz que permite visualizar color. Según el tipo de estímulo, $\phi_{\lambda}(\lambda)$ tiene un significado físico diferente. En general, el estándar considera dos tipos de estímulos colorimétricos:

- **Objetos iluminantes.** El objeto es una fuente de luz por sí sola; por ejemplo, lo son el sol, una lámpara, un monitor...
- **Objetos iluminados.** La luz que observamos de ese objeto es fruto de la reflexión de luz que incide sobre el objeto y retorna indirectamente al observador.

Objetos iluminantes. Al trabajar con un objeto que emite luz, las magnitudes más importantes a tener en cuenta son su *función de eficiencia espectral* $V(\lambda)$, su *radiancia espectral* $\phi_{e,\lambda}$ y su *valor máximo de eficacia lumínica* $K_m = 683 \text{ lm/W}$; con estas

magnitudes es posible calcular la expresión del estímulo fotométrico a partir del estímulo radiométrico mediante la expresión

$$\phi_v = K_m \int_0^\infty \phi_{e,\lambda} \cdot V(\lambda) d\lambda.$$

Si se iguala $K_m = k$, obtenemos Y en unidades fotométricas.

Objetos reflectantes iluminados. En colorimetría, los objetos reflectantes se llaman fuentes de luz secundarias. Si la luz original – de densidad espectral de potencia $S(\lambda)$ – incide sobre un material reflectante, la fracción de luz que se refleja termina incidiendo en parte sobre el observador. Es la parte reflejada la que hay que introducir en las expresiones colorimétricas; ésta se suele expresar en función del factor de reflectancia espectral $R(\lambda)$. De este modo, el estímulo de color relativo $\phi(\lambda)$ se expresa a partir de

$$\phi(\lambda) = R(\lambda) \cdot S(\lambda), \quad (2.18)$$

donde $R(\lambda)$ es el factor de reflectancia espectral del objeto iluminado, y $S(\lambda)$ es la densidad espectral de potencia del *iluminante*. Por lo general, la constante k se elige de forma que $Y = 100$ para los materiales ideales de reflectancia plana ($R(\lambda) = 1, \forall \lambda$). Entonces, k es la constante de normalización

$$k = \frac{100}{\sum_\lambda S(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda) \Delta_\lambda}. \quad (2.19)$$

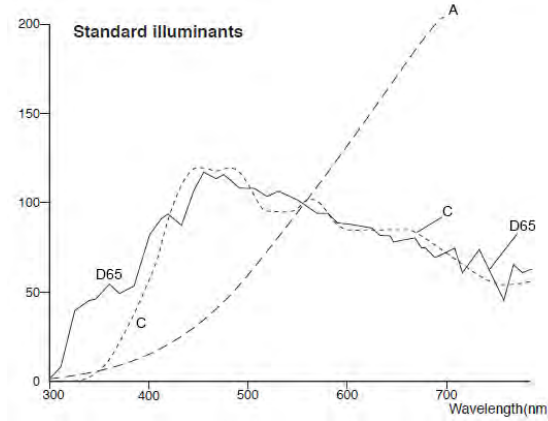


Figura 2.5: Densidad Espectral de Potencia relativa de los iluminantes más utilizados [Konica Minolta Ltd.]

A la hora de llevar a cabo un procedimiento colorimétrico, la fuente de luz primaria que se dispone sobre la muestra analizada se conoce como *iluminante*. De disponer datos espectrales para todo el rango visible, por lo general, se intenta utilizar el iluminante con temperaturas equivalentes a las de la fuente. Sin embargo, ya que los datos sólo

abarcan una fracción del visible y el infrarrojo, se utiliza un iluminante que proporcione la representación más clara de los tejidos tras la conversión – en este caso, se utiliza el iluminante estándar D65, que modela el color de la luz diurna (Figura 2.5).

2.3.2. Transformación XYZ a sRGB

Aunque la colorimetría ilustra vivamente la respuesta de los tres diferentes tipos de conos que encontramos en la fovea, al final los colores se exponen en ordenadores y pantallas que sólo entienden RGB. Necesitamos una forma de convertir los valores triestímulo XYZ en valores que un computador pueda entender.

Como la relación entre XYZ y RGB es lineal, para un píxel con los valores triestímulo $v_{XYZ} = (v_X, v_Y, v_Z)^T$, la conversión se lleva a cabo mediante el producto

$$v_{RGB} = M^{-1} v_{XYZ} = \begin{pmatrix} v_R \\ v_G \\ v_B \end{pmatrix}.$$

Aunque la relación es lineal, la matriz de conversión depende del iluminante. Para el iluminante D65 indicado anteriormente, la matriz de la transformación es la siguiente:

$$M^{-1} = \begin{pmatrix} 3,2404542 & -1,5371385 & -0,4985314 \\ -0,9692660 & 1,8760108 & 0,0415560 \\ 0,0556434 & -0,2040259 & 1,0572252 \end{pmatrix} \quad (2.20)$$

Esta conversión se denomina *conversión de XYZ a RGB lineal*. Sobre estos valores se lleva a cabo una operación no lineal, en función del estándar a utilizar. Como sRGB es uno de los estándares más comunes, obtenemos el triestímulo sRGB $v_{sRGB} = (v_{sR}, v_{sG}, v_{sB})^T$

$$v_{sk} = \begin{cases} 12,92v_{sk} & v_{sk} \leq 0,0031308 \\ 1,055v_{sk}^{\frac{1}{2,4}} - 0,055 & v_{sk} > 0,0031308 \end{cases}, \quad (2.21)$$

para $k = R, G, B$ de cada píxel.

Con estos dos primeros temas, queda definido lo que ocurre durante un proceso de cirugía con conservación del pecho, y presentado el dispositivo cuyas medidas utilizamos para hacer cálculos. También, se han revisado los procedimientos típicos para disponer magnitudes espectrales directamente sobre una pantalla en color verdadero. Ahora bien, ¿qué podemos hacer con los valores de reflectancia?

Capítulo 3

Realce y reconstrucción multispectral

"El color es un poder que influye directamente en el alma."

— Wassily Kandinsky

Las técnicas de realce y reconstrucción multispectral se centran en tomar características de las medidas obtenidas y utilizarlas para generar imágenes cuyas propiedades visuales guardan alguna relación con las características que nos interesan.

3.1. Álgebra Lineal e Imagen Multispectral.

En todo procedimiento de Imagen Multispectral, cierta magnitud óptica (por ejemplo, reflectancia, dispersión, transmitancia, fluorescencia) es medida en diferentes puntos en el espacio y para diferentes longitudes de onda. En esas situaciones, la resolución viene limitada por el sistema utilizado para hacer las medidas.

En todo caso, se llama *imagen multispectral* a un tensor $\mathcal{M} \in \mathbb{R}^{p \times q \times n}$. Sus primeras dos dimensiones especifican posición (coordenadas x e y en una región bidimensional), mientras que la tercera dimensión indica la longitud de onda a la que se ha hecho la medida. Por tanto, el elemento $m_{ijk} \in \mathcal{M}$ representa dicha magnitud medida en la posición (i, j) de un material, en la longitud de onda k -ésima.

Con esta idea en mente, todo vector n -dimensional recibirá el nombre de *píxel multispectral*

$$\mathbf{m}_{ij} \triangleq \begin{pmatrix} m_{ij1} \\ \vdots \\ m_{ijn} \end{pmatrix},$$

y éste representa la magnitud medida para ese píxel en todas las longitudes de onda. Sean $\Delta x, \Delta y$ la resolución espacial del sistema de medida, y $\Delta \lambda$ la resolución en longitud de onda. Entonces, se puede escribir

$$m_{ijk} = R(x_0 + i\Delta x, y_0 + j\Delta y, \lambda_0 + k\Delta\lambda),$$

donde $R(x, y, \lambda)$ es una función real que modela la magnitud óptica a medir. En nuestro caso, se representa mediante la letra R ya que la magnitud que mide nuestro dispositivo es la reflectancia retroesparcida por el espécimen.

Nuestro interés es utilizar principios y conceptos de Álgebra Lineal para extraer características espectrales de interés en la imagen multiespectral. Ya que sólo es de interés el espectro de cada píxel, cada píxel multiespectral se tiene en cuenta como un vector, y no tendremos en cuenta su posición ni las características de los píxeles que hay a su alrededor.

Puede que no toda la imagen sea de interés; en el caso de analizar tumores, no son interesantes las características espectrales del fondo de la foto del espécimen. Con esto en mente, los píxeles – vectores columna n -dimensionales – del tensor \mathcal{M} que posean información de interés deberán ser indexados. Tras este indexado, deberán ser dispuestos por columnas en una matriz, procesados como nos interese y retornados a su posición original en una nueva imagen multiespectral a partir de los índices anteriormente guardados. Este procedimiento se suele denominar *matrización*. La matrización del tensor \mathcal{M} en su tercer modo (en longitud de onda) se expresa de la siguiente forma:

$$A = \mathcal{M}_{(3)} = \left(\begin{array}{c|c|c|c|c|c|c|c} | & | & & | & | & | & & | \\ \mathbf{m}_{11} & \mathbf{m}_{12} & \dots & \mathbf{m}_{1q} & \mathbf{m}_{21} & \mathbf{m}_{22} & \dots & \mathbf{m}_{pq} \\ | & | & & | & | & | & & | \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c|c|c} | & & | \\ \mathbf{a}_1 & \dots & \mathbf{a}_m \\ | & & | \end{array} \right),$$

donde $m = pq$. Hay que considerar también el tensor de índices/posiciones de cada píxel en la matriz, que se llamará $\mathcal{E} \in \mathbb{R}^{p \times q \times 2}$:

$$\mathcal{E} = \left(\begin{array}{c|c|c} (1,1) & \dots & (1,q) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ (p,1) & \dots & (p,q) \end{array} \right),$$

convertido en una matriz de índices $E = \mathcal{E}_{(3)}$

$$E = \mathcal{E}_{(3)} = \left(\begin{array}{c|c|c|c|c|c|c|c} 1 & 1 & \dots & 1 & 2 & 2 & \dots & p \\ 1 & 2 & \dots & q & 1 & 2 & \dots & q \end{array} \right) = \left(\begin{array}{c|c|c} | & & | \\ \mathbf{e}_1 & \dots & \mathbf{e}_m \\ | & & | \end{array} \right)$$

Sea la *matriz de píxeles relevantes* $G \in \mathbb{R}^{n \times m}$ una matriz formada por las columnas de A distintas de $\mathbf{0}$

$$G = \left(\begin{array}{c|c|c} | & & | \\ \mathbf{g}_1 & \dots & \mathbf{g}_t \\ | & & | \end{array} \right), \quad \{\mathbf{g}_i\} = \{\mathbf{a}_i \neq \mathbf{0}\}, \quad t = \#\{\mathbf{a}_i \neq \mathbf{0}\}.$$

con $t \leq m$, y sea H la *matriz de posición de píxeles* la que indica la posición de las columnas de G en el tensor \mathcal{M}

$$H = \begin{pmatrix} | & & | \\ \mathbf{h}_1 & \dots & \mathbf{h}_t \\ | & & | \end{pmatrix}, \quad \{\mathbf{h}_i\} = \{\mathbf{e}_i : \mathbf{a}_i \neq \mathbf{0}\}.$$

Los datos proporcionados por el fondo no deberán ser tenidos en cuenta, puesto que no son necesarios en ningún procedimiento de extracción de características espectrales, ni tampoco durante la reconstrucción de imagen (puesto que el fondo es negro). Los vectores nulos son omitidos en nuestro análisis simplemente porque $R(x, y, \lambda) = 0$ para todo (x, y) fuera de la región de análisis (esto es, fuera del contorno del espécimen).

Una vez tenemos los píxeles que nos interesan preparados en la matriz G , debemos llevar a cabo las operaciones que nos interesen. Tras modificar G de una u otra forma, obtendremos una versión *realzada* o *modificada*, a la que llamaremos G_e .

Finalmente, deberá existir un algoritmo capaz de reconstruir \mathcal{M} a partir de la matriz de píxeles modificados G_e y de sus posiciones en el tensor original (matriz H). En nuestro caso, generamos un tensor \mathcal{M}_e tal que $m_{e,ijk} = 0$, $\forall i, j, k$, y luego lo vamos rellenando con vectores columna de G_e en la posición que ocupaban en el tensor original \mathcal{M} (con los índices definidos según H).

3.2. Extracción de características mediante métodos de reducción de dimensionalidad.

Trabajar con tensores y *píxeles multiespectrales* con gran cantidad de dimensiones resulta problemático, según el tipo de operaciones que se vayan a llevar a cabo sobre los píxeles. Para evitar la *maldición de la dimensionalidad*, se presentan aquí técnicas que permiten expresar estos enormes vectores a partir de unas pocas coordenadas.

3.2.1. La Descomposición en Valores Singulares (SVD).

El Teorema Fundamental del Álgebra Lineal, en su última parte, trata de la creación de bases ortonormales para los cuatro subespacios fundamentales de toda matriz A de rango r y dimensiones $M \times N$ (los subespacios de columnas y los subespacios nulos de A y A^T). Del mismo nace el siguiente teorema:

TEOREMA 1 (DESCOMPOSICIÓN EN VALORES SINGULARES). *Sea $A \in \mathbb{R}^{m \times n}$ una matriz arbitraria tal que $m \geq n$. Entonces, podemos escribir*

$$A = U\Sigma V^T, \tag{3.1}$$

donde U es una matriz $M \times N$ que satisface $U^T U = I$, V es $m \times n$ y también satisface $V^T V = I$, y $\Sigma = \text{diag}(\sigma_1, \dots, \sigma_N)$, donde $\sigma_1 \geq \dots \geq \sigma_n \geq 0$. Las columnas $\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_n$

de U reciben el nombre de vectores singulares por la izquierda. Las columnas $\mathbf{v}_1, \dots, \mathbf{v}_n$ de V se llaman vectores singulares por la derecha. Los σ_i se denominan valores singulares. Si $m < n$, la SVD se define considerando A^T .

Toda matriz A de dimensiones $m \times n$ es una aplicación de un vector $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n$ al espacio de columnas de A , esto es, los vectores de la forma $\mathbf{y} = A\mathbf{x} \in \mathbb{R}^m$. La SVD encuentra las bases ortonormales que definen los espacios \mathbb{R}^n y \mathbb{R}^m de forma que A sea diagonal para dichas bases, es decir, que sea una aplicación que tome un vector $\mathbf{x} = \sum_{i=1}^n \beta_i \mathbf{v}_i$ y lo lleve al espacio de columnas mediante $\mathbf{y} = A\mathbf{x} = \sum_{i=1}^n \sigma_i \beta_i \mathbf{u}_i$ [20, 21]. Del mismo modo que el cálculo de autovalores lleva a la diagonalización $AS = S\Lambda$, las ecuaciones $A\mathbf{v}_i = \sigma_i \mathbf{u}_i$ llevan a la expresión $AV = U\Sigma$:

$$A \begin{pmatrix} | & & | & & | \\ v_1 & \dots & v_r & \dots & v_n \\ | & & | & & | \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} | & & | & & | \\ u_1 & \dots & u_r & \dots & u_m \\ | & & | & & | \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sigma_1 & & & & \\ & \ddots & & & \\ & & \sigma_r & & \\ & & & \ddots & \\ & & & & \sigma_n \end{pmatrix},$$

y ya que V es una matriz ortogonal, podemos multiplicar ambos lados de la igualdad por su transpuesta, obteniendo la expresión de la Ecuación 3.1. La SVD tiene una serie de propiedades de interés. Se pueden demostrar las siguientes [20]:

TEOREMA 2. Sea $A = U\Sigma V^T$ la SVD de una matriz A $M \times N$, donde $M > N$. Entonces, se cumplen las siguientes propiedades:

1. Supongamos que A es simétrica, con autovalores σ_i y autovectores ortonormales \mathbf{u}_i . En otras palabras, $A = U\Lambda U^T$ es una descomposición en autovalores de A , con $\Lambda = \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_n)$, $U = (\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_n)$ y $UU^T = I$. Entonces, la SVD de A es $A = U\Sigma V^T$, donde $\sigma_i = |\lambda_i|$ y $\mathbf{v}_i = \text{sign}(\lambda_i)\mathbf{u}_i$, donde $\text{sign}(0) = 1$.
2. Los autovalores de la matriz simétrica $A^T A$ son σ_i^2 . Los vectores singulares por la derecha \mathbf{v}_i son los autovectores ortonormales que le corresponden.
3. Los autovalores de la matriz simétrica AA^T son σ_i^2 y $m - n$ zeros. Los vectores singulares por la izquierda \mathbf{u}_i son sus autovectores ortonormales para los autovalores σ_i^2 . Podremos elegir otros $m - n$ vectores ortonormales para el autovalor 0.
4. Sea $H = \begin{bmatrix} 0 & A^T \\ A & 0 \end{bmatrix}$, donde A es cuadrada y $A = U\Sigma V^T$ es la SVD de A . Sea $\Sigma = \text{diag}(\sigma_1, \dots, \sigma_N)$, $U = (\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_N)$ y $V = (\mathbf{v}_1, \dots, \mathbf{v}_N)$. Entonces, los $2n$ autovalores de H son $\pm\sigma_i$, con correspondientes autovectores unitarios $\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} \mathbf{v}_i \pm \mathbf{u}_i \end{bmatrix}$.
5. Si A es de rango completo, la solución de $\min(\|A\mathbf{x} - \mathbf{b}\|_2)$ es $\mathbf{x} = V\Sigma^{-1}U^T\mathbf{b}$.
6. $\|A\|_2 = \sigma_1$. Si A es cuadrada y no singular, entonces $\|A^{-1}\|_2^{-1} = \sigma_N$ y $\|A\|_2 \cdot \|A^{-1}\|_2 = \frac{\sigma_1}{\sigma_N}$.

7. Supongamos que los valores singulares cumplen $\sigma_1 \geq \dots \geq \sigma_r > \sigma_{r+1} = \dots = \sigma_n = 0$. Entonces, el rango de A es r . El espacio nulo de A , $N(A)$ (el subespacio de los vectores v que cumplen que $Av = 0$), es el espacio generado por las $r+1, r+2, \dots, n$ columnas de V : $N(A) = \text{span}(\mathbf{v}_{r+1}, \dots, \mathbf{v}_n)$. El espacio de columnas de A , $C(A)$ (el subespacio de vectores de la forma Ax para todo x , es el espacio generado por las r primeras columnas de U : $C(A) = \text{span}(\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_r)$.
8. Sea S^{n-1} la esfera de radio unidad en \mathbb{R}^n : $S^{n-1} = \{\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n : \|\mathbf{x}\|_2 = 1\}$. Sea $A \cdot S^{n-1}$ la aplicación de A sobre la esfera S^{n-1} : $A \cdot S^{n-1} = \{A\mathbf{x} : \mathbf{x} \in \mathbb{R}^n, \|\mathbf{x}\|_2 = 1\}$. Entonces, $A \cdot S^{n-1}$ es un elipsoide centrado en el origen de \mathbb{R}^m , con ejes principales $\sigma_i \mathbf{u}_i$.
9. Podemos reescribir, dados $U = (\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_N)$ y $V = (\mathbf{v}_1, \dots, \mathbf{v}_N)$, la descomposición en valores singulares como

$$A = U \Sigma V^T = \sum_{i=1}^n \sigma_i \mathbf{u}_i \mathbf{v}_i^T,$$

es decir, como suma de matrices de rango uno. Entonces, una matriz de rango $k < n$ cercana a A – midiendo con la norma $\|\cdot\|_2$ es $A_k = \sum_{i=1}^k \sigma_i \mathbf{u}_i \mathbf{v}_i^T$, y $\|A - A_k\|_2 = \sigma_{k+1}$. También podemos escribir $A_k = U \Sigma_k V^T$, con $\Sigma_k = \text{diag}(\sigma_1, \dots, \sigma_k, 0, \dots, 0)$.

La novena y última propiedad es la más interesante: si los primeros l valores singulares son mucho mayores que los demás, la matriz A puede aproximarse únicamente con los primeros l vectores singulares y sus valores singulares asociados. Efectivamente, se puede escribir la SVD de A como suma de matrices de rango uno:

$$A = E_1 + E_2 + \dots + E_r,$$

donde $r = \text{rank}(A)$, y

$$E_i = \sigma_i \mathbf{u}_i \mathbf{v}_i^T, \quad E_j E_k = 0, \quad \forall i \neq j.$$

La diagonal de Σ contiene los valores singulares y está ordenada en orden decreciente. La norma de cada matriz de rango uno es su valor singular correspondiente, por lo que cada E_i hará una contribución más importante a la hora de formar A si su valor singular es mayor. Si truncamos la suma a los primeros $L < r$ términos, obtenemos

$$\tilde{A}_L = E_1 + E_2 + \dots + E_L,$$

conocida como la aproximación de rango L (*closest rank L approximation*) de la matriz A . El error de aproximación viene definido por la norma de Frobenius de la diferencia

$$\|A - \tilde{A}_L\|_2 = \sigma_{L+1}.$$

Por tanto, la precisión de esta aproximación mejora a medida que L aumenta [19, 20].

Es posible establecer dos principios prácticos:

1. Si los primeros L valores singulares son mucho mayores que los demás, podemos asumir que las características más relevantes de los datos vendrán definidas por los primeros L vectores singulares.
2. Los vectores singulares y valores singulares que siguen a los L primeros representan *lo que falta* para que la aproximación \tilde{A}_L se convierta en A . Éstos contiene la información *residual*, información más detallada de cada vector fila / columna de A .

Puede que sean interesantes los vectores singulares más altos, o los que siguen a los más altos. En el primer caso, es de interés la información que más generalmente define a todas las filas de A . En el segundo, se busca la información que más particularmente define a cada fila de A .

3.2.2. Análisis de Componentes Principales (PCA).

En estadística, existe un procedimiento por el cual la dimensionalidad de un conjunto de datos con muchas componentes es reducida, tratando de retener en la medida de lo posible las variaciones de cada dato en todas sus dimensiones. Este procedimiento se conoce como Análisis de Componentes Principales (en inglés, *Principal Component Analysis (PCA)*). El objetivo de este apartado es definir qué es PCA, y demostrar que se trata de una interpretación estadística de la SVD; antes de nada, sin embargo, conviene definir algunas cosas.

Correlación de vectores aleatorios. Antes de empezar, es necesario definir qué es correlación en estadística, y su significado desde el punto de vista del Álgebra Lineal. Entendemos por *vector aleatorio* un vector cuyas componentes son variables aleatorias. Es equivalente escribir un vector aleatorio de las siguientes formas:

$$\begin{aligned} \textbf{Vector aleatorio:} \quad & x[i] = X_i, \quad i = 1 : n \\ & \mathbf{x} = (X_1, \dots, X_n)^T \end{aligned}$$

Y cada variable aleatoria X_i tiene su espacio de probabilidad $(\Omega_i, \mathcal{F}_i, P_i)$ y un espacio medible (E, \mathcal{E}) . Dado un vector aleatorio \mathbf{x} , su **matriz de covarianza** se define como

$$C = E[(\mathbf{x} - E[\mathbf{x}])(\mathbf{x} - E[\mathbf{x}])], \quad (3.2)$$

teniendo en cuenta que $E[\cdot]$ es el operador esperanza matemática. Los elementos $c_{ij} \in C$ vienen definidos de la siguiente forma:

$$\{c_{ij}\} = E[(X_i - \mu_i)(X_j - \mu_j)], \quad (3.3)$$

donde $\mu_i = E[X_i]$. Dicho de otro modo, los elementos c_{ii} en la diagonal principal describen la varianza de la variable aleatoria i -ésima X_i , mientras que los elementos c_{ij} definen la

covarianza entre la variable aleatoria X_i y la variable aleatoria X_j . Cuando esta matriz de covarianza es desconocida, se suele calcular, a partir de los datos de partida, la *matriz de covarianza estimada*

$$S = \frac{1}{t-1} X^T X, \quad (3.4)$$

y aquí $X \in \mathbb{R}^{t \times n}$ es la matriz de variaciones de cada realización de \mathbf{x} respecto de la media,

$$X = \begin{pmatrix} (\mathbf{x}_1 - \mathbf{x}_{avg})^T \\ (\mathbf{x}_2 - \mathbf{x}_{avg})^T \\ \vdots \\ (\mathbf{x}_t - \mathbf{x}_{avg})^T \end{pmatrix}, \quad (3.5)$$

donde $\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_t \in \mathbb{R}^n$ son las t realizaciones del vector aleatorio \mathbf{x} , y

$$\mathbf{x}_{avg} = \frac{1}{t} \sum_{k=1}^t \mathbf{x}_k.$$

El objetivo de PCA es tratar de explicar las n variables aleatorias del vector \mathbf{x} a partir de un vector de coordenadas de la forma $\mathbf{z} = (z_1, \dots, z_L)^T$, tal que su dimensión sea significativamente menor ($L \ll n$). La única forma imaginable de lograr esto es proyectando las realizaciones del vector \mathbf{x} sobre una base ortonormal de cardinalidad menor que n que cumpla unas características específicas; las **componentes principales** serán las coordenadas de las realizaciones en esta base ortonormal:

$$\textbf{Componentes Principales:} \quad z_k = \alpha_k^T \mathbf{x}, \quad k = 1, \dots, L; \quad L < n. \quad (3.6)$$

Los elementos α_k que conforman la base ortonormal de menor dimensión se conocen como **loadings**, y la proyección \mathbf{z} de cada realización sobre la base de los α_k suele definirse como el **vector de scores**; estas definiciones, sin embargo, sólo oscurecen la interpretación del problema. El primer *loading* α_1 es el primer vector de la base ortonormal, y trata de optimizar la varianza de la proyección de los datos \mathbf{x} sobre α_1 :

$$\begin{aligned} & \text{maximize} \quad \text{Var}[\alpha_1^T \mathbf{x}] = \alpha_1^T C \alpha_1 \\ \textbf{Primer "loading":} \quad & \text{subject to} \quad \|\alpha_1\| = 1, \end{aligned} \quad (3.7)$$

mientras que los demás satisfacen la propiedad similar

$$\begin{aligned} & \text{maximize} \quad \alpha_k^T C \alpha_k \\ \textbf{Resto de "loadings":} \quad & \text{subject to} \quad \|\alpha_k\| = 1 \\ & \quad \alpha_k \perp \alpha_i, \\ & \quad \forall i = 1, \dots, k-1. \end{aligned} \quad (3.8)$$

Se puede demostrar [22] que los vectores que satisfacen estas condiciones (maximizar la varianza de las realizaciones respecto de cada vector de la base ortonormal) **son los autovectores de la matriz de covarianza** C . Merece la pena encontrar el primero, aunque sólo sea como ejercicio ilustrativo: para maximizar $\alpha_1^T C \alpha_1$ sujeto a la condición de norma unitaria $\alpha_1^T \alpha_1 = 1$, se toma un multiplicador lagrangiano, obteniendo

$$\text{maximize} \quad \alpha_1^T C \alpha_1 - \lambda (\alpha_1^T \alpha_1 - 1), \quad (3.9)$$

donde λ es el multiplicador de Lagrange. Si se obtiene la derivada respecto de α_1 , obtenemos

$$C \alpha_1 - \lambda \alpha_1 = \mathbf{0},$$

o, lo que es lo mismo,

$$(C - \lambda I) \alpha_1 = \mathbf{0}. \quad (3.10)$$

Es decir, λ es un autovalor de C y α_1 es su correspondiente autovector. Es más, es el autovector de autovalor más grande, puesto que buscamos maximizar el valor de λ . Para el caso general, podemos decir que la **componente principal** $z_k = \alpha_k^T \mathbf{x}$ tiene asociado un **loading** tal que $\alpha_k^T C \alpha_k = \lambda_k$ es el k -ésimo autovalor más grande de C , y α_k es su autovector asociado.

Cuando la matriz de covarianza C sea desconocida, se utilizará la estimación de la matriz de covarianza (denotada por S) a partir de los datos conocidos. **Aquí es donde la SVD toma protagonismo:** En X encontramos, en la fila k -ésima, la realización k -ésima transpuesta menos la realización media transpuesta: $(\mathbf{x}_k - \mathbf{x}_{avg})^T$. Teniendo en cuenta las Propiedades 2 y 3 de la SVD, y suponiendo que llevamos a cabo la descomposición en valores singulares de $X \in \mathbb{R}^{t \times n}$, se puede escribir

$$X = U \Sigma V^T,$$

la SVD de X . Atendiendo a la Propiedad 2, es posible establecer las siguientes igualdades, suponiendo que $\text{rank}(X) = r$:

1. Los autovalores de la matriz simétrica $X^T X$ son los elementos de la diagonal de Σ elevados al cuadrado, esto es, $\sigma_1^2, \dots, \sigma_r^2$. Sin olvidar la constante de multiplicación de la aproximación de la varianza, resulta que los autovalores de la matriz de covarianza son la varianza de las proyecciones $\alpha_k^T \mathbf{x}$:

$$\lambda_k = \frac{\sigma_k^2}{t-1}.$$

2. La matriz de vectores singulares por la derecha V contiene en sus columnas los autovectores de la matriz de covarianza S ordenados en orden decreciente de valor singular. Hay que recordar que, al multiplicar una matriz por una constante como $1/(t-1)$, sus autovectores no varían (sí sus autovalores).

3. Finalmente, el producto

$$Z = U\Sigma$$

contiene, en cada fila, los *scores* o coordenadas de cada realización en la base de los *loadings*.

En definitiva, PCA no es sino la SVD interpretada desde la perspectiva de los autovalores y autovectores de la matriz de covarianza de un vector aleatorio, estimada a partir de realizaciones centradas del mismo. Ambos métodos tienen como aplicación fundamental representar datos de gran dimensionalidad con sus coordenadas en una base formada por menos vectores que la base original, tratando de conservar la información contenida en los datos.

Para expresar la calidad de la aproximación, en lugar de utilizar el error de aproximación, se utiliza lo que en estadística se conoce como **varianza explicada**. Ésta no es sino la razón entre el cuadrado de la norma de Frobenius de la matriz aproximada con L vectores singulares \tilde{X}_L y el cuadrado de la norma de Frobenius de la matriz original X :

$$\sigma_{accum} \triangleq \frac{\|\tilde{X}_L\|_F^2}{\|X\|_F^2} = \frac{\sum_{i=1}^L \sigma_i^2}{\sum_{i=1}^r \sigma_i^2}. \quad (3.11)$$

Ciertamente, la norma de Frobenius de la matriz X expresa el "contenido" de la misma, y cuanto más se parezca la aproximación \tilde{X}_L a la matriz original, la relación entre sus respectivas normas de Frobenius será igual a 1. Como regla de oro práctica, se ha decidido que la primera constante natural L que garantice una relación $\sigma_{accum} \geq 0,95$ es suficiente para llevar a cabo las aproximaciones.

Otro método muy frecuente es utilizar la fracción de norma de Frobenius al cuadrado con la que contribuye el vector singular k -ésimo:

$$\sigma_{contrib}(k) = \frac{\sum_{i=1}^k \sigma_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sigma_i^2}{\sum_{i=1}^{k-1} \sigma_i^2} \quad (3.12)$$

y elegir un L tal que $\sigma_{contrib}(L) < 0,01$ [10], por ejemplo (contribución respecto del total menor al uno por ciento).

3.2.3. Reducción de dimensionalidad en los datos.

En esta pequeña sección se expresan los conceptos recién explicados en la notación inicial. Al principio, la matriz de píxeles era G , y cada columna de G era un píxel multiespectral. Ahora, considere la siguiente operación sobre G :

$$X = \begin{pmatrix} (\mathbf{g}_1 - \mathbf{g}_{avg})^T \\ (\mathbf{g}_2 - \mathbf{g}_{avg})^T \\ \vdots \\ (\mathbf{g}_t - \mathbf{g}_{avg})^T \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} - & \mathbf{x}_1 & - \\ - & \mathbf{x}_2 & - \\ & \vdots & \\ - & \mathbf{x}_t & - \end{pmatrix} = G^T - G_{avg}^T, \quad (3.13)$$

donde $\mathbf{g}_k \in \mathbb{R}^N$, \mathbf{x}_i es el i -ésimo vector fila de X , y G_{avg}^T tiene en todas sus filas el vector espectro medio \mathbf{g}_{avg} . Con este procedimiento, a cada espectro se le ha restado el espectro medio. El rango de $X \in \mathbb{R}^{t \times n}$ es r (y $r = n$ si X es de rango completo). Su descomposición es la siguiente:

$$G^T - G_{avg}^T = X = E_1 + E_2 + \dots + E_r =$$

$$= \sigma_1 \begin{pmatrix} u_{11}(v_{11}, \dots, v_{n1}) \\ u_{21}(v_{11}, \dots, v_{n1}) \\ \vdots \\ u_{t1}(v_{11}, \dots, v_{n1}) \end{pmatrix} + \sigma_2 \begin{pmatrix} u_{12}(v_{12}, \dots, v_{n2}) \\ u_{22}(v_{12}, \dots, v_{n2}) \\ \vdots \\ u_{t2}(v_{12}, \dots, v_{n2}) \end{pmatrix} + \dots + \sigma_r \begin{pmatrix} u_{1r}(v_{1r}, \dots, v_{nr}) \\ u_{2r}(v_{1r}, \dots, v_{nr}) \\ \vdots \\ u_{tr}(v_{1r}, \dots, v_{nr}) \end{pmatrix}.$$

Esta descomposición se traduce a que cada fila de G^T (cada píxel) puede expresarse como la combinación lineal

$$\mathbf{g}_k - \mathbf{g}_{avg} = \mathbf{x}_k^T = \sigma_1 u_{k1} \begin{pmatrix} v_{11} \\ \vdots \\ v_{n1} \end{pmatrix} + \sigma_2 u_{k2} \begin{pmatrix} v_{12} \\ \vdots \\ v_{n2} \end{pmatrix} + \dots + \sigma_r u_{kr} \begin{pmatrix} v_{1r} \\ \vdots \\ v_{nr} \end{pmatrix},$$

así que las columnas de V forman \mathcal{B} , una base ortonormal en $\mathbb{R}^r \subseteq \mathbb{R}^n$ (y $r = n$ si X es de rango completo), y las filas de la matriz $Z = U\Sigma$ son las coordenadas de cada píxel centrado (vector n -dimensional $\mathbf{g}_m - \mathbf{g}_{avg}$) en el subespacio generado por $\text{span}(\mathcal{B})$.

La descomposición puede truncarse, efectivamente, a los primeros L términos

$$\tilde{\mathbf{g}}_{k,s} - \mathbf{g}_{avg} = \sigma_1 u_{k1} \begin{pmatrix} v_{11} \\ \vdots \\ v_{n1} \end{pmatrix} + \sigma_2 u_{k2} \begin{pmatrix} v_{12} \\ \vdots \\ v_{n2} \end{pmatrix} + \dots + \sigma_L u_{kL} \begin{pmatrix} v_{1L} \\ \vdots \\ v_{nL} \end{pmatrix},$$

o bien se pueden omitir los L primeros términos y la media, con lo que se obtiene el *residuo* de cada píxel

$$\mathbf{x}_{k,res,L}^T = \begin{pmatrix} x_{k1,res,L} \\ \vdots \\ x_{kn,res,L} \end{pmatrix} = \sigma_{L+1} u_{k,L+1} \begin{pmatrix} v_{1,L+1} \\ \vdots \\ v_{n,L+1} \end{pmatrix} + \dots + \sigma_r u_{k,r} \begin{pmatrix} v_{1,r} \\ \vdots \\ v_{n,r} \end{pmatrix}.$$

De esta forma,

$$G = (\tilde{X}_L)^T + X_{res,L}^T + G_{avg} \quad (3.14)$$

y

$$\tilde{G}_L = (\tilde{X}_L)^T + G_{avg} \quad (3.15)$$

es la *L-rank approximation* de G ; $X_{res,L}$ tiene en sus filas lo que le falta a cada columna de \tilde{G}_L para ser las columnas de G .

Ahora que los conceptos recién explicados están en la notación inicial, se pueden describir los métodos de realce multiespectral implementados, así como sus características internas, ventajas e inconvenientes.

3.3. Técnicas de realce espectral basadas en PCA

Las técnicas que se explican a continuación llevan a cabo una transformación lineal sobre la *matriz residual* $G_{res,L}$, amplificando sus características, y sumándolas a la matriz original G . Los métodos de Mitsui y Hashimoto [24] que se van a analizar utilizan PCA para encontrar la aproximación de rango L de la matriz de píxeles

$$G = (\tilde{X}_L)^T + X_{res,L}^T + G_{avg}$$

y el *realce multiespectral* se lleva a cabo sobre la matriz mediante

$$G_e = W(G - \tilde{G}_L) + G = WX_{res,L}^T + G, \quad (3.16)$$

$$W = \begin{pmatrix} w_{11} & \dots & w_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ w_{n1} & \dots & w_{nn} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} | & & | \\ \mathbf{w}_1 & \dots & \mathbf{w}_n \\ | & & | \end{pmatrix}. \quad (3.17)$$

donde $W \in \mathbb{R}^{n \times n}$ suele denominarse la *matriz de transformación*. Después de llevarse a cabo la transformación, las columnas de G_e se resitúan sobre el tensor en las posiciones que le corresponden, y un procedimiento de colorimetría permitirá vislumbrar en RGB los cambios producidos sobre el espectro.

En definitiva, **los métodos de realce multiespectral de Mitsui y Hashimoto tratan de hacer visible en color RGB las variaciones de cada píxel que son diferentes de las variaciones más comunes**. Dichas variaciones comunes están definidas por los primeros vectores singulares por la derecha, $\mathbf{v}_1, \dots, \mathbf{v}_L$.

3.4. Método de Mitsui

Matriz de transformación. Mitsui define los elementos de W como

$$w_{ij} = \begin{cases} K \in \mathbb{R}, & i = j = a \\ 0, & otherwise \end{cases}, \quad (3.18)$$

donde $a \in \mathbb{N}$, $a \in [1, N]$ es el índice natural que selecciona la longitud de onda ($a \cdot \Delta_\lambda$) que queremos hacer destacable. $K > 0$ es una constante positiva, representando ganancia de la amplificación. Dicho de otra forma, $W = \text{diag}(0, \dots, 0, K, 0, \dots, 0)$, y el único elemento no nulo de la diagonal es el a -ésimo.

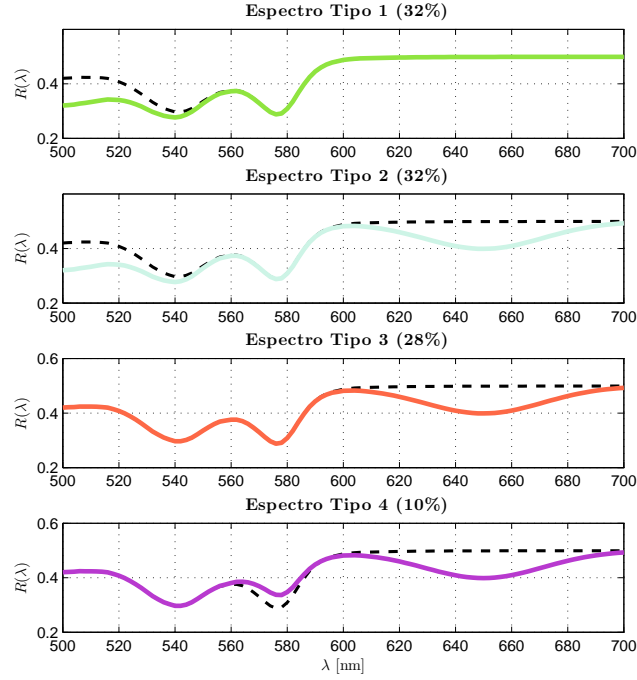


Figura 3.1: Los tres espectros a utilizar en el ejemplo, con sus correspondientes porcentajes. La línea punteada representa el espectro original sobre el que se han creado estas variaciones.

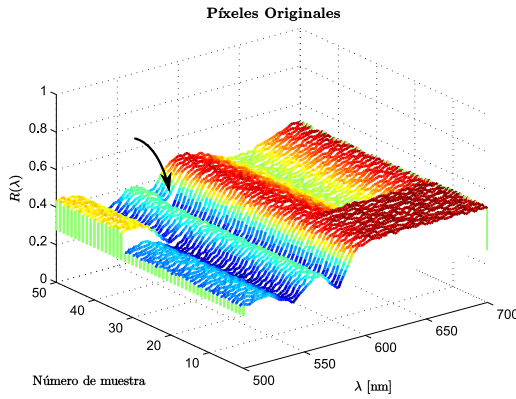


Figura 3.2: Datos de partida (con ruido incluido). Los vectores "Tipo 4" están indicados por la flecha.

Para hacer esta operación comprensible, conviene construir un ejemplo que, paso a paso, ilustre lo que Mitsui trata de llevar a cabo con esta multiplicación. El problema "de mentira" comienza en la Figura 3.1: considere que se lleva a cabo una "fotografía multiespectral" a un material de interés, y éste muestra cuatro tipos de espectros diferentes. En total, se toman 50 espectros/muestras de este material, y supondremos que es de interés conocer las variaciones "ocultas" del espectro en los 575 nanómetros.

No todos los espectros ocupan la misma superficie, así que se obtendrán más píxeles de algunos tipos de espectro que de los demás. Conviene destacar, sin embargo,

en que los espectros tipo 1 y 2 (64 % de los datos) poseen medidas de la magnitud $R(\lambda)$ menores que la media en las primeras longitudes de onda. Asimismo, los tipos 2, 3, y 4 (el 70 % de los datos) presentan una menor reflectancia respecto de la media en las longitudes de onda en el intervalo de los 640 – 680 nanómetros. Esta forma está hecha a propósito: sólo cinco píxeles (los de Tipo 4) poseen fluctuaciones respecto de la media "distintas" a todas las demás fluctuaciones.

El primer paso que PCA lleva a cabo es centrar los datos. Esto equivale a realizar la operación sobre los vectores fila \mathbf{x}_k de X , que llamaremos *píxeles centrados*:

$$\mathbf{x}_k^T = \mathbf{g}_k - \mathbf{g}_{avg},$$

resultado que se muestra en la Figura 3.3. Posteriormente, se procede a realizar la SVD de X , cuyas filas son los \mathbf{x}_k , para obtener sus vectores singulares por la derecha – esto es, las columnas de V en $X = U\Sigma V^T$. El resultado de esta operación es la Figura 3.4.

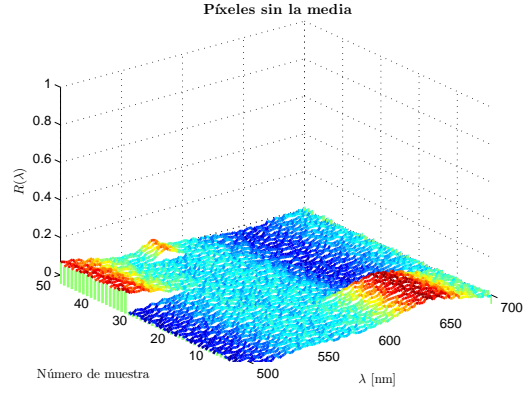


Figura 3.3: Resultado de restar el espectro medio a todos los píxeles.

Se puede contemplar que los vectores singulares por la derecha se ordenan **por orden decreciente de valor singular asociado**. En la Figura 3.4 los dos primeros vectores singulares definen las fluctuaciones más comunes de los datos respecto del espectro medio.

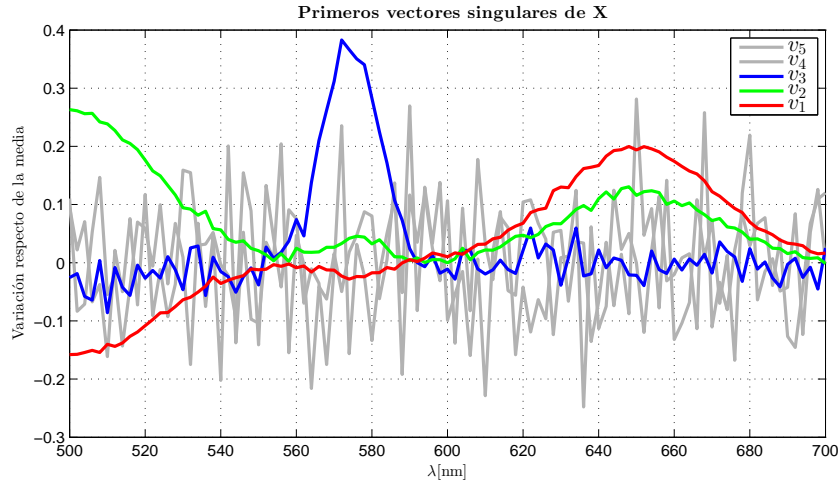


Figura 3.4: Los primeros cinco vectores singulares por la derecha. Los tres primeros definen el 95 % de la varianza.
 $\sigma_1 = 1,5644$, $\sigma_2 = 0,8644$, $\sigma_3 = 0,2390$, $\sigma_4 = 0,0931$.

Es posible relacionar los vectores obtenidos en la Figura 3.4 con la forma y frecuencia, i.e. número de veces que se repite cada una, de las variaciones de cada espectro respecto del espectro medio de la Figura 3.3. Las variaciones más comunes de los espectros son, como bien se puede intuir, aquéllas que se repiten más. En el ejemplo, las dos más comunes son las caídas respecto de la media en 500 y en 650 nanómetros. Por tanto, una aproximación de rango $L = 1$, o bien $L = 2$, utilizará una base de vectores singulares que expresen solamente esas variaciones más comunes. Esto se debe a que la ordenación de los vectores llevada a cabo por la SVD hace descender $\|X - \tilde{X}_L\|_F$ a medida que L incrementa.

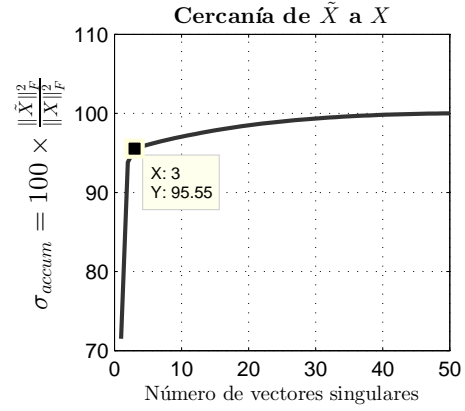


Figura 3.5: Razón entre normas de Frobenius (o, dicho de otro modo, varianza conservada en la aproximación) del ejemplo.

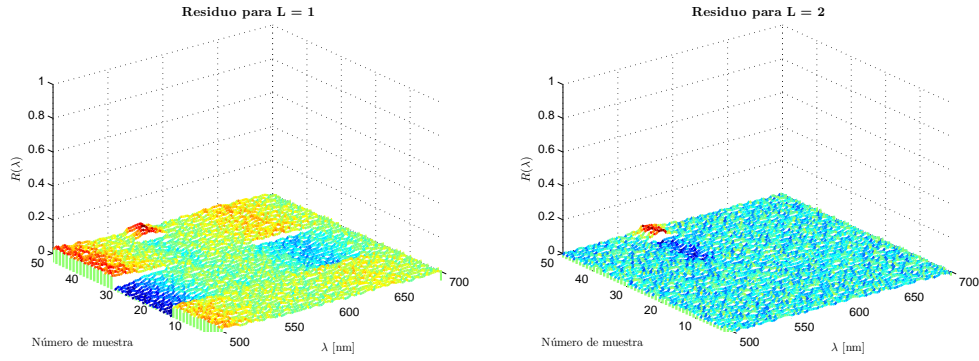


Figura 3.6: Aspecto del residuo a amplificar. **Izquierda:** Residuo al restar la aproximación con $L = 1$. **Derecha:** Lo mismo, pero al restar a X la aproximación con $L = 2$.

Sin embargo, al truncar la aproximación en dichos primeros valores de L , quedan sin explicar las variaciones menos comunes. Estas variaciones se suelen llamar *variaciones residuales* (o, simplemente, *residuo*), y son las variaciones que interesa amplificar. El problema a tener en cuenta aquí es la relación entre el valor de L para la aproximación y el residuo que queda, que es lo que determinará qué píxeles se amplifican.

Si se eligen valores de L muy pequeños, entonces cualquier variación diferente de aquéllas descritas por los primeros vectores singulares será realzada. Esas variaciones serán muy comunes, y pueden no mostrar el resultado deseado. En cambio, si se escogen valores de L muy grandes, tales que el rango de X es del orden de L , amplificaremos variaciones respecto de la media muy pequeñas, las cuales probablemente tendrán más relación con el

ruido térmico del equipamiento de medida, o con insignificantes perturbaciones numéricas (si se dan las condiciones adecuadas).

En la Figura 3.6 puede observar las variaciones de las filas de X que no se pueden explicar con un vector singular, y con dos vectores singulares. Todas las variaciones menos el ruido quedan explicadas con $s = 3$, así que una imagen del residuo para ese caso (y los siguientes) es sólo ruido. Queda más claro ahora lo que es el residuo: se trata de aquellas características de cada vector no explicadas con los vectores que explican la mayoría de las características de todos los vectores. La operación indicada por la Ecuación 3.16, para el caso de la matriz de Mitsui, se convierte (en cada píxel) en

$$W \mathbf{x}_{k,res,L}^T + \mathbf{g}_k = K \cdot \begin{pmatrix} 0 \\ \vdots \\ 0 \\ x_{ka,res,L} \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} g_{1k} \\ \vdots \\ g_{a-1,k} \\ g_{a,k} \\ g_{a+1,k} \\ \vdots \\ g_{nk} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} g_{1k} \\ \vdots \\ g_{a-1,k} \\ K \cdot x_{ka,res,L} + g_{a,k} \\ g_{a+1,k} \\ \vdots \\ g_{nk} \end{pmatrix}$$

esto es, **las variaciones residuales (positivas o negativas respecto a la media) de cada espectro en una o varias longitudes asociadas serán sumadas al espectro original**. El resultado, por ejemplo, eliminando las variaciones definidas por los dos primeros vectores singulares, y amplificando el residuo a 575 nanómetros, es el que está en la Figura 3.7).

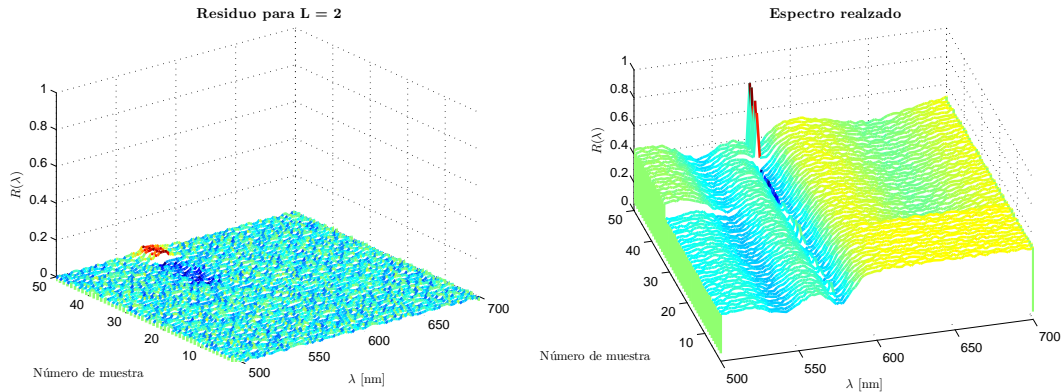


Figura 3.7: Operación final del método de Mitsui.

Izquierda: Residuo elegido para amplificar ($L = 2$) a 575 nm. Dicho residuo es positivo en algunos espectros, y negativo en otros. **Derecha:** Amplificación de dicho residuo con ganancia $K = 10$. Sólo los vectores "Tipo 4" son amplificados. Nótese que las variaciones residuales por debajo de la media se "contra-amplifican" (puesto que el residuo es negativo), restándose al espectro.

Resultado final de la amplificación. En la Figura 3.8 se presenta el resultado de traducir la amplificación de ejemplo al visible con las CMF explicadas en la sección anterior. Como se puede observar, los colores no varían significativamente ya que, durante la generación del color, el "pico" generado por la amplificación es demasiado estrecho como para contribuir significativamente a la integral de cambio de color.

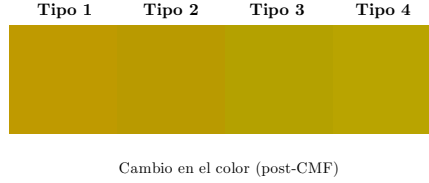


Figura 3.8: Resultado de aplicar las CMFs a los cuatro tipos de espectro, después de ser realzados. Dicho realce no funciona como se esperaba para casos con notable resolución espectral.

Si, en cambio, múltiples longitudes de onda son seleccionadas a la vez, obtenemos cambios más importantes en el color. Cabe decir que, incluso, dichos cambios pueden ser insuficientes. La selección de múltiples longitudes de onda (contiguas, o no) no es más complicado que amplificar una longitud de onda; sólo hace que la matriz se convierta en

$$W = \text{diag}(0, \dots, 0, K_q, \dots, K_{q+Q}, 0, \dots, 0),$$

con algún $q, Q > 1$. Por ejemplo, para un caso contiguo en el que se desea analizar un intervalo de longitudes de onda donde puede haber reflectancias espurias, el producto se lleva a cabo de forma idéntica; en la Figura 3.9 tenemos dicho ejemplo.

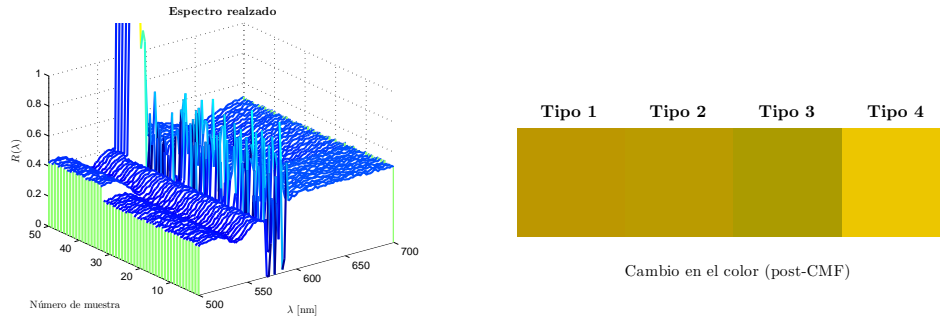


Figura 3.9: Aquí, se han amplificado todas las longitudes de onda de 570 a 590 nanómetros. Las diferencias son más visibles, pero quizá no suficientes si hay variaciones de intensidad en la imagen. Nótese que también el ruido es amplificado, en parte notable, debido a la ganancia de la amplificación ($K=50$ en todas las longitudes de onda).

3.5. Método de Hashimoto

Matriz de transformación. Hashimoto modifica la matriz W , quedando con la forma

$$W = \left(\begin{array}{c|ccc|c|ccc} & & & & & & & \\ \hline & & & & & & & \\ \hline \mathbf{0} & \dots & \mathbf{0} & K(\mathbf{g}_d - \mathbf{g}_{avg}) & \mathbf{0} & \dots & \mathbf{0} & \\ \hline & & & & & & & \end{array} \right). \quad (3.19)$$

W no es sino una matriz llena de ceros, salvo por la columna a -ésima. En este caso, \mathbf{g}_d **representa el color (o espectro) con el que se quiere llevar a cabo la amplificación**, y

$$\mathbf{g}_{avg} = \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \mathbf{g}_i$$

es el espectro (o color) medio de la imagen.

Repitamos a continuación el mismo ejemplo, pero esta vez sólo para interpretar la operación final. Mientras que Mitsui amplifica el residuo en la longitud de onda $a \cdot \Delta_\lambda$ (elemento a -ésimo de cada vector fila de X), el método de Hashimoto permite que dicha amplificación se realice en otro color, diferente al seleccionado para amplificar. Así, a todo píxel que tenga un residuo positivo se le añadirá un color con una intensidad proporcional a la ganancia, y a todo píxel que muestre un residuo negativo, se le restará ese mismo color.

La operación que se lleva a cabo es la siguiente. Dado un píxel \mathbf{g}_k , cuyo residuo es $\mathbf{x}_{k,res,L}^T$, generamos el píxel realzado $\mathbf{g}_{e,k}$ mediante

$$\mathbf{g}_{e,k} = W \mathbf{x}_{k,res,L}^T + \mathbf{g}_k = \mathbf{g}_k + K(\mathbf{g}_d - \mathbf{g}_{avg}) \cdot x_{ka,res,L},$$

y aquí $x_{ka,res,L}$ es el elemento a -ésimo del vector del residuo, $\mathbf{x}_{k,res,L}^T$. El único problema que hay que tener en cuenta aquí es la resta del elemento $K\mathbf{g}_{avg}$ al espectro original – si K toma un valor muy alto, se terminan obteniendo espectros negativos, ¡algo imposible!

Por lo general, cualquier valor de espectro inferior a cero será asignado como nulo, para no afectar a las integrales de las CMF. Hay que recordar que, una vez se ejecuta el realce, eliminamos las cualidades físicas de los espectros, y simplemente estamos pintando de un color. En el ejemplo, hemos tomado el mismo espectro, y hemos utilizado una gaussiana centrada en un color amarillo-verdoso (540 nanómetros) como color a amplificar

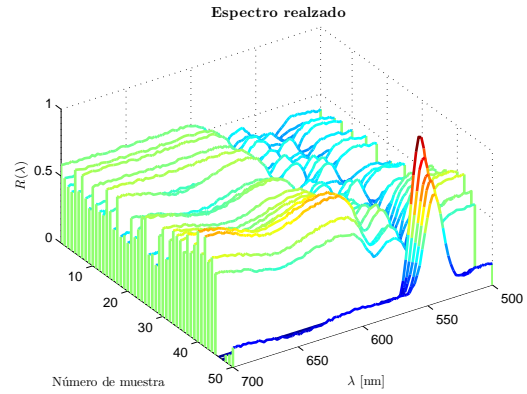


Figura 3.10: Realce espectral de Hashimoto para el mismo problema. Se realzan los 575 nanómetros con una gaussiana de $\sigma^2 = 50nm$ centrada en 545 nanómetros (colores amarillos y verdes) ($K=30$). Figura girada sobre el eje z 180 grados.

según la reflectancia de los espectros en 575 nanómetros. De nuevo, los espectros Tipo 4 son los más modificados, y adquieren una tonalidad verde.

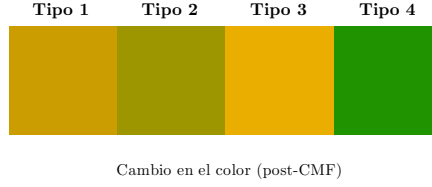


Figura 3.11: Cambio de color en los cuatro tipos al colorear según la Figura 3.10. ¡Las tonalidades verdes se aprecian ampliamente en los tejidos de Tipo 4!

Quedan tres cuestiones por indicar:

Cómo hacer el cálculo en una sola línea. Si interesa hacer el cálculo de estas operaciones de una sola vez, Hashimoto [24] da como solución una operación que es más que válida. Para ello, considere la Ecuación 3.16:

$$G_e = W(G - \tilde{G}_L) + G,$$

y considere la matriz

$$V_L = \left(\begin{array}{c|ccc|c} & & & & & \\ \mathbf{v}_1 & \dots & \mathbf{v}_L & \mathbf{0} & \dots & \mathbf{0} \\ & & & & & \end{array} \right), \quad (3.20)$$

que contiene los primeros L vectores singulares por la derecha de $X = (G - G_{avg})^T$ en sus primeras L columnas, y ceros en las demás. En dicho caso, podemos escribir

$$G_e = W(G - \tilde{G}_L) + G = W(G - V_L V_L^T (G - G_{avg}) + G_{avg}) + G,$$

y, reordenando, se obtiene una expresión en la que no hay que obtener el residuo:

$$G_e = (W(I - V_L V_L^T) + I)G - W(I - V_L V_L^T)G_{avg}, \quad (3.21)$$

siendo I la matriz identidad $n \times n$.

Cómo colorear fuera de la longitud de onda. También es posible sumar colores de espectro que excede las longitudes de onda de los datos de partida. Para no arruinar la SVD, primero hay que llevarla a cabo sin modificar los datos de partida, y luego reconstruir los vectores añadiendo ceros, como se expone a continuación:

1. Obtenga X y calcule su SVD, cuyos resultados son V , $X_{res,L}$ y L .

- Definiendo un vector de longitudes de onda que incluya c longitudes de onda más,

$$\boldsymbol{\lambda}_2 = (\lambda_{extra,1} \ \dots \ \lambda_{extra,c} \ \lambda_1 \ \dots \ \lambda_n)^T$$

con $\boldsymbol{\lambda} = (\lambda_1, \dots, \lambda_n)^T$ el vector de longitudes de onda original, y cumpliéndose que $\lambda_{extra,1} < \dots < \lambda_{extra,c} < \lambda_1 < \dots < \lambda_n$.

- Añadiendo c ceros a los vectores de cada píxel de G , V y $X_{res,L}$ de la siguiente forma:

$$\mathbf{v}_k = \begin{pmatrix} 0 \\ \vdots \\ 0 \\ v_{1k} \\ \vdots \\ v_{nk} \end{pmatrix}, \quad \mathbf{g}_k = \begin{pmatrix} 0 \\ \vdots \\ 0 \\ g_{1k} \\ \vdots \\ g_{nk} \end{pmatrix}, \quad \mathbf{x}_{k,res,L} = \begin{pmatrix} 0 \\ \vdots \\ 0 \\ x_{k1,res,L} \\ \vdots \\ x_{kn,res,L} \end{pmatrix},$$

- Definiendo W mediante un espectro \mathbf{g}_d definido sobre el vector de longitudes de onda $\boldsymbol{\lambda}_2$ y obteniendo \mathbf{g}_a a partir de los vectores \mathbf{g}_k montados en el Paso 3. Ahora, $W \in \mathbb{R}^{(n+c) \times (n+c)}$.
- Llevar a cabo el procedimiento de Hashimoto usando la matriz V_L como se indica en la Ecuación 3.21.

Esto puede permitir, en los casos donde los materiales carezcan de algunos colores, devolver colores artificiales mucho más fáciles de visualizar. En la Figura 3.12 encontrará un ejemplo vistoso de este efecto.

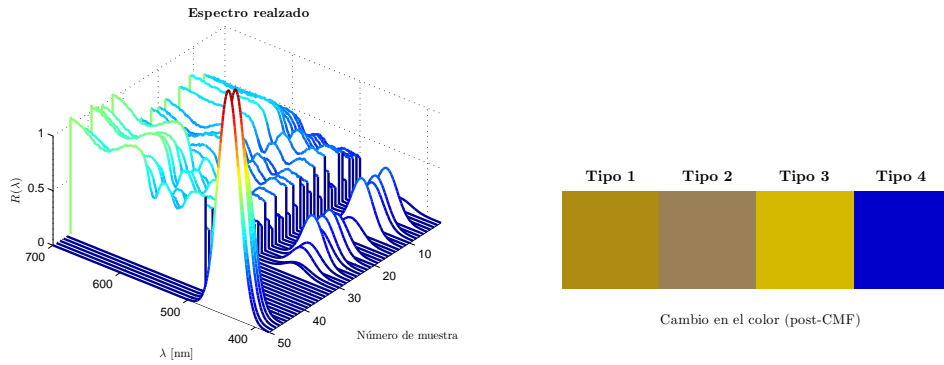


Figura 3.12: Hashimoto extendido a otras longitudes de onda. **Izquierda:** Colores obtenidos con el método de Hashimoto original (mejora de 575 nm a color de 450 nm con una gaussiana de varianza $\sigma^2 = 250$ centrada en 450 nm). $K = 30$. **Derecha:** Colores obtenidos.

Cómo amplificar con el color complementario. En general, se utiliza el color complementario al color medio \mathbf{g}_{avg} para efectuar el realce, como indica Hashimoto en el Método III de obtención de \mathbf{g}_d . Esto se logra transformando el espectro de XYZ a CIELAB, otro estándar colorimétrico. En ese espacio, el complementario de un color $C_1 = (L_1, a_1, b_1)$ en espectro es el color $C_{comp} = (L_1, -a_1, -b_1)$. Los pasos a llevar a cabo son los siguientes:

1. Obtenga el color medio \mathbf{g}_{avg} .
2. Transforme ese espectro a XYZ, obteniendo el vector $\mathbf{g}_{avg,XYZ}$.
3. Obtenga el mismo espectro en LAB, $\mathbf{g}_{d,Lab} = (L, a, b)$, utilizando las siguientes expresiones del estándar CIELAB:

$$L = 116f_y - 16, \quad a = 500(f_x - f_y), \quad b = 200(f_y - f_z), \quad (3.22)$$

donde

$$f_x = \begin{cases} \sqrt[3]{x_r}, & x_r > \epsilon \\ \frac{\kappa x_r + 16}{116}, & x_r \leq \epsilon \end{cases}, \quad f_y = \begin{cases} \sqrt[3]{y_r}, & y_r > \epsilon \\ \frac{\kappa y_r + 16}{116}, & y_r \leq \epsilon \end{cases},$$

$$f_z = \begin{cases} \sqrt[3]{z_r}, & z_r > \epsilon \\ \frac{\kappa z_r + 16}{116}, & z_r \leq \epsilon \end{cases} \quad (3.23)$$

$$x_r = \frac{X}{X_r}, \quad y_r = \frac{Y}{Y_r}, \quad z_r = \frac{Z}{Z_r}, \quad \epsilon = 0,008856, \quad \kappa = 903,3. \quad (3.24)$$

y donde X_r, Y_r, Z_r representan el color blanco de referencia (en nuestro caso, el D65)

$$X_r = 0,95047, \quad Y_r = 1, \quad Z_r = 1,0883. \quad (3.25)$$

4. El color complementario es $\mathbf{g}_{d,Lab} = (L, -a, -b)^T$.
5. Retorne a XYZ utilizando las expresiones inversas despejadas a través de las ecuaciones del Paso 3, y obtenga de esta forma el color $\mathbf{g}_{d,XYZ}$.
6. El color en XYZ depende de las CMF, y las medidas de nuestro sistema están calibradas para reflectancia (por lo que se supondrá que el sistema no modifica el espectro). Por tanto, la transición de espectro a CMF es lineal:

$$P \mathbf{g}_d = \mathbf{g}_{d,XYZ}, \quad (3.26)$$

donde la matriz P ,

$$P \triangleq k \Delta_\lambda \begin{pmatrix} - & \phi_X & - \\ - & \phi_Y & - \\ - & \phi_Z & - \end{pmatrix},$$

contiene en sus filas los tres espectros estímulo – las CMF del estándar CIE XYZ, cada una multiplicada por el iluminante D65, como se explica en el primer capítulo. Si desea obtener la mejor solución de espectro posible, la única opción que nos

queda es hallar la pseudoinversa de P para obtener el espectro complementario que ha generado ese triestímulo XYZ:

$$\mathbf{g}_d = P^+ \mathbf{g}_{d,XYZ}. \quad (3.27)$$

3.6. Modificación de los métodos

Existen algunos inconvenientes de estos métodos, los cuales pueden subsanarse con pequeñas modificaciones. Las preguntas que interesa responder son éstas:

- **¿Y si nos interesa amplificar cualquier tipo de residuo?** Mitsui y Hashimoto hacen que aquellos residuos positivos sean amplificados, mientras que los negativos son atenuados. ¿Habría alguna forma de llevar a cabo la operación de forma que *cualquier* residuo sea amplificado positivamente?
- **Quizá nos interesan las aproximaciones con L vectores singulares.** ¿Y si simplemente es interesante colorear las zonas de mayor reflectancia para una longitud de onda específica? Puede que el residuo no tenga ningún tipo de información de interés. En ese caso, ¿qué operaciones son interesantes?

3.6.1. Amplificando el residuo en valor absoluto

Una de las opciones es forzar a que la amplificación de cualquier residuo, sea por encima o por debajo de la media, sea amplificado como residuo relevante. Esto se consigue tomando la Ecuación 3.16 y escribiendo

$$G_e = WD + G, \quad (3.28)$$

y esta nueva matriz sólo se puede definir adecuadamente elemento a elemento:

$$\{d_{ij}\} = |f_{ij}|,$$

donde, como es de imaginar, esta matriz es la diferencia originalmente definida

$$F = (G - V_L V_L^T (G - G_{avg}) + G_{avg}).$$

Debajo de este párrafo, se ha duplicado el diagrama de colores de la Figura 3.11 – donde fue utilizado el método de Hashimoto para realzar variaciones en 575 nanómetros en un color de 550 nanómetros – junto al nuevo resultado, utilizando la misma mejora, con el mismo color a realzar.

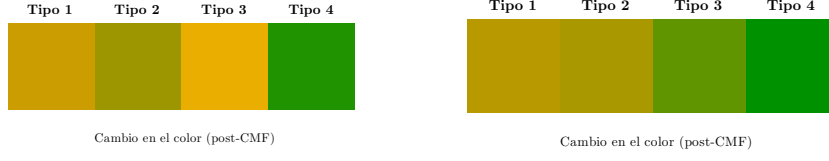


Figura 3.13: Comparativa. **Izquierda:** Colores obtenidos con el método de Hashimoto original (mejora de 575 nm a color definido por gaussiana de $\sigma^2 = 50$ y centrada en 545 nm). $K = 30$. **Derecha:** Colores obtenidos con el valor absoluto del residuo y la matriz de Hashimoto bajo las mismas condiciones.

La diferencia clave está en los espectros de Tipo 3 (las muestras 32 a 45). El espectro Tipo 3 es interpretado, al calcular el espectro medio, como un espectro que toma valores ligeramente menores que la media en el entorno de los 575 nanómetros (Figura 3.7, Izquierda). Sin embargo, al tener un residuo negativo, en el método original sufren un "contra-realce" (el residuo se multiplica por una constante y se suma al píxel, tenga el signo que tenga), y no constan como verdes, sino como aún menos verdes. En verdad, en estos píxeles **existe un residuo no explicado por los primeros L vectores singulares, y se está omitiendo en los métodos originales.**

Por tanto, si nos interesa evaluar la existencia de residuo, independientemente de si éste está por encima o por debajo de la media, utilizar el valor absoluto del residuo proporciona una visualización más fiel de las variaciones remanentes en cada píxel.

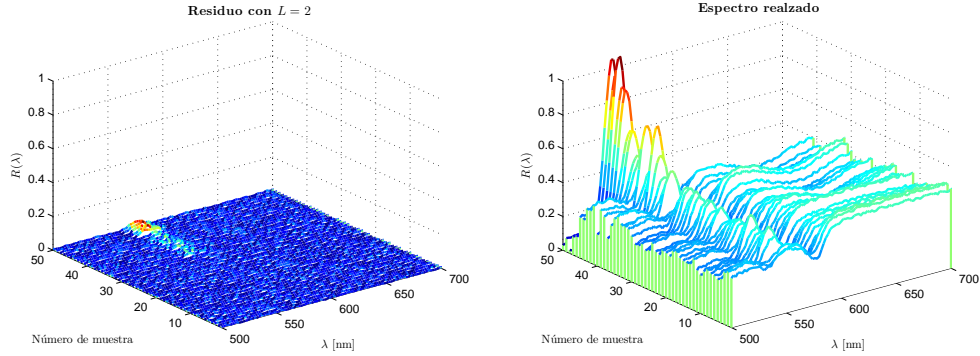


Figura 3.14: Realce con el valor absoluto.
Izquierda: Valor absoluto del residuo para $L = 2$.
Derecha: Resultado del realce multispectral usando la matriz de Hashimoto y el valor absoluto del residuo.

3.6.2. Tomando todas las longitudes de onda

Quizá, en lugar de interesar las variaciones menos frecuentes, es interesante estudiar las más frecuentes. Esto suele ser así en el análisis de tejidos, puesto que las características espectrales de los tejidos vienen indicadas en los primeros vectores singulares. En ese caso, en lugar de restar, directamente multiplicamos la matriz de transformación W sobre la aproximación de las columnas de G sin la media (esto es, \tilde{X}_L^T), obteniendo una representación fidedigna, con menos ruido, de los espectros y de sus reflectancias:

$$G_e = W \tilde{X}_L^T + G. \quad (3.29)$$

Eligiendo un buen criterio de selección del valor L como el de la razón de normas de Frobenius (también llamado fracción de varianza explicada), se logrará conservar un porcentaje de las variaciones. Esta operación puede llevarse a cabo sin necesitar calcular el residuo directamente, mediante

$$G_e = W (V_L V_L^T) (G - G_{avg}) + G. \quad (3.30)$$

En el ejemplo expuesto abajo, nuestro objetivo es analizar qué ocurre con variaciones comunes, no residuales: lo importante es discernir los espectros que tengan variaciones positivas respecto de la media en el entorno de los 650 nanómetros, y éstos se pintarán de verde.

Si se resta el espectro medio (que no tiene esa mayor reflectancia en esa longitud de onda, puesto que la mayoría no es Tipo 1), resulta que hay dos variaciones considerables a tener en cuenta. Ambas son positivas – existe una variación muy común en los espectros Tipo 3 y 4 en los 500 nm, y otra común en los Tipo 1 en los 600 nanómetros. Como se amplifica a los 600 nm, los espectros Tipo 1 se tornan verdes. Los demás se tornan levemente menos verdes; este método no tiene en cuenta las variaciones absolutas (que se pueden hallar fácilmente, calculando el valor absoluto de los elementos de \tilde{X}_L).

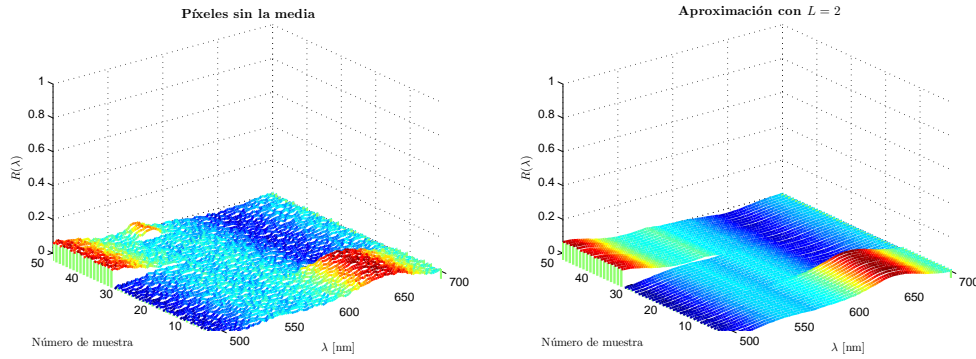


Figura 3.15: Efecto de filtrado al aproximar X . **Izquierda:**

Restamos a cada espectro el espectro medio.

Derecha: Aproximación \tilde{X}_L con $L = 2$.

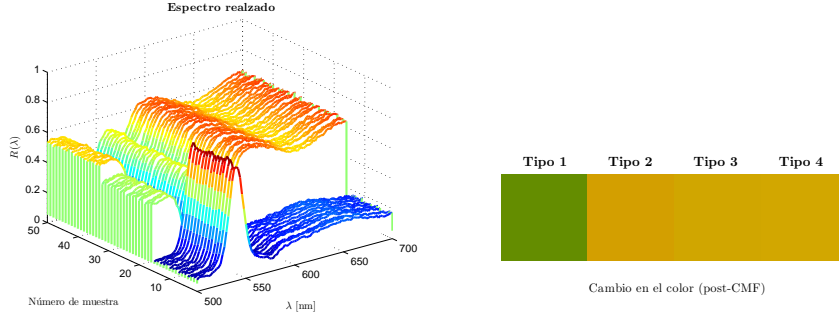


Figura 3.16: Realce multispectral. **Izquierda:** Aspecto de los espectros. El realce de los 650 nm se pinta con un color definido por una gaussiana centrada en 450 nm, de varianza 50 nm. **Derecha:** Resultado colorimétrico: Los espectros Tipo 1 quedan destacados en verde.

3.6.3. Eligiendo el residuo por encima del ruido

Si resulta que r toma un valor muy pequeño, nos encontraremos en una situación en la que casi todos los vectores son muy parecidos, y existirán unos pocos vectores singulares (dos, cinco, diez...) que basten para acercarse a la matriz X original con alta fidelidad. En una situación como la presentada, se puede tomar la siguiente decisión:

- En primer lugar, hay que encontrar el L (un número pequeño, $L \ll n$) que permita aproximar X con notable calidad.
- Posteriormente, se elegirá un número entero $J \leq L$ y se llevará a cabo cualquiera de los métodos explicados, utilizando únicamente el residuo restante de aproximar X con los J primeros vectores singulares, o bien realzando los J primeros vectores singulares.

De esta forma, es posible saber cuántos vectores singulares por la derecha son suficientemente importantes en las fluctuaciones de los datos, y se puede seleccionar un valor $J < L$, de modo que los métodos realcen las variaciones de los espectros explicadas por los $r - J$ vectores singulares que siguen a los J primeros, pero que aún muestran variaciones de interés. En esos casos, para $J < L$, y para vectores singulares despreciables para valores mayores de L , los métodos de mejora pueden hacerse con la expresión

$$G_e = W(X_{res,J}^T) + G. \quad (3.31)$$

Este criterio de selección de las componentes principales y del residuo es el utilizado en los resultados experimentales para todos los métodos que amplifican residuos (Mitsui y Hashimoto originales y métodos que usan el valor absoluto: las columnas 2 y 3 de resultados). Si se puede obtener una aproximación suficientemente buena de X con L vectores singulares, el residuo a amplificar será aquél explicado por los $L/2, L/2 + 1, \dots, r$ últimos vectores singulares más importantes. De utilizar los $L + 1, \dots, r$, se amplificarían

características insignificantes de los datos (ruido); se ha comprobado empíricamente que amplificar el ruido no proporciona un realce entre tejidos diferentes.

Capítulo 4

El Clasificador de Direccionalidad Espectral

“Creativity is not a talent. It is not a talent, it is a way of operating.”

— John Cleese

Aunque los sistemas colorimétricos son capaces de proporcionar información interesante sobre algunas características espectrales particulares, éstos no proporcionan control alguno sobre la SVD ni sobre cuáles son esas características espectrales.

Durante el proceso de determinación de los márgenes quirúrgicos, el cirujano tiene conocimiento de las características fisiológicas del tejido sano y del tejido canceroso (por algo, hasta la fecha, la delimitación de las regiones se ha hecho mediante observación directa), por lo que tiene suficiente conocimiento como para discernir entre una región claramente maligna (el interior del tejido extraído) y otra benigna (el tejido que rodea al tumor). El propósito de este capítulo es dar una herramienta de precisión con la que delimitar los márgenes – los cuales no están siempre claros – entre tejido sano y tejido maligno.

La solución propuesta se visualizaría de forma parecida a la Figura 4.1. Dada una imagen multiespectral, el cirujano podría definir áreas claramente malignas y benignas, y luego este sistema podría determinar cuáles son las zonas benignas y cuáles son las malignas en aquellas zonas fuera del rango especificado por el cirujano, ayudando a diagnosticar zonas de tejido donde el diagnóstico no está tan claro. La medida en milímetros del margen podría

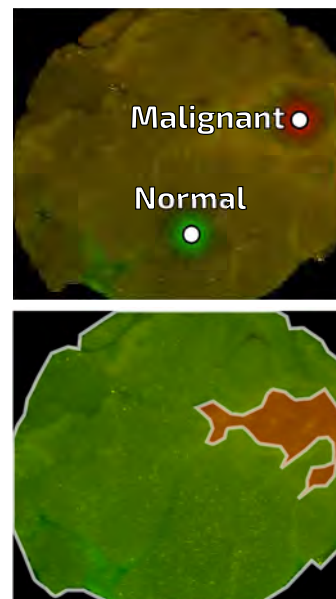


Figura 4.1: Conceptualización del sistema que determina los márgenes.

hacerse conociendo los parámetros y orientación del montaje. Este capítulo se centra en el desarrollo de un sistema que permita llevar esta operación a cabo.

4.1. Condicionamiento de los datos espectrales

Los datos de partida son **vectores**, y es de nuestro interés evaluar algunas de sus características. Otras características, en cambio, son totalmente irrelevantes. Interesa establecer las diferentes respuestas espectrales existentes en el material de análisis pero, sin embargo, no así su concentración, puesto que ésta es desconocida y, dadas las características complejísticas de los tejidos (material turbio), es difícil de obtener con total exactitud.

Algunas de las muestras habrán recibido más o menos tintado, habrán sufrido algún tipo de cauterización, o bien las variaciones de oxigenación de la hemoglobina pueden variar según la localización del tumor, algo posiblemente dependiente de la situación de la operación o la temporización de la misma (así como los intervalos de tiempo pasados entre operación y posicionamiento de la muestra en el dispositivo de análisis). Existen, como se puede imaginar, un montón de variables adicionales que no se pueden conocer completamente.

Ante esta ignorancia de partida –que, quizá, es estrictamente personal– sólo se puede intentar ordenar los datos de alguna forma y tratar de ver si éstos realmente muestran características diferenciabiles. Éstos son algunos de los métodos posibles:

- **Centrado de los datos.** Aunque PCA lo hace previamente, en esta sección se describe un método nuevo, y en éste se ha decidido utilizar la SVD en los pasos sucesivos para obtener X y eliminar la notación complicada de la sección anterior. Así, una forma de pretratar los datos es restando la media muestral, $\mathbf{g}_{avg} \in \mathbb{R}^n$, a los espectros de partida, como se ha hecho en casos anteriores.

$$X = \begin{pmatrix} (\mathbf{g}_1 - \mathbf{g}_{avg})^T \\ (\mathbf{g}_2 - \mathbf{g}_{avg})^T \\ \vdots \\ (\mathbf{g}_t - \mathbf{g}_{avg})^T \end{pmatrix}, \quad \mathbf{g}_{avg} = \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \mathbf{g}_i. \quad (4.1)$$

- **Standard Normal Variate (SNV).** Este es un método utilizado con frecuencia en medidas de espectroscopía de reflectancia difusa, y es el que mejor resultados da en la base de datos de tumores [25, 26]. A cada vector de reflectancia se le resta la media de sus elementos y se divide por la desviación típica de sus elementos. Esto permite normalizar la energía (varianza) de cada espectro particular, de forma que todos los espectros tienen media cero y varianza unidad. Si $\mathbf{g}_k = (g_{1k}, \dots, g_{nk})^T$, la SNV del vector (también llamada *z-score sobre los vectores*) se calcula así:

$$\mathbf{g}'_k = \frac{\mathbf{g}_k - \mu_k}{\sigma_k}, \quad \mu_k = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n g_{ik}, \quad \sigma_k = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (g_{ik} - \mu_k)^2$$

- **No hacer nada.** Esto puede proporcionar algunos problemas en los pasos sucesivos. Sin embargo, se ha probado que el sistema funciona también si no se realiza ningún tipo de procedimiento de normalización.

En la Figura 3.3 encontrará un ejemplo de centrado de los datos. Esta operación es más fácil de visualizar cuando se haya llevado a cabo el siguiente paso. **En este TFG, se utiliza la transformación SNV sobre los datos como preprocesado, ya que proporciona los mejores resultados.**

El sistema multispectral que hace las medidas nos da tremendos vectores de 512 coordenadas cada uno. En primer lugar, hay que encontrar alguna forma de expresar estos vectores como la combinación lineal de algunos vectores frecuentes; como el lector puede intuir, la SVD vuelve a tomar protagonismo.

4.2. Espacio de señales discretas

Tanto si se utiliza un método de normalización como si no, necesitamos expresar todo espectro muestreado \mathbf{g} con un número reducido de números, para facilitar los cálculos que luego se lleven a cabo.

Sean $\mathbf{g}_1, \dots, \mathbf{g}_k \in \mathbb{R}^n$ los vectores espectro (normalizados o no) de un espécimen particular. A continuación, se disponen en la matriz X del siguiente modo:

$$X = \begin{pmatrix} \mathbf{g}_1^T \\ \mathbf{g}_2^T \\ \vdots \\ \mathbf{g}_t^T \end{pmatrix}, \quad (4.2)$$

y luego llevamos a cabo su descomposición en valores singulares $X = U\Sigma V^T$, en las columnas de V se encuentra una base ortonormal de las filas de X , mientras que en $T = U\Sigma$ están las coordenadas de cada fila de X en la base ortonormal definida por las columnas de V .

Si se eligen las L primeras columnas de V , siguiendo criterios como el indicado por la Ecuación 3.11, es posible obtener una aproximación \tilde{X}_L cercana a X lo suficiente como para expresar cada fila de X con L números – sus coordenadas en el espacio definido por los L primeros vectores singulares por la derecha. Esto suele llamarse, en Teoría de la Señal, *representación de señales en un espacio de señal*. En este caso, las señales están discretizadas en un intervalo $I_\lambda = [\lambda_0, \lambda_1]$, y con una resolución de $(\lambda_1 - \lambda_0)/n$, siendo λ_1, λ_0 las longitudes de onda de medida máxima y mínima, respectivamente.

4.3. Sólo importa la dirección: Proyección sobre la n-esfera de radio unidad

Cuando cada vector dato queda indicado como combinación lineal de unos vectores base, se puede decir que cada vector tiene ciertas características en sus elementos porque

es una suma ponderada de esos vectores en una proporción específica. Por tanto, la expresión

$$\mathbf{g}_k = a_1 \mathbf{v}_1 + a_2 \mathbf{v}_2 + \cdots + a_L \mathbf{v}_L$$

queda explicitada al trabajar con las coordenadas de \mathbf{g}_k en el subespacio definido por los $\mathbf{v}_1, \dots, \mathbf{v}_L$, pudiendo escribirse

$$\mathbf{a}_k = \begin{pmatrix} a_1 \\ \vdots \\ a_L \end{pmatrix}. \quad (4.3)$$

Todos los vectores que guardan esa misma proporción (vectores proporcionales, todos los $\mathbf{b}_k = \beta \cdot \mathbf{a}_k$, $\beta \in \mathbb{R}$) poseen la misma dirección y distinto módulo, con lo cual están alineados en una misma recta. Dicha recta se define a través de la *dirección* del vector \mathbf{a}_k , con lo cual la normalización de los datos

$$\mathbf{a}'_k = \frac{\mathbf{a}_k}{\|\mathbf{a}_k\|} \quad (4.4)$$

hace que todos los vectores proporcionales sean iguales. Desde un punto de vista físico, vectores proporcionales representan la misma firma espectral multiplicada por constantes diferentes, mientras que dos vectores con diferente dirección representan dos firmas espectrales diferentes.

Por tanto, definiendo X como en la Ecuación 4.2, es posible decir que **la firma espectral de un material específico incluido en las filas de X , con mayor o menor ganancia, queda representada por una recta en el espacio definido por los L primeros vectores singulares por la derecha de X .**

Si, en cambio, elegimos restar el espectro medio a todos los espectros, como en la Ecuación 4.1, cada tipo de variación respecto de la firma espectral media queda representada por una recta en el espacio definido por los L primeros vectores singulares por la derecha de X .

Llamaremos *dirección espectral de un espectro* a la dirección de la recta asociada a su firma espectral. Veamos una representación de este concepto. En la Figura 4.2 se representa una base ortonormal, en la cual están expresados unos puntos. Estos puntos están dibujados en la Figura 4.3. Nótese que todos los vectores alineados en la misma recta, al ser linealmente proporcionales, representan señales proporcionales. Sin embargo, el arco que une los dos segmentos dibujados representa señales que no cumplen esta propiedad. **El objetivo es, entonces, encontrar las direcciones que representan espectros malignos y benignos.**

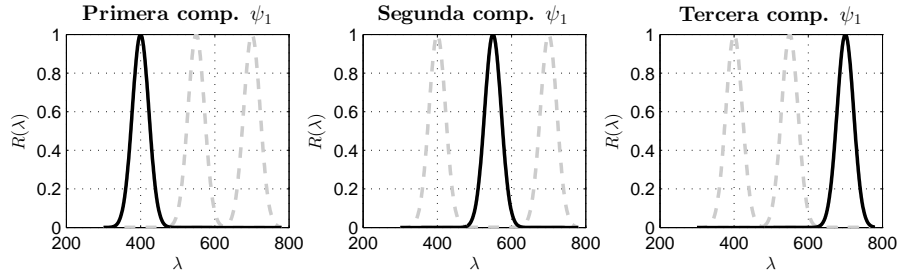
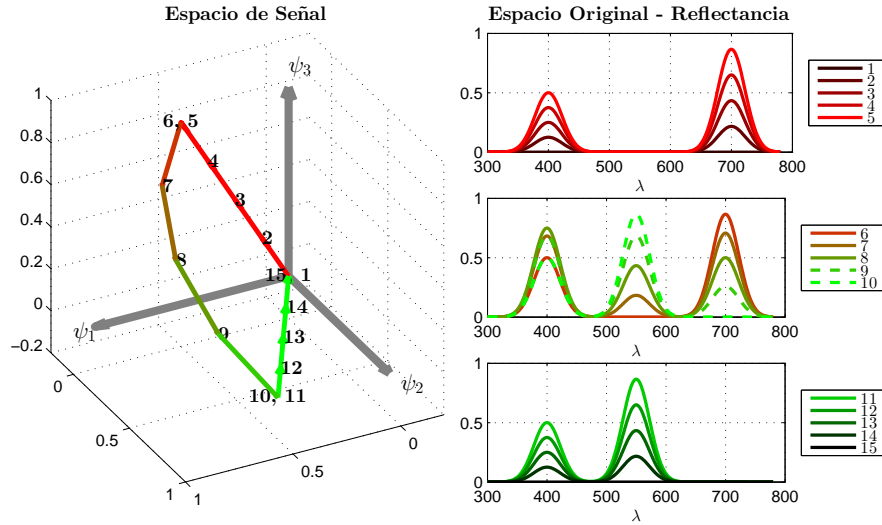


Figura 4.2: Base de un espacio de señal.


 Figura 4.3: Representación de algunos espectros en el espacio de señal creado por ψ_1, ψ_2, ψ_3 .

4.4. El Estimador Kernel Multivariable de Densidad Direccional

Una vez disponemos de los datos en un espacio de menor dimensión, el siguiente paso consiste en encontrar un método que permita clasificar las diferentes firmas espectrales en función de la dirección de las mismas en dicho espacio.

Un método muy frecuente es el conocido como *Spectral Angle Mapper*. La técnica SAM es sencilla: conocida una dirección espectral *a priori*, es posible evaluar la similitud de otros espectros con éste calculando el ángulo que hay entre sus direcciones espectrales y la dirección espectral *a priori*. Dada una dirección de referencia \mathbf{r} y un dato a evaluar \mathbf{d} , el *ángulo espectral* se define como

$$\theta = \arccos \left(\frac{\mathbf{r}^T \mathbf{d}}{\|\mathbf{r}\| \cdot \|\mathbf{d}\|} \right). \quad (4.5)$$

Para el caso de tejidos tumorales, no existe de una firma espectral de referencia clara, puesto que las concentraciones relativas exactas de los cromóforos existentes en cada tejido son desconocidas. Tampoco se conoce con precisión, durante la operación, el tipo exacto de cáncer que estamos operando. En consecuencia, resulta difícil hallar un vector de referencia exacto para cada situación.

Si, en cambio, se permite al cirujano indicar al programa una pequeña región donde esté seguro de que se trata de tejido benigno/maligno, **podemos estimar aproximadamente cuáles son las direcciones espectrales que describen los tejidos señalados.**

La función que define la probabilidad de que un intervalo de direcciones se corresponda con una hipótesis o condición se denomina *función de densidad de probabilidad condicionada* (*probability density function*, PDF), y se escribe $f(\mathbf{x}|H_k)$, donde \mathbf{x} es la variable independiente (un vector) y H_k es la hipótesis que condiciona la distribución. En el contexto que se propone, el objetivo es diferenciar dos tejidos, por lo que hay dos hipótesis posibles:

$$\begin{aligned} H_A &:= \text{"El tejido es de tipo A"}, \\ H_B &:= \text{"El tejido es de tipo B"}. \end{aligned}$$

El problema es que, al igual que ocurre con el espectro de referencia en el SAM, **las funciones de densidad de probabilidad condicionada son desconocidas.** Para tratar de subsanar este problema, se utilizará un *Estimador Kernel Multivariable de Densidad Direccional* para estimar dichas funciones de densidad de probabilidad. Éste aproxima la PDF en un punto $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^L$ a partir de un conjunto de datos direccionales etiquetados con la hipótesis k -ésima, que denotaremos con $\{\mathbf{X}_{1,k}, \dots, \mathbf{X}_{n,k}\} \in \mathbb{R}^L$, mediante la expresión siguiente [27–30]:

$$\hat{f}_h(\mathbf{x}|H_k) = \frac{c_{h,L}(K)}{n} \sum_{i=1}^n K\left(\frac{1 - \mathbf{x}^T \mathbf{X}_{i,k}}{h^2}\right), \quad \mathbf{x} \in S^{L-1}, \quad (4.6)$$

donde $K(\cdot)$ se conoce como *kernel direccional*, $h > 0$ es una constante conocida como *ancho de banda* y $c_{h,L}(K)$ es una *constante de normalización* que depende del tipo de kernel K utilizado, el ancho de banda h y la dimensión de los vectores L .

El kernel debe ser una función no negativa definida en $\mathbb{R}^+ = [0, \infty)$, que debe satisfacer

$$0 \leq \int_0^\infty K(\nu) \nu^{(k-3)/2} d\nu < \infty$$

para que la estimación de la PDF sea realmente una distribución de probabilidad, y $c_{h,L}(K)$ debe ser una constante positiva tal que

$$\frac{h^{L-1}}{c_{h,L}(K)} = \int_{\Omega} K\left(\frac{1 - \mathbf{x}^T \mathbf{y}}{h^2}\right) d\omega(\mathbf{y}).$$

El kernel más común es

$$K(r) = e^{-r}, \quad r \geq 0, \quad (4.7)$$

conocido como el *kernel von Mises*, en honor a Richard von Mises, y por la distribución von Mises-Fisher en una esfera de dimensión L :

$$f_{vM}(\mathbf{x}; \boldsymbol{\mu}, \kappa) = C_L(\kappa) e^{\kappa \mathbf{x}^T \boldsymbol{\mu}}, \quad C_L(\kappa) = \frac{\kappa^{\frac{L-1}{2}}}{(2\pi)^{\frac{L+1}{2}} \mathcal{I}_{\frac{L-1}{2}}(\kappa)}, \quad (4.8)$$

donde $\mathcal{I}_\nu(z)$ es la función de Bessel modificada de orden ν

$$\mathcal{I}_\nu(z) = \frac{\left(\frac{z}{2}\right)^\nu}{\pi^{1/2} \Gamma\left(\nu + \frac{1}{2}\right)} \int_{-1}^1 (1-t^2)^{\nu-\frac{1}{2}} e^{zt} dt.$$

La distribución von Mises-Fisher es de interés en un estimador direccional, puesto que tiende a su valor máximo ($C_L(\kappa)e^\kappa$) cuando \mathbf{x} tiende a la constante de orientación media $\boldsymbol{\mu}$, y tiende a cero a medida que estos vectores son ortogonales. Bajo esta elección de kernel, la constante de normalización $c_{h,L}(K)^{-1}$ es igual a

$$c_{h,L}(K) = C_L \left(\frac{1}{h^2} \right) e^{\frac{1}{h^2}} \quad (4.9)$$

Por tanto, al elegir el kernel von Mises, y al sustituir estas constantes en el estimador de la Ecuación 4.6, obtenemos

$$\hat{f}_h(\mathbf{x}|H_k) = C_L \left(\frac{1}{h^2} \right) e^{\frac{1}{h^2}} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n e^{-\frac{1-\mathbf{x}^T \mathbf{x}_{i,k}}{h^2}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_L \left(\frac{1}{h^2} \right) e^{\frac{\mathbf{x}^T \mathbf{x}_{i,k}}{h^2}}, \quad (4.10)$$

lo que quiere decir que el estimador kernel multivariable de densidad direccional es interpretable como una mezcla de densidades de probabilidad de von Mises-Fisher [30]:

$$\hat{f}_h(\mathbf{x}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n f_{vM} \left(\mathbf{x}; \mathbf{X}_i, \frac{1}{h^2} \right). \quad (4.11)$$

De esta forma, la PDF evaluada en la posición \mathbf{x} toma valores más altos en esa posición cuantas más muestras \mathbf{X}_i haya orientadas hacia direcciones próximas a \mathbf{x} . La proximidad con la que deben estar las muestras para ser tenidas en cuenta es h , el *ancho de banda del estimador*. Éste debe ser tal que la distancia \mathcal{L}_2 (error cuadrático medio) entre la PDF estimada \hat{f}_h y la PDF real f sea mínima. Dicho error es una variable aleatoria que depende de n y del tipo de muestras obtenidas, así que la medida del error a minimizar se conoce como el error al cuadrado integrado medio (*Mean Integrated Squared Error*, MISE) [27–30]:

$$\text{MISE}(h) = E \left[\int_{\Omega_q} \left(\hat{f}_h(\mathbf{x}) - f(\mathbf{x}) \right)^2 \omega_q(d\mathbf{x}) \right]. \quad (4.12)$$

Eduardo García-Portugués ofrece en numerosas publicaciones una regla de oro que define un ancho de banda de selección capaz de minimizar el MISE, si se utiliza el kernel von Mises [30, 31]:

$$h_{ROT} = \begin{cases} \left(\frac{4\pi^{\frac{1}{2}} \mathcal{I}_0(\hat{\kappa})^2}{\hat{\kappa} n (2\mathcal{I}_1(2\hat{\kappa}) + 3\hat{\kappa} \mathcal{I}_2(2\hat{\kappa}))} \right)^{\frac{1}{5}}, & L = 1, \\ \left(\frac{8 \sinh^2(\hat{\kappa})}{\hat{\kappa} n ((1+4\hat{\kappa}^2) \sinh(2\hat{\kappa}) - 2\hat{\kappa} \cosh(2\hat{\kappa}))} \right)^{\frac{1}{6}}, & L = 2, \\ \left(\frac{4\pi^{\frac{1}{2}} \mathcal{I}_{\frac{L-1}{2}}(\hat{\kappa})^2}{\hat{\kappa}^{\frac{L+1}{2}} n (2\mathcal{I}_{\frac{L+1}{2}}(2\hat{\kappa}) + (2+L)\hat{\kappa} \mathcal{I}_{\frac{L+3}{2}}(2\hat{\kappa}))} \right)^{\frac{1}{4+L}}, & L \geq 3. \end{cases} \quad (4.13)$$

En este estimador, $\hat{\kappa}$ es una estimación de la constante κ , conocida como *parámetro de acumulación*. Este parámetro se debe estimar por máxima verosimilitud pero, en 2003, Inderjit Dhillon y Suvrit Sra [32] definieron una aproximación del $\hat{\kappa}$ que se obtiene por máxima verosimilitud con un error ignorable, de forma que

$$\hat{\kappa} \approx \frac{\bar{R}L - \bar{R}^3}{1 - \bar{R}^2}, \quad (4.14)$$

siendo

$$R \triangleq \frac{\|\sum_{i=1}^n \mathbf{x}_i\|}{n} \quad (4.15)$$

la norma del vector medio. Con estas aproximaciones, es posible establecer la PDF estimada para las dos hipótesis:

$$\hat{f}_{h_{ROT}}(\mathbf{x}|H_A) = \frac{1}{n_A} \sum_{i=1}^{n_A} C_L \left(\frac{1}{h_{ROT,A}^2} \right) e^{\frac{\mathbf{x}^T \mathbf{x}_{i,A}}{h_{ROT,A}^2}}, \quad (4.16)$$

$$\hat{f}_{h_{ROT}}(\mathbf{x}|H_B) = \frac{1}{n_B} \sum_{i=1}^{n_B} C_L \left(\frac{1}{h_{ROT,B}^2} \right) e^{\frac{\mathbf{x}^T \mathbf{x}_{i,B}}{h_{ROT,B}^2}}, \quad (4.17)$$

donde n_A, n_B es el número de muestras etiquetadas como Tipo A y Tipo B, y $h_{ROT,A}, h_{ROT,B}$ son los anchos de banda estimados según las expresiones de García-Portugués, Dhillon y Sra. Cada píxel que no se use en la estimación ocupará la posición de \mathbf{x} , obteniendo la evaluación de la PDF estimada en cada uno de los píxeles de la imagen. Los píxeles etiquetados usados en la estimación pueden pasarse también, pero evidentemente darán el valor máximo en sus respectivas clasificaciones.

En la implementación de MATLAB utilizada, las funciones de Bessel dan algunos problemas de precisión durante la conversión simbólica a numérica, así que el estimador se construye con la Ecuación 4.6 y la aproximación de la constante $c_{h,L}(K)$ definida por García-Portugués [30] obtenida a partir de la expansión en serie de Taylor de la función de Bessel modificada:

$$c_{h,L}(K) = (2\pi)^{\frac{L}{2}} h^L + \mathcal{O}(h^{L+2}), \quad (4.18)$$

con la h que minimiza el MISE.

4.5. Criterio MAP para hipótesis equiprobables.

El proceso de clasificación podría ser más complejo; sin embargo, se ha elegido una aproximación *Máximo A Posteriori* (MAP) como criterio de decisión:

$$\Lambda(\mathbf{x}) = \frac{\hat{f}(\mathbf{x}|H_A)}{\hat{f}(\mathbf{x}|H_B)} \underset{H_B}{\overset{H_A}{>}} \frac{P(x=B)}{P(x=A)} = \gamma \quad (4.19)$$

Calculando la función logaritmo a ambos lados, podemos establecer la expresión equivalente

$$\log \left(\hat{f}(\mathbf{x}|H_A) \right) - \log \left(\hat{f}(\mathbf{x}|H_B) \right) \underset{H_B}{\overset{H_A}{>}} \log(\gamma). \quad (4.20)$$

Ya que las probabilidades de que un píxel sea de tipo A o B son desconocidas, se asumirá que ambos eventos son equiprobables, transformando el criterio MAP en el de Máxima Verosimilitud (*Maximum Likelihood Ratio*):

$$\Lambda(\mathbf{x}) = \frac{\hat{f}(\mathbf{x}|H_A)}{\hat{f}(\mathbf{x}|H_B)} \underset{H_B}{\overset{H_A}{>}} 1 \implies \hat{f}(\mathbf{x}|H_A) - \hat{f}(\mathbf{x}|H_B) \underset{H_B}{\overset{H_A}{>}} 0. \quad (4.21)$$

Posteriormente, será posible tomar el criterio MAP de la Ecuación 4.20 y dar valores a γ . Es entonces cuando podemos generar la Característica de Operación del Receptor (*Receiver Operating Characteristic*, ROC) para valorar si γ puede mostrar alguna característica tal que la incidencia de ambas hipótesis no sea equiprobable.

La calidad del criterio seleccionado se analiza de forma empírica. Ya que en cada muestra se dispone de subconjuntos de vectores etiquetados, tomaremos de forma aleatoria una fracción de los mismos, y probaremos el clasificador en todos los demás vectores etiquetados no utilizados. Así, se pueden obtener los parámetros que definen la bondad del clasificador. A continuación, se indica cómo.

4.6. Post-procesado y reconstrucción

Al final de todo este procedimiento, se puede reconstruir la imagen y proporcionar datos sobre la misma. Quedan expuestos a continuación los dos métodos a utilizar.

4.6.1. Uso de un overlay

Tras clasificar utilizando los criterios MAP/ML se obtendrá, para cada píxel, un número binario de decisión, \hat{d}_k . Este número binario, por ejemplo, será igual a 1 cuando lo hayamos asignado a tipo A (si los A son los positivos), e igual a 0 cuando esté asignado a tipo B (si los B son los negativos). Se asumirá a partir de aquí que $H_A \equiv H_1$ es la hipótesis positiva (correspondiente a cáncer) y $H_B \equiv H_0$ es la hipótesis negativa (no cáncer) para hacer las operaciones indicadas más abajo.

A continuación, es inmediato reordenar estos números y utilizarlos como una máscara píxel a píxel, pudiendo dibujar, encima de la imagen ya reconstruida mediante los métodos del Capítulo 2, la clasificación de cada píxel.

4.6.2. Evaluación del clasificador. Receiver Operating Characteristic

Es necesario establecer una regla o control mediante la cual sea posible conocer la bondad del clasificador. Para ello, cada vez que se aplica a un espécimen, se fabrica una *matriz de confusión* a partir de los datos etiquetados no utilizados en el estimador. Una matriz de confusión se compone de cuatro números, los cuales representan el número de aciertos y fallos de clasificación sobre los datos etiquetados. Son los siguientes:

- **True Positives (TP):** número de datos que, estando etiquetados como positivos, son clasificados como positivos.
- **True Negatives (TN):** número de datos que, estando etiquetados como negativos, son clasificados como negativos.
- **False Positives (FP):** número de datos que, estando etiquetados como negativos, son clasificados como positivos. Este error se conoce también como *falsa alarma*, o error de Tipo I.
- **False Negatives (FN):** número de datos que, estando etiquetados como positivos, son clasificados como negativos. También suele recibir el nombre de error de Tipo II.

A partir de estos parámetros, se pueden calcular otros que arrojan más luz sobre la calidad del clasificador para clasificar datos etiquetados. Los que se han obtenido en este documento son los siguientes:

- **Sensibilidad:** Expresa la proporción de datos etiquetados como positivos que son clasificados como positivos. También suele definirse como True Positive Rate, o

Tasa de Valores Positivos. Se calcula mediante

$$SEN = Sensitivity \equiv TPR = \frac{TP}{TP + FN}.$$

- **Especificidad:** La especificidad expresa la cantidad de datos etiquetados como negativos que son correctamente clasificados como negativos. Se obtiene con la expresión

$$SPC = Specificity = \frac{TN}{TN + FP}.$$

- **FPR (False Positive Rate):** o Tasa de Falsos Positivos, representa la probabilidad de clasificar como positivo un dato etiquetado como negativo. También puede interpretarse como una aproximación de la probabilidad de falsa alarma:

$$FPR = 1 - SPC.$$

- **Accuracy:** Suele traducirse como "precisión" en estos contextos. Es el número de datos correctamente clasificados:

$$Accuracy = ACC = \frac{TP + TN}{TP + FP + TN + FN}.$$

En Medicina Basada en la Evidencia, suelen establecerse tres parámetros que utilizan la sensibilidad y la especificidad para estipular si el hecho de que el clasificador dé positivo o negativo realmente se relaciona con que la condición sea positivo o negativo, respectivamente.

- **Positive Likelihood Ratio (LR+):** Es la probabilidad de que un dato etiquetado como positivo sea clasificado como positivo dividida entre la probabilidad de que un dato etiquetado como negativo sea clasificado como positivo. Un LR+ mayor de la unidad indica que el resultado está asociado con que los datos sean positivos.

$$LR+ = \frac{P(\hat{d} = 1|H_1)}{P(\hat{d} = 1|H_0)} = \frac{SEN}{1 - SPC}$$

- **Negative Likelihood Ratio (LR-):** Probabilidad de que un dato etiquetado como positivo sea clasificado como negativo dividida entre la probabilidad de que un dato etiquetado como negativo sea clasificado como negativo. Cuanto más tienda a cero, mejor será el clasificador, puesto que éste tendrá una mayor probabilidad de obtener un True Negative que un False Negative.

$$LR- = \frac{P(\hat{d} = 0|H_1)}{P(\hat{d} = 0|H_0)} = \frac{1 - SEN}{SPC}$$

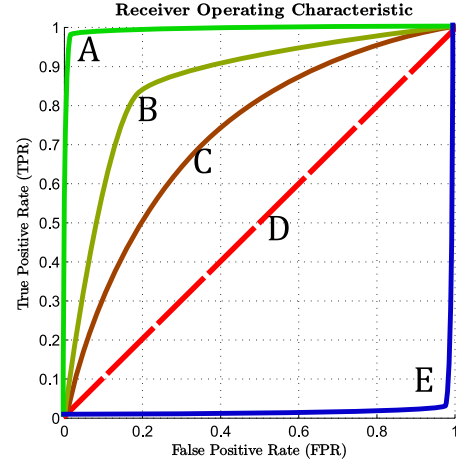
- **Diagnostic Odds Ratio (DOR):** Es la razón entre la probabilidad de que la clasificación sea positiva para datos positivos y la probabilidad de que la clasificación sea positiva para datos negativos.

$$DOR = \frac{TP/FP}{FN/TN} = \frac{LR+}{LR-}$$

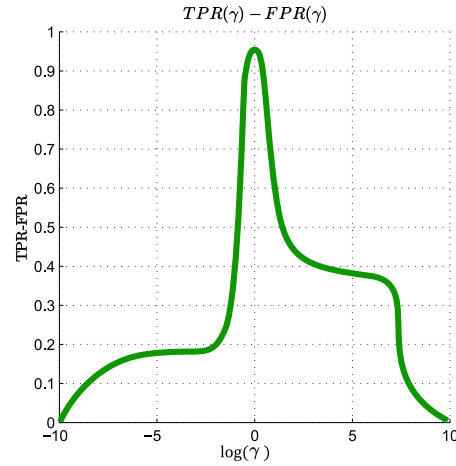
Característica de Operación del Receptor. La calidad o bondad de un sensor o sistema detector puede evaluarse representando en una gráfica la tasa de acierto como función de la tasa de fallo. En un clasificador que sigue una expresión como la de la Ecuación 4.20, los diferentes valores de FPR y TPR se obtienen dando diferentes valores a γ , que también se suele conocer como *valor umbral* (*threshold*).

Atendiendo a esta ecuación, si el umbral toma valores positivos (mayores que cero) muy altos, la clasificación de un píxel como H_1 (positivo) será menos probable, siendo más fácil que éste sea clasificado como H_0 (negativo). Del mismo modo, si éste toma valores bajos (menores que cero), la clasificación del mismo como H_0 será menos probable, a cambio de que la clasificación del mismo píxel como H_1 sea más probable.

En definitiva, dando diferentes valores a γ podemos obtener diferentes valores de TPR y FPR. Si se representan estos puntos como $TPR(FPR)$, se obtiene lo que se suele llamar *Receiver Operating Characteristic*. En la Figura 4.4(a) encontrará ejemplos de curvas ROC. Si la función representada tiende a $TPR = FPR$, el clasificador es considerado como incapaz de clasificar (la probabilidad de acertar y de fallar son la misma para cualquier valor umbral). El clasificador es mejor si el área bajo la curva ROC es máxima o, lo que es lo mismo, si la función pasa por la esquina superior izquierda: para valores bajos de tasa de fallo, la tasa de acierto sería grande, y ésta tendería a 1 a medida que la tasa de fallo incrementa. Un clasificador con ROC que pase por la esquina inferior derecha es también óptimo, pero las hipótesis deben invertirse: si intercambiamos H_0 por H_1 y H_1 por H_0 , el clasificador sería ideal.



(a) Curvas ROC ejemplo. (A) Clasificador ideal; (B) es mejor estimador que (C); (D) corresponde con una clasificación aleatoria; (E) es un buen clasificador, con las hipótesis elegidas al revés.



(b) Resta $TPR - FPR$ en función de $\log(\gamma)$. El máximo está, en este caso, en $\gamma = 1$.

Figura 4.4: Ejemplos de ROC y un ejemplo de restar TPR al FPR conocido el valor de γ asociado de cada par.

Suponiendo que la ROC es una función monótonamente creciente, para obtener el γ adecuado, podemos dibujar $TPR(\gamma) - FPR(\gamma)$ para un conjunto de valores de γ en un intervalo específico; bajo la hipótesis de que la ROC crece monótonamente, el máximo de la expresión $TPR - FPR$ representará el γ que maximiza la tasa de acierto y minimiza la tasa de fallo.

4.6.3. Inclusión en el realce multiespectral.

En lugar de llevar a cabo un procedimiento de clasificación, se puede dejar esa decisión al cirujano y pintar en dos colores que contrasten apropiadamente las PDF estimadas. Como tenemos la PDF evaluada para cada píxel, podemos generar dos espectros de color ψ_A, ψ_B y sumar, a cada píxel, los espectros ponderados según los valores de las PDFs en ese punto:

$$\mathbf{g}_{k,enhanced} = \mathbf{g}_k + K \left(\hat{f}(\mathbf{a}'_k|H_A) \cdot \psi_A + \hat{f}(\mathbf{a}'_k|H_B) \cdot \psi_B \right). \quad (4.22)$$

Otras transformaciones también son válidas. El punto clave está aquí en codificar las PDF en color, de forma que sea el cirujano el que decida, con más libertad, hasta dónde llega lo benigno y hasta dónde llega lo maligno en la imagen.

Con este capítulo, quedan explicados todos los métodos llevados a cabo para determinar los márgenes. Sólo queda observar sus resultados; en la primera página del Anexo, se ofrece un pequeño diagrama con las operaciones que hemos descrito hasta aquí.

Capítulo 5

Resultados experimentales

”Por muy bella que sea tu estrategia, deberías mirar ocasionalmente sus resultados.”
— Winston Churchill

5.1. Métodos de realce multiespectral

Los métodos de realce multiespectral poseen una respuesta cualitativa, por lo cual sólo es posible llegar a conclusiones analizando casos particulares de interés, y verificando los resultados obtenidos en cada método. Estas imágenes están disponibles para todos los especímenes en el Anexo.

5.1.1. Algunos ejemplos ilustrativos

Realce multiespectral en los picos de absorción de la hemoglobina. Al utilizar los métodos originales de Hashimoto y Mitsui, la amplificación es tan pequeña que resulta poco perceptible, así que se han elegido pequeñas sub-bandas de absorción en torno a los 545 y los 575 nanómetros, con un ancho de unos 10 nanómetros.

Realce multiespectral en los máximos de reflectancia de la hemoglobina. Parece lógico probar también a realzar allí donde la reflectancia (magnitud leída por el sistema de medida) sea máxima para un cromóforo omnipresente como puede ser la hemoglobina.

Realce multiespectral en la longitud de onda más baja. Ya que, según el modelo empírico, los espectros siguen una forma exponencial del tipo $A\lambda^{-b}$, parece lógico tratar de amplificar lo que ocurre donde la diferencia entre valores de A, b es mayor – esto es, en los primeros datos de reflectancia.

En estos casos, se muestran los resultados directos, no la imagen original. Para una visualización del color original (fotografía y espectro reconstruido) de cada una de las muestras, se recomienda revisar cada perfil del Anexo. Si la resolución no es suficiente, utilice como referencia la imagen superior derecha de cada figura: como verá más adelante,

el método "Mitsui Abs" apenas realiza ninguna modificación, y puede considerarse como imagen de referencia.

Ya que se pueden aproximar los datos con alta calidad con L componentes principales, se ha decidido que el residuo a amplificar son los datos explicados por los $L/2, L/2+1, \dots, r$ últimos vectores singulares. Siguiendo la notación de la Sección 3.6.3, estamos tomando un J igual a $\text{round}(L/2)$. Dicha selección de J es elegida con un propósito ilustrativo, puesto que de mostrar todos los posibles valores de J desde 1 hasta L no entrarían en una página. En los títulos de cada imagen, se indica el número de componentes principales usadas en el método. En las columnas segunda y tercera, el número que se indica es J .

Picos de absorción de hemoglobina (545, 575 nm)

La relación de amplificación de cada tejido depende estrictamente de su posición en la Figura 2.2. Los distintos tipos de tejido van ordenados, de mayor a menor reflectancia media, como sigue: (1) Normal, (2) Tumor benigno, (3) Carcinoma Ductal in Situ (DCIS), (4) Carcinoma Ductal Invasivo (IDC), (5) Carcinoma Lobular Invasivo (ILC), (6) Tejido adiposo, (7) Tejido inflamado.

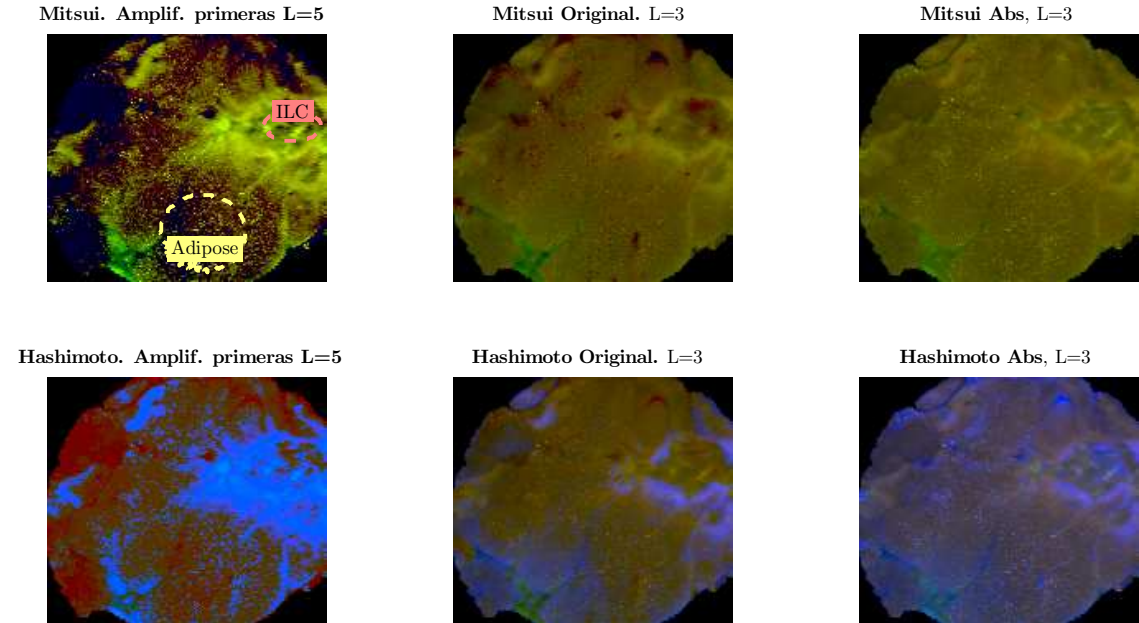


Figura 5.1: Realce de una muestra de ILC+Adiposo (Muestra 23). $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 20$.

Considere la Figura 5.1. En la primera de las imágenes, se disponen las Regiones de Interés estipuladas por el patólogo. Son estas áreas de la imagen las que deberemos

analizar apropiadamente. Las figuras de la primera columna amplifican las componentes principales, y éstas poseen una zona de alta reflectancia respecto de la media en estas longitudes de onda (al menos, mayor que Adiposo – ver Figura 2.2). La segunda y tercera columna realzan los residuos. Como se puede contemplar, las componentes residuales muestran reflectancia superior en las zonas donde debería haber más contenido de hemoglobina – a los alrededores de un tumor invasivo, en el tejido normal.

El siguiente ejemplo explica la jerarquía de reflectancia media. En la Figura 5.2, se amplifica en las mismas longitudes de onda una imagen con tejido normal (sano), y un Cáncer Ductal Invasivo. El tejido normal es mucho más reflectante que el CDI (al menos, de media) y es éste el amplificado en la primera columna.

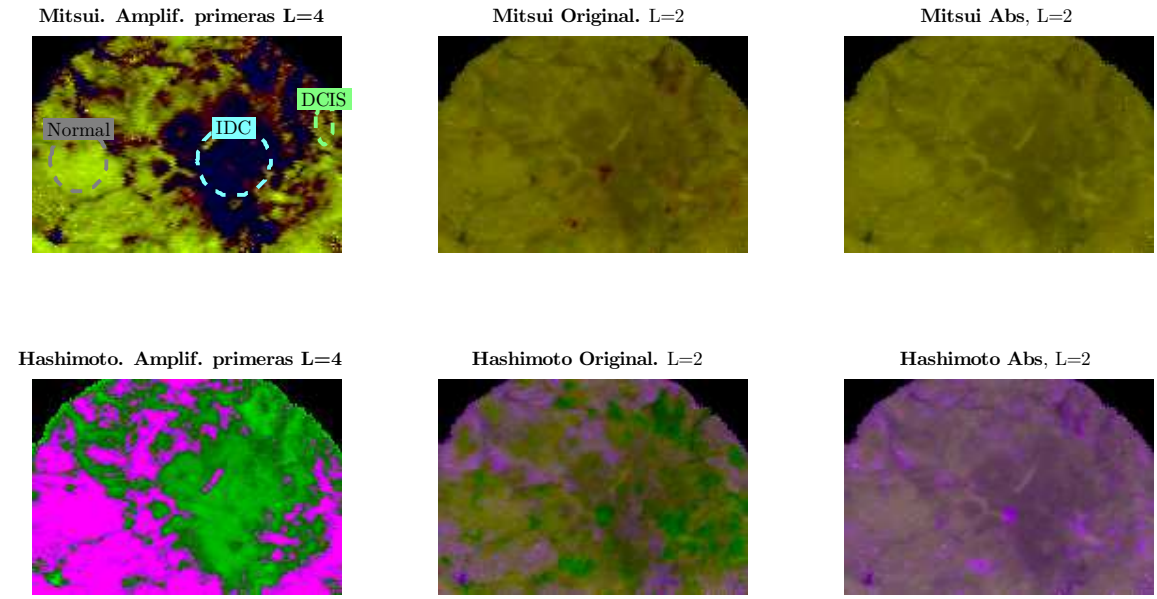


Figura 5.2: Realce de una muestra de Normal+DCIS+IDC
(Muestra 24). $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 20$

Si eliminamos las componentes espectrales más frecuentes, y seguimos el método tradicional (segunda columna), amplificamos las variaciones espectrales por encima de la media en esas frecuencias. Hashimoto permite ver qué se amplifica (la zona de Adiposo), y Mitsui muestra un efecto peculiar: ya que se amplifican las zonas con bajo contenido en hemoglobina (con reflectancia en el residuo por encima de la media), al integrar los espectros amplificados en 540 y 575 nanómetros la constante de normalización de la CMF, que se obtiene integrando el estímulo $\bar{y}(\lambda)$, da una tonalidad más roja a los tejidos menos amplificados. Esto se debe a que los tejidos con valores más altos de reflectancia

en los 550 nanómetros tienen una constante de normalización de la luminosidad k (ver: Ecuación 2,19) mucho menor, y al multiplicarse ésta por la coordenada X da valores de rojo más bajos. Este efecto es realmente interesante si hay presencia de hemoglobina en los tejidos, pero aun así es dependiente de la imagen.

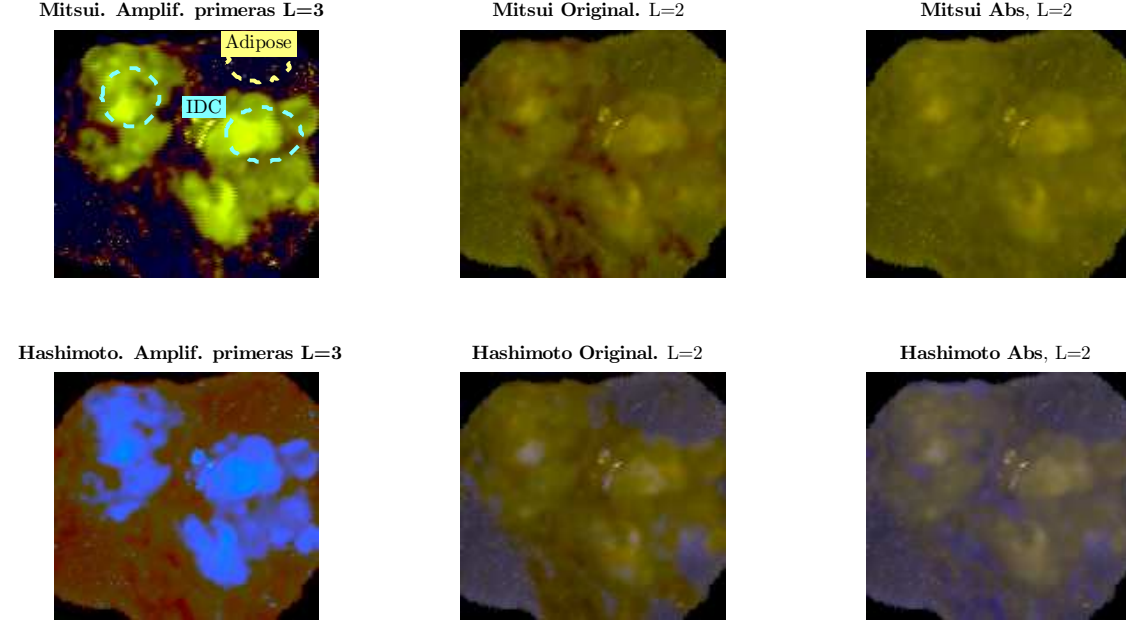


Figura 5.3: Realce de una muestra de IDC+Adiposo.
(Muestra 27). $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 20$

Si comparamos las Figuras 5.1 y 5.3, encontramos que, incluso cuando el tejido benigno es menos reflectante que el maligno, todas las ampliaciones basadas en Hashimoto nunca amplifican lo mismo. En la Muestra 23, las zonas de adiposo que rodean al tumor son las destacadas; en cambio, en la Muestra 27, todo el tejido adiposo es amplificado. Como ventaja, merece la pena destacar el gran contraste de las imágenes que amplifican las primeras componentes.

La irregularidad inherente a PCA para establecer siempre el mismo proviene de un concepto sencillo: la SVD de una matriz es única para cada matriz y, por tanto, los diferentes espectros pueden venir en mayor o menor cantidad y modificar el resultado de PCA, haciendo de estos métodos un sistema poco práctico para diagnosticar.

Desde un punto de vista práctico, **el método de Mitsui original parece ser el único capaz de destacar las zonas con mínimos de hemoglobina, y al mismo tiempo realzarlas con un color rojizo**, debido a la constante de normalización de las CMF y su influencia al obtener cada píxel en coordenadas XYZ. En la Figura 5.4 tenemos

otro ejemplo, aunque más sutil; en la última figura (Fig. 5.5) podemos contemplar el realce producido por Mitsui en una muestra con sangre.

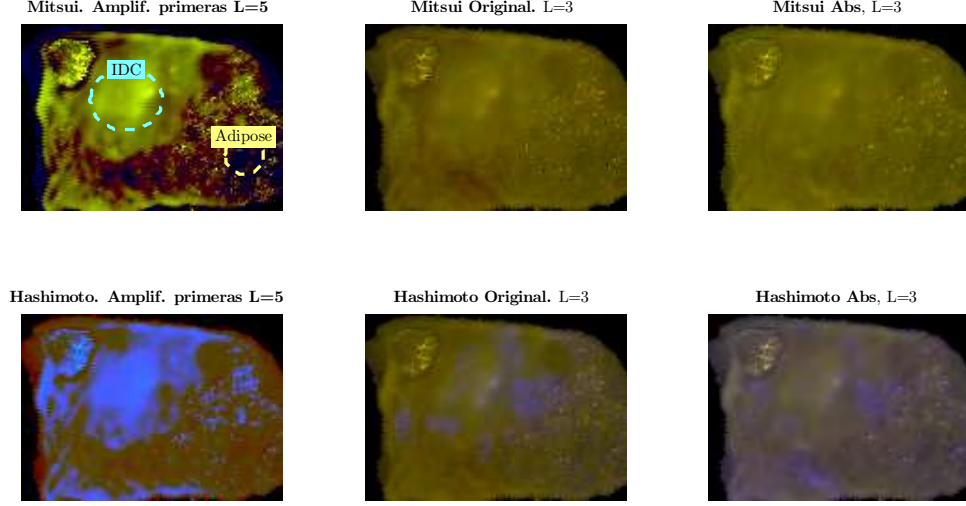


Figura 5.4: Realce de una muestra de IDC+Adiposo.
(Muestra 29). $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 20$

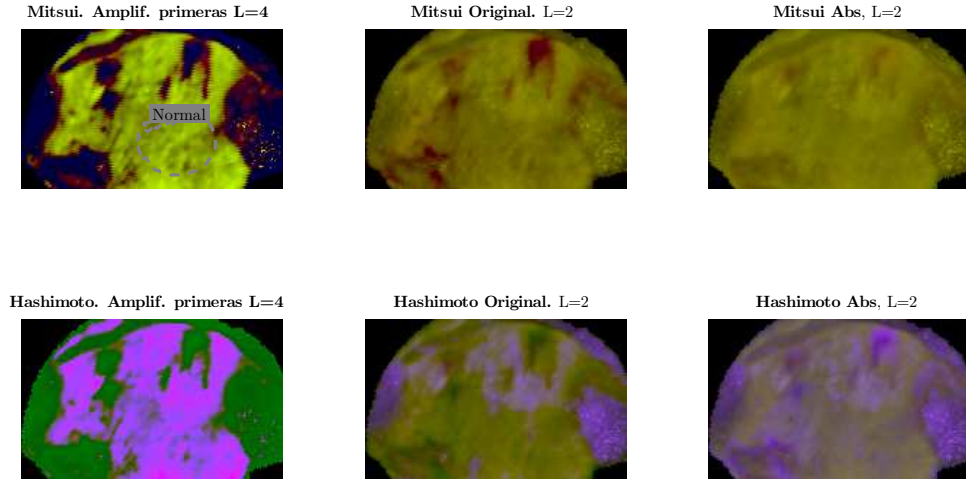


Figura 5.5: Realce de la sangre de tejido normal (Muestra 20). $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 20$

Máximo de hemoglobina (620 nm)

Si analizar los picos de absorción de la hemoglobina con Mitsui enrojece los objetos menos rojos, quizá analizar los picos de reflectancia proporcionará un resultado simétrico. En cierto modo, así es: mientras que los métodos de Mitsui no son capaces de destacar o realzar nada en particular, el método de Hashimoto original (y el de valor absoluto) realzan lo que realzaba Mitsui en los casos anteriores.

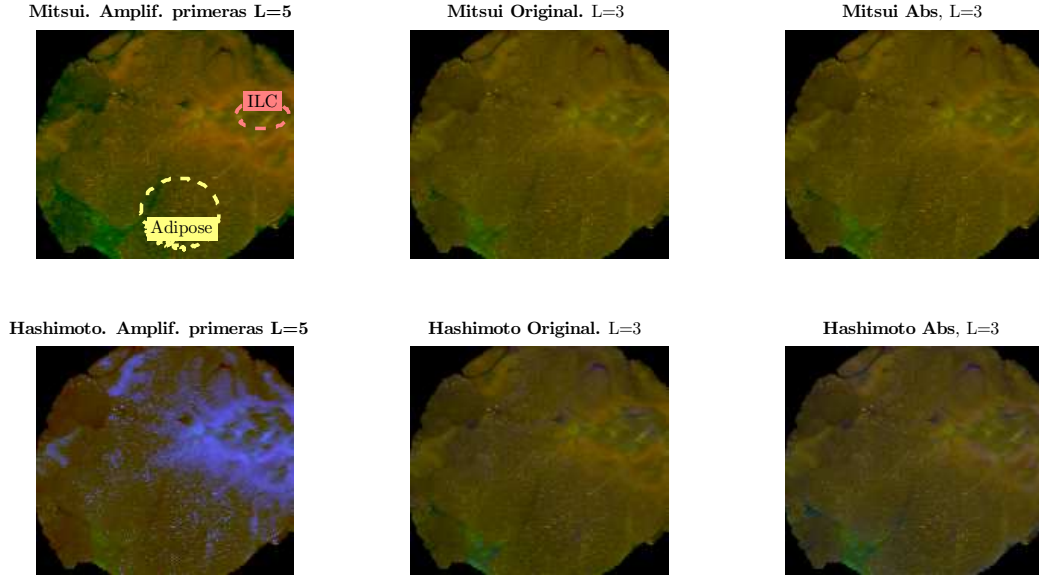


Figura 5.6: Realce de de reflectancia máxima de hemoglobina (620 nm) en una muestra de ILC+Adiposo. (Muestra 23). $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 100$

Aquí, el método original de Hashimoto colorea muy débilmente de azul las zonas con residuos de reflectancia levemente superior, y coinciden con las regiones que antes amplificaba Mitsui – sólo que ahora de un color azul. Este resultado es considerablemente menos grato que el anterior, pero no por ello menos importante.

Se puede decir, dados estos resultados, que **Mitsui puede utilizarse para determinar las longitudes de onda de absorción de la hemoglobina, mientras que Hashimoto debe utilizarse en zonas de reflectancia superior a la media.** Además, los métodos que amplifican los primeros vectores singulares proporcionan mejor contraste cuando hay tejidos diferentes.

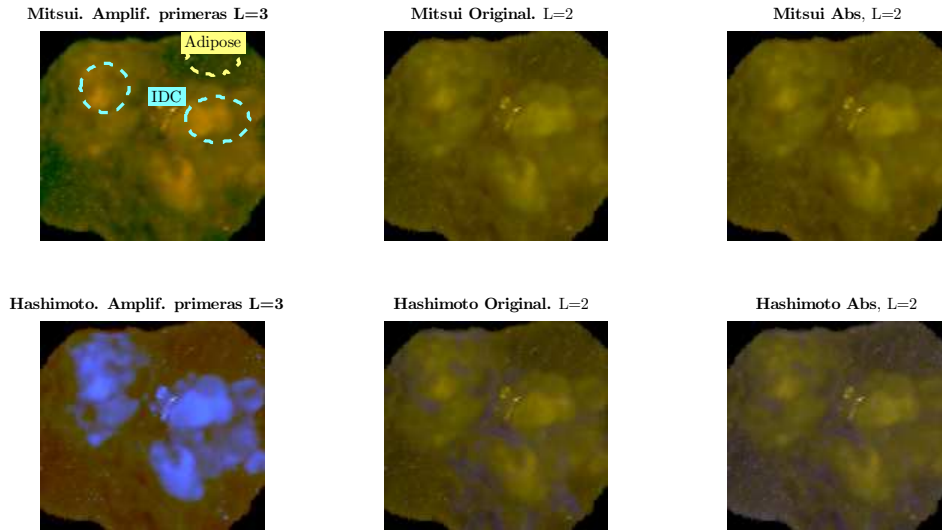


Figura 5.7: Realce de reflectancia máxima de la hemoglobina (620 nm) en la Muestra 27. $K_{Mitsui} = 50$, $K_{Hashimoto} = 100$

Primeras longitudes de onda (520 nm)

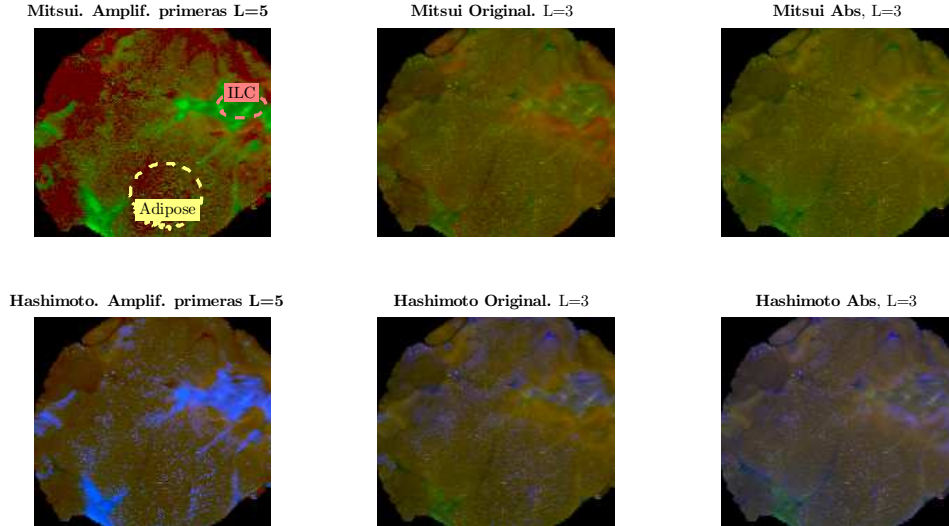


Figura 5.8: Realce de reflectancia(520 nm) en la Muestra 23. $K_{Mitsui} = 100$, $K_{Hashimoto} = 50$

En las primeras longitudes de onda, la diferencia entre reflectancias de tejidos diferentes es máxima, ya que todas las reflectancias exhiben una forma exponencial negativa respecto de la longitud de onda (modelo de esparcimiento de Mie y absorción espectral en reflectancia difusa). Bajo estas condiciones, siempre que se conozca de qué dos tejidos se compone un espécimen, podemos distinguir benigno de maligno sólo observando su reflectancia respecto de la media. Dejamos aquí las muestras 23, 24 y 27.

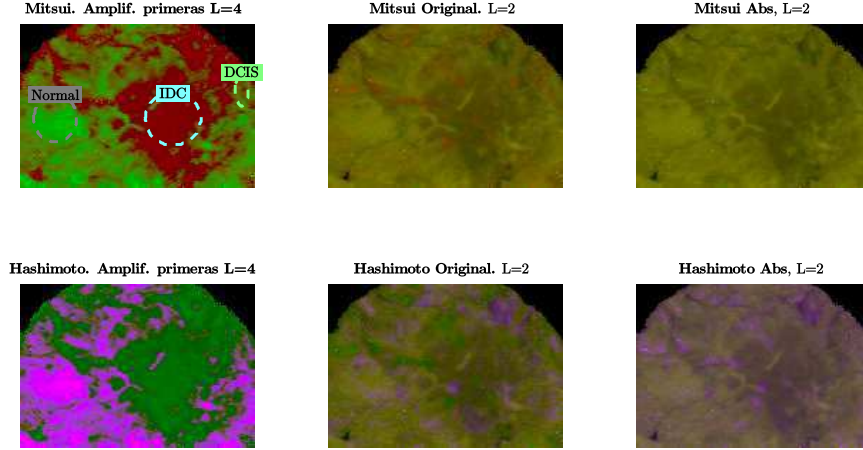


Figura 5.9: Realce de reflectancia(520 nm) en la Muestra 24.
 $K_{Mitsui} = 100$, $K_{Hashimoto} = 50$

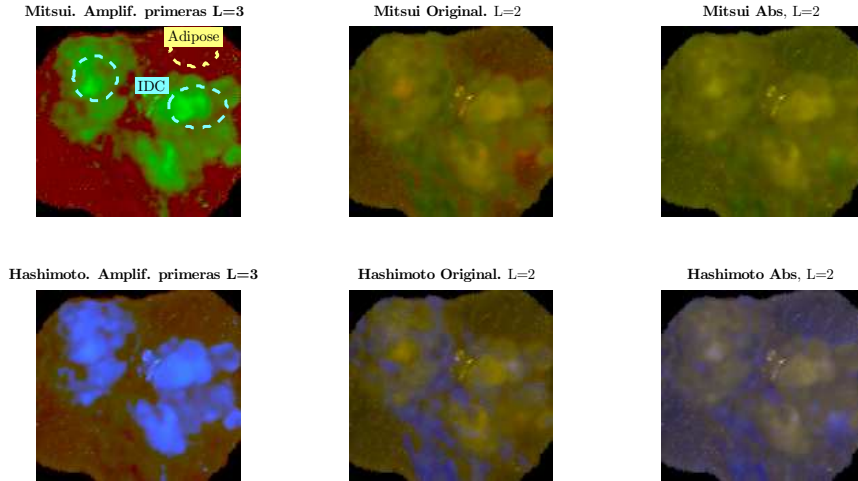


Figura 5.10: Realce de reflectancia(520 nm) en la Muestra 27. $K_{Mitsui} = 100$, $K_{Hashimoto} = 50$

5.2. Clasificador de direccionalidad espectral

5.2.1. Metodología de obtención de resultados.

Para determinar la calidad de un clasificador, a diferencia de las técnicas anteriores, necesitamos llevar a cabo una prueba de su capacidad de distinguir entre clases. Seguimos un procedimiento espécimen a espécimen; las estimaciones de la PDF en cada espécimen se utilizan únicamente en dicho espécimen (y no en otros, ni siguiendo un procedimiento Leave-One-Out).

- Se toma una muestra individual y se selecciona el 15 % de los datos etiquetados en ella de forma aleatoria.
- Se estima una PDF con los datos obtenidos de dicha muestra.
- Se evalúa la PDF con los demás píxeles de dicha muestra y se clasifican siguiendo la regla de clasificación ML.
- Se calcula la matriz de confusión TP/TN/FP/FN y demás parámetros; dichos valores obtenidos se guardan en una categoría según el tipo de tejido clasificado.
- Estos pasos (tomar el 15 % de los datos, estimar la PDF, evaluarla, calcular la bondad del estimador y guardar los parámetros que definen dicha bondad en la categoría que corresponde) se repiten un número de veces M para cada espécimen, puesto que la selección de los puntos es aleatoria. Así, se comprueba que los resultados positivos no se deben estrictamente al posicionamiento de los píxeles en la selección, al hacer el cálculo final:
- Al finalizar todos los especímenes, se calculan los resultados medios en cada categoría. La única condición aquí es que el número de veces que se han calculado los parámetros de bondad del clasificador para cada espécimen debe ser el mismo para todos los especímenes; en caso contrario, no obtendríamos los resultados medios.

5.2.2. Resultados globales.

Es preferible primero definir las propiedades del clasificador para llevar diagnósticos a cabo, y posteriormente explicitar cómo hemos obtenido estos resultados. Ilustramos, así, la capacidad del sistema para tomar decisiones.

Los resultados de clasificación son considerablemente buenos; cabe destacar que el único tejido que no se ha clasificado bien (DCIS), como bien se puede ver en el Anexo, sólo está formado por un único espécimen, con una ROI compuesta por unos cincuenta píxeles en total, haciendo la distinción con cinco píxeles aproximadamente (15 %) notablemente difícil.

Asimismo, es fundamental indicar que los valores de LR+, LR- y DOR se corresponden con los valores medios de aquellas clasificaciones que no hayan dado valores $LR+ = \infty$,

puesto que obtener la media de una lista con elementos de valor infinito no tendría sentido. Dada la frecuencia de estos valores infinitos en los resultados, es muy importante considerar que los parámetros LR+ y DOR escritos son inferiores a los reales.

	Maligno	Normal	DCIS	IDC	ILC	Inflam.	Adip.
FPR	0.0180	0.0431	0.1579	0.0250	0.0080	0.0051	0.0121
Sensibilidad	0.9478	0.9780	0.3891	0.9819	0.9864	0.9991	0.9886
Especificidad	0.9820	0.9569	0.8421	0.9750	0.9920	0.9949	0.9879
Precisión	0.9622	0.9648	0.8020	0.9810	0.9907	0.9955	0.9903
LR+/10^5	0.0012	0.0008	0.0002	0.0008	0.0026	0.0021	0.0016
LR-	0.0536	0.0238	0.6528	0.0191	0.0137	0.0009	0.0115
DOR/10^5	0.2913	0.1834	0.0002	0.1379	0.1978	1.0374	0.2319

Cuadro 5.1: Tabla de resultados para $L = 10$ constante. Cada columna representa la capacidad de distinción del tejido etiquetado con respecto a todos los demás.

	Maligno	Normal	DCIS	IDC	ILC	Inflam.	Adip.
FPR	0.0291	0.0179	0.3234	0.0432	0.0068	0.0042	0.0138
Sensibilidad	0.9810	0.9706	0.6273	0.9896	0.9832	0.9961	0.9872
Especificidad	0.9709	0.9821	0.6766	0.9568	0.9932	0.9958	0.9862
Precisión	0.9792	0.9784	0.6717	0.9772	0.9910	0.9958	0.9896
LR+/10^4	0.0128	0.0090	0.0002	0.0108	0.0161	0.0267	0.0319
LR-	0.0205	0.0306	0.4890	0.0118	0.0169	0.0039	0.0129
DOR/10^4	3.0622	2.2628	0.0004	3.2554	1.0704	5.3492	2.6547

Cuadro 5.2: Tabla de resultados para L dinámico.

5.2.3. Receiver Operating Characteristic. Elección del parámetro γ .

Se pueden tomar ciertas decisiones respecto al funcionamiento del clasificador. Una de ellas es la selección de L (que especifica la dimensión del problema direccional), y la otra es γ , el parámetro que elegimos en la clasificación. Han aparecido dos métodos estables a lo largo del desarrollo de este TFG:

- Tomar un L constante, suficientemente grande como para definir la mayoría de las muestras. La gran mayoría se definen con entre 3 y 5 vectores singulares, así que una cifra como $L = 10$ es suficiente.
- El método propuesto por Alma Eguizábal en PCA [10], que es el que corresponde con la Ecuación 3.12, pero desde el punto de vista de la SVD y la norma de Frobenius.

Definiendo un L constante. En análisis previos, se ha demostrado [10] que en la mayoría de los casos apenas se necesitan más de cinco o seis vectores singulares. Por tanto, definimos en primer lugar un L fijo. Las ROC para este caso son las de la Figura 5.11. Asimismo, podemos estimar dónde está el máximo de dicha ROC restando el *True Positive Rate* al *False Positive Rate*, obteniendo una Figura como la 5.12. **El clasificador óptimo es aquél tal que $\gamma = 1$ (Clasificador de Máxima Verosimilitud) como imaginábamos inicialmente.**

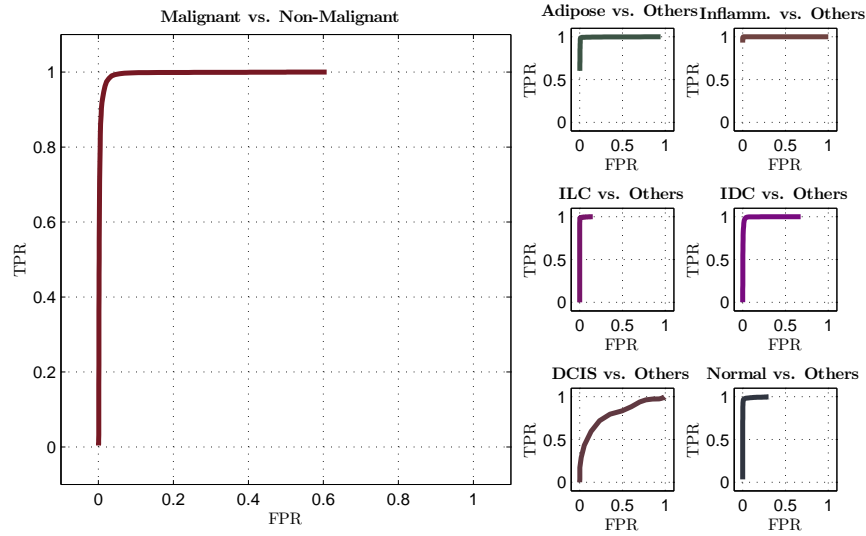


Figura 5.11: Característica de Operación del Receptor (ROC) para el clasificador de dimensión constante $L = 10$. La ROC es muy próxima a la de un clasificador ideal.

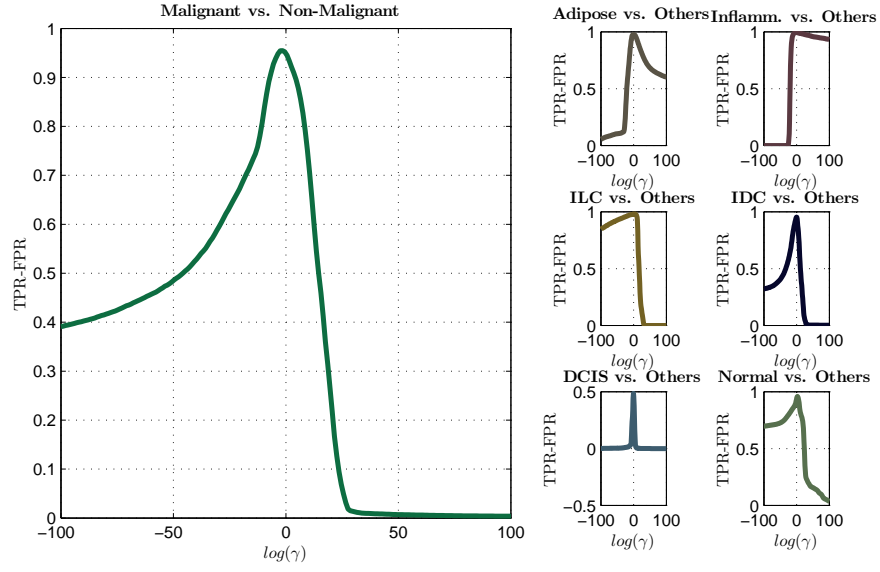


Figura 5.12: Valor de γ que maximiza la posición del sistema en la ROC ($L = 10$ constante). $\gamma = 1$ es una constante suficientemente buena.

Eligiendo un L dinámicamente. En este caso, $\gamma = 1$ sigue siendo el valor que maximiza la True Positive Rate y minimiza la False Positive Rate.

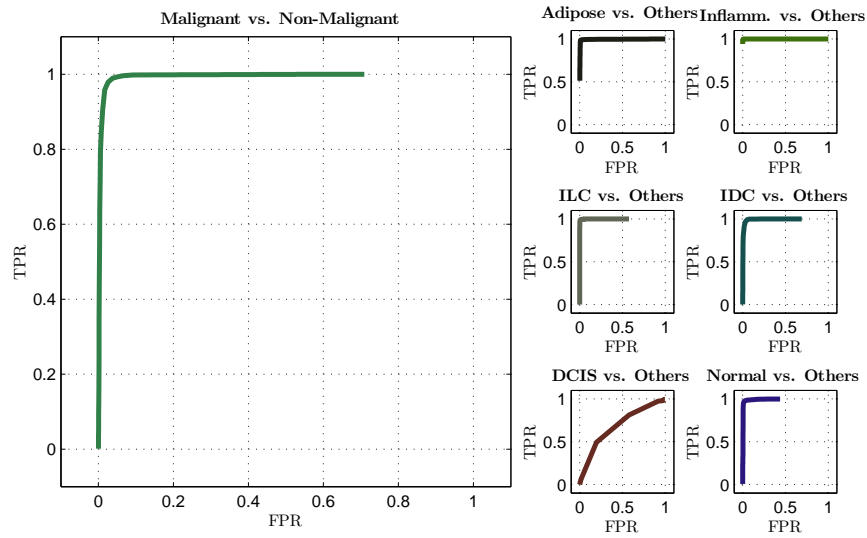


Figura 5.13: Característica de Operación del Receptor (ROC) para el clasificador de dimensión dinámica.

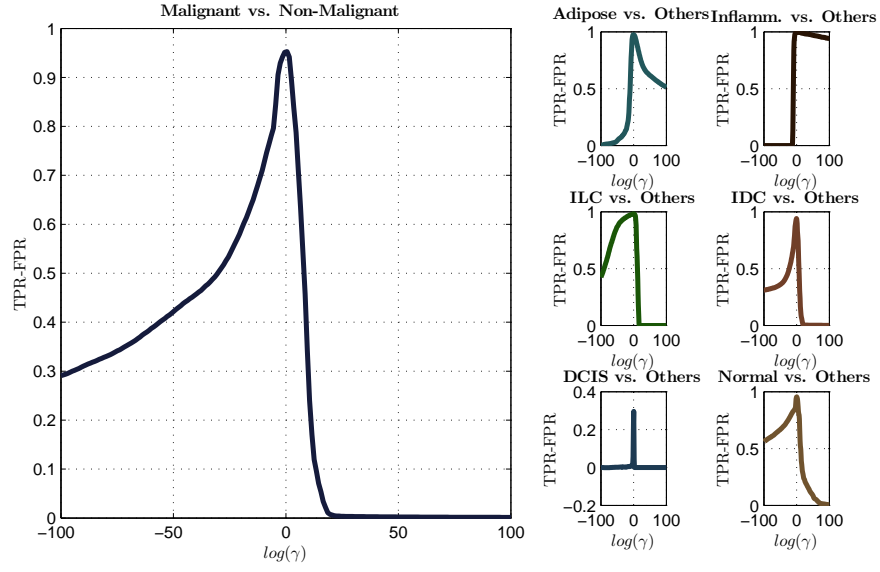


Figura 5.14: Valor de γ que nos deja en la esquina superior izquierda de la ROC ($L = 10$ constante). $\gamma = 1$ es óptima.

5.2.4. Algunos ejemplos ilustrativos

En primer lugar, es buena idea mostrar, paso a paso, cada una de las acciones que se llevan a cabo durante el proceso de realce. Para ello, es buen ejemplo la Muestra 23, que posee un Carcinoma Ductal Invasivo rodeado de tejido adiposo. Suponga, como paso preliminar, que ya se ha llevado a cabo la matrización. El primer paso es el de la Figura 5.15; las señales de reflectancia se normalizan mediante la SNV. El procedimiento centra los espectros y los divide por la varianza de cada espectro. Los vectores ya no son valores de reflectancia desde un punto de vista físico, pero éstos quedan mejor ordenados.

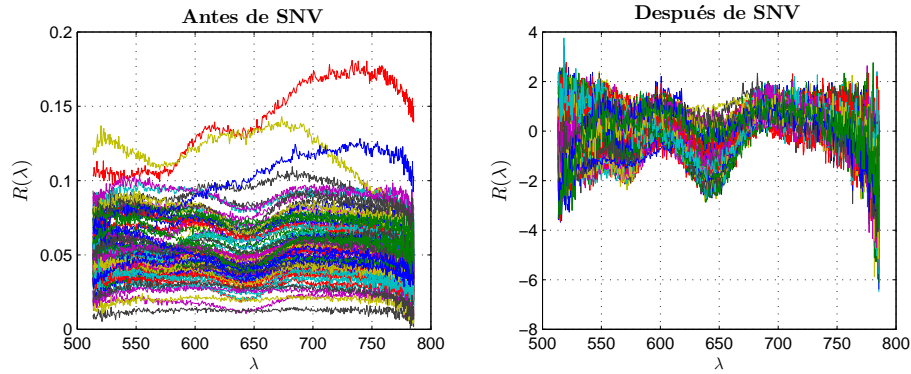


Figura 5.15: Resultado de realizar la operación Standard Normal Variate sobre cada vector por separado.

El siguiente paso es encontrar los primeros L vectores singulares que definen la mayoría de los datos. Éstos son los que se han representado en la Figura 5.16. Con estos vectores, utilizando el criterio de Alma Eguizábal, las siguientes contribuciones a la varianza son del orden de un 1 % respecto de las contribuciones ya utilizadas.

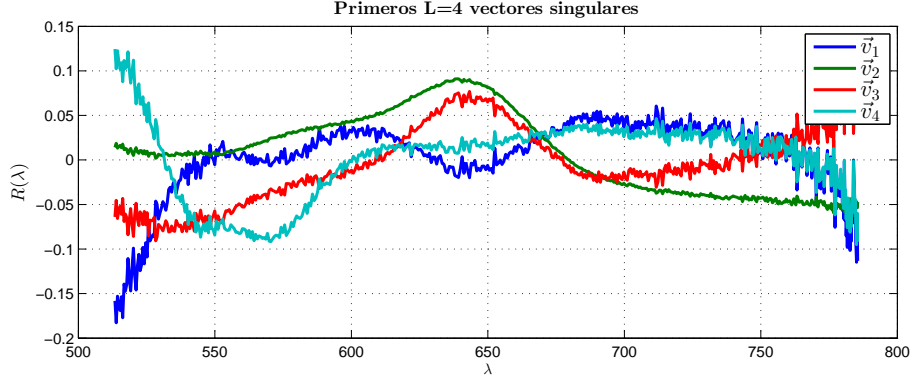


Figura 5.16: Con estos cuatro vectores singulares se puede explicar la mayoría de los espectros.

En el espacio definido por estos vectores, podemos representar cada espectro con cuatro coordenadas. Las primeras 3 dimensiones del espacio de cuatro dimensiones se pueden dibujar como una nube de puntos (Figura 5.17, Izquierda). Cada punto representa un vector que parte del origen y termina en ese punto; una representación de los vectores sería mucho menos visual.

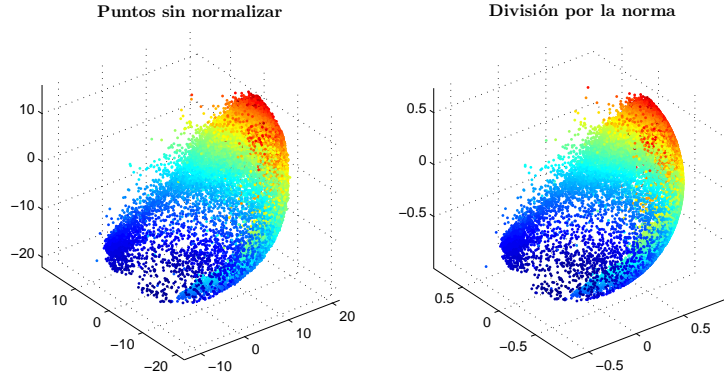


Figura 5.17: **Izquierda:** Puntos representados en las primeras tres dimensiones de un espacio de señal. **Derecha:** Resultado de normalizar. El color es el valor de la coordenada Z , para poder visualizar la forma esférica de los datos.

Un resultado peculiar de la SNV es que, al forzar que cada vector tenga varianza unidad, las coordenadas de cada espectro quedan en una esfera de radio constante. Hay

que destacar que esto no ocurre si se resta la media, o si se hace la SVD de los datos sin preprocesar; eso sí, los resultados de estos procedimientos son peores, aunque similares. El paso siguiente es normalizar; la división por la norma de cada vector deja la nube de puntos dispuesta sobre una esfera de radio unidad (Figura 5.17, Derecha).

A continuación, se selecciona el 15 % de los puntos de las ROIs de forma aleatoria. Los elegidos en la vez que se ha ejecutado el método para mostrarlo aquí son los de la Figura 5.18. Estas ROIs se corresponden con la segunda imagen (con la etiqueta 'Regions Of Interest') por la izquierda de la Figura 5.19. En este caso, los puntos blancos son los que se corresponden con un '1' en cada máscara binaria (hay dos, la amarilla (adiposo) y la roja (ILC)). El cáncer se establece siempre como hipótesis positiva (H_1) y todo lo que no sea cáncer se define como hipótesis negativa (H_0).

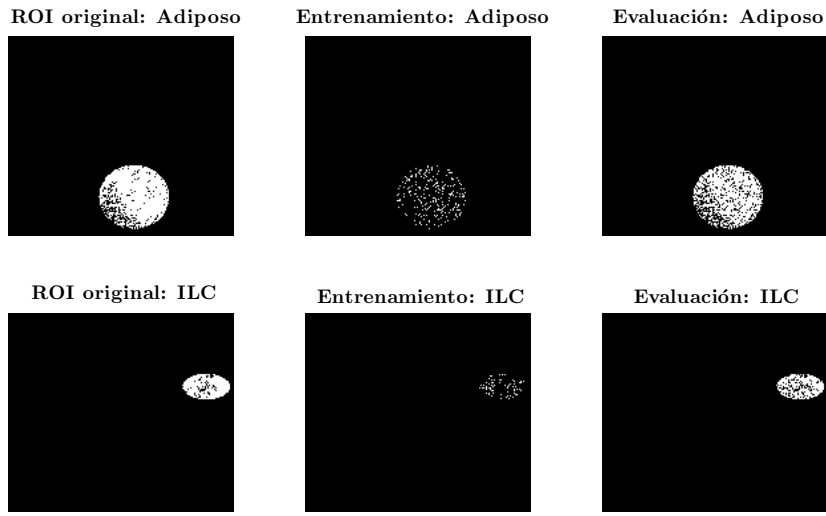


Figura 5.18: **Columna izquierda:** ROIs recién extraídas de la base de datos. **Centro:** Selección aleatoria del 15 % de esos píxeles. **Columna derecha:** El resto de píxeles son utilizados en el cálculo de las TP/TN/FP/FN y sucesivos parámetros.

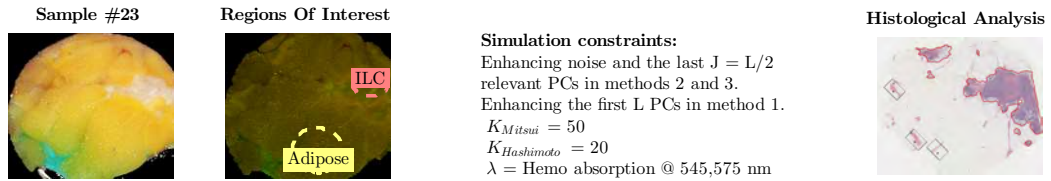


Figura 5.19: Imagen en blanco, ROIs de interés y análisis histológico de la Muestra 23.

Este 15% de puntos son los utilizados en el Estimador Kernel Direccional. Para representar estos puntos y diferenciarlos de los demás, los hemos rodeado de círculos negros en la Figura 5.20. En esta figura podrá contemplar, en color, el valor de las PDF evaluadas en cada uno de los puntos. Los puntos usados para entrenar tienen a su alrededor una circunferencia que permite su localización y, al mismo tiempo, ver el color de los demás puntos. En el caso de los puntos del tumor, éstos están tan concentrados en una posición (nube de puntos abajo a la izquierda) que es difícil ver los altos valores que toma la pdf en el resto de píxeles donde hay tumor.

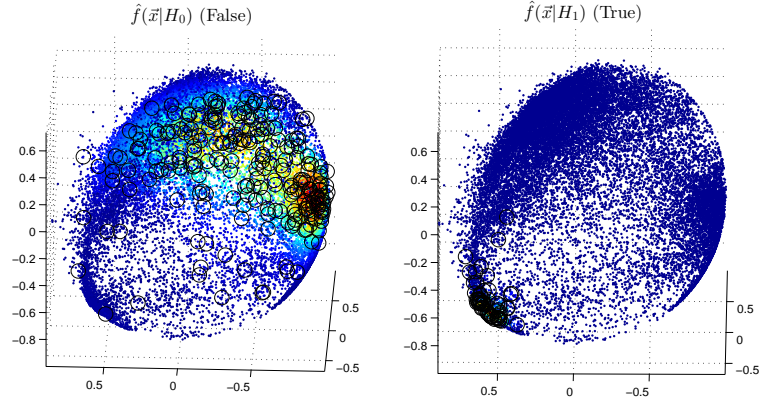


Figura 5.20: Valor de las PDFs de ambas hipótesis en los demás píxeles a partir de los datos de entrenamiento.

La clasificación ML se hace a partir de la diferencia $f_1 - f_0$, siguiendo el criterio de la Ecuación 4.20. Esta clasificación se puede dibujar como en la Figura 5.21. Aquí, los puntos de color rojo dan positivos para el criterio de máxima verosimilitud, mientras que los demás dan negativos.

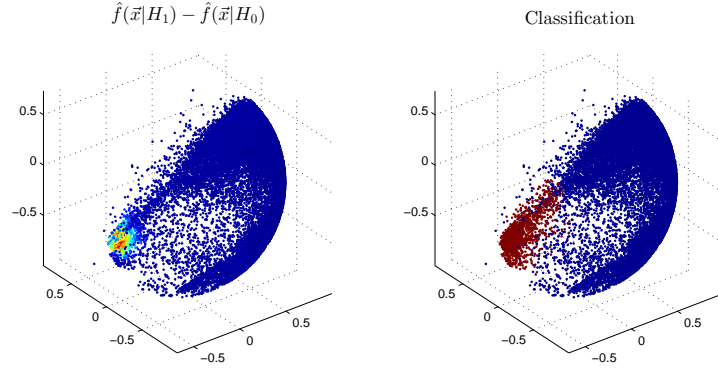


Figura 5.21: Izquierda: Diferencia de PDFs. Derecha: Clasificación final.

Reordenando la matriz obtenida mediante matrización en un tensor, se puede tomar éste y se llevarse a cabo un procedimiento de reconstrucción espectral a RGB como el especificado en el Capítulo 2 (Figura 5.22, Imagen central). Asimismo, es posible sumar a cada píxel dos colores (aquí se han elegido rojo y verde), cuyas intensidades son dependientes de sus resultados al evaluar ambas PDFs, y entonces llevar a cabo el procedimiento de reconstrucción espectral. Los colores brillantes de rojo y verde resaltarán, con útil contraste, los valores de probabilidad de ser tumor o no tumor estimados.

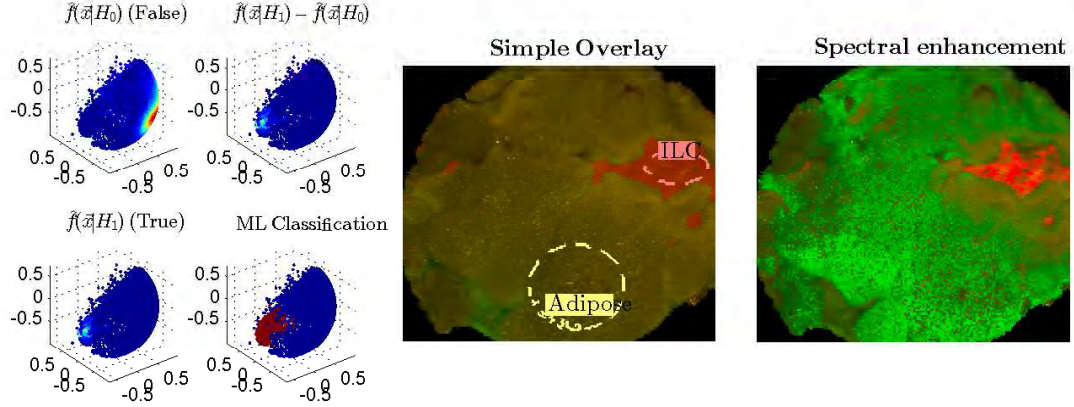


Figura 5.22: Muestra 23 (ILC+Adiposo).

Podemos destacar especialmente que, en ocasiones, el clasificador elimina información muy interesante que el realce espectral basado en los estimadores no elimina. En este caso, las zonas rojizas (pero no rojas) sugieren que existe tejido maligno debajo de la capa superficial. El rayo de luz del sistema confocal tiene una profundidad de penetración finita, no es sólo superficial. La reflectancia retroesparcida simple puede devolver un espectro "mezcla" de todos los que hay a cierta distancia del eje óptico, obteniendo este efecto. Observando la Figura 5.24, queda confirmado que realmente existe tejido maligno debajo de esos bordes benignos.

Otro ejemplo que ilustra la capacidad de clasificación del sistema es la Muestra 24 (Figura 5.23). La forma obtenida por el clasificador es exactamente la de la Figura 5.24. Sólo hacen falta $L = 2$ dimensiones para clasificar (el mínimo para que hablemos de *direccionalidad*), así que el lugar de los puntos en dos dimensiones de radio unidad donde pueden estar los datos es la circunferencia de radio unidad que se visualiza a la izquierda. Con estas dos dimensiones es suficiente para **obtener el contorno exacto del tumor ILC en el análisis histológico**. El único defecto, como se puede observar, es el área marcada como DCIS. Su superficie en píxeles es tan pequeña que con un 15 % (cinco, diez píxeles) la clasificación no obtiene los resultados esperados. Para conocer la capacidad de clasificación de DCIS en este sistema, es necesario obtener más muestras donde éste aparezca.

Una última nota: En los casos del Anexo donde encuentre una imagen con sólo Adiposo y Normal, se ha establecido 'Normal' como 'Hipótesis 1' y 'Adiposo' como 'Hipótesis 0'. Esto se ha hecho así con la intención de mostrar también la bondad del clasificador entre tejidos no malignos (y, ya que hay dos tipos de tejido, mejor mostrar una clasificación que un montón de tejido benigno pintado de verde).

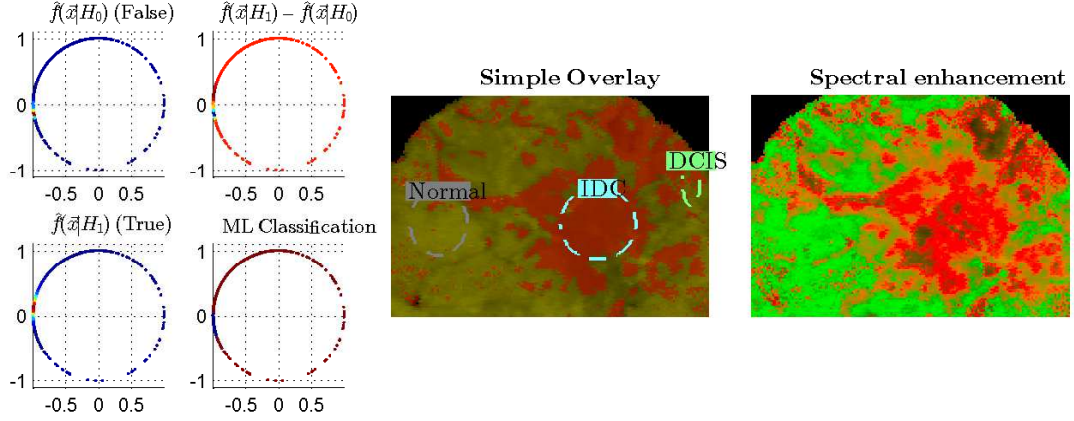


Figura 5.23: Muestra 24. La forma resaltada en clasificación se asemeja con notable precisión al contorno del tumor en el análisis histológico.

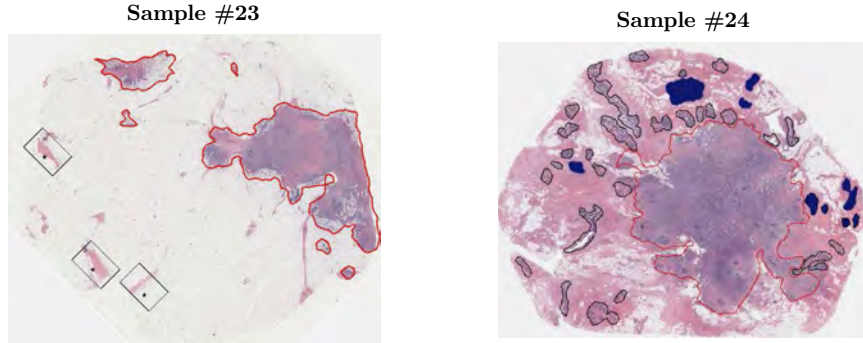


Figura 5.24: Resultados histológicos de las muestras 23 y 24. La forma oculta bajo la superficie de la Muestra 23 y la forma del tumor de la Muestra 24 muestran la capacidad de precisión y penetración del sistema de clasificación.

Se muestran, a continuación, algunos de los resultados del Anexo; en particular, algunos resultados que merecen ser comentados o son interesantes por alguna razón particular. Como en este caso el programa simplemente lleva a cabo una clasificación, no hay que establecer ningún planteamiento en particular.

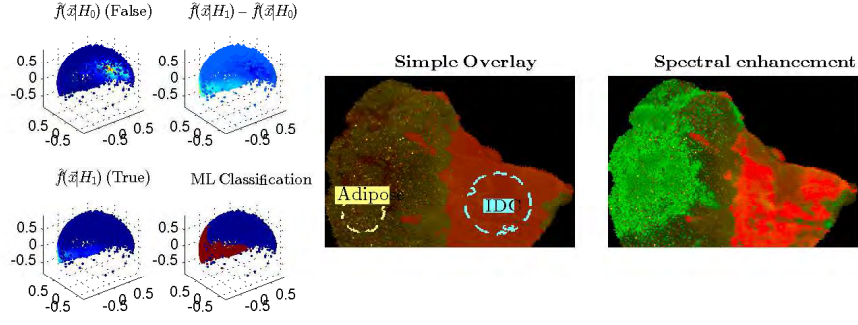


Figura 5.25: Muestra 21 (IDC+Adiposo). En el interior de la sección adiposa aparecen pequeñas porciones de tejido aparentemente maligno.

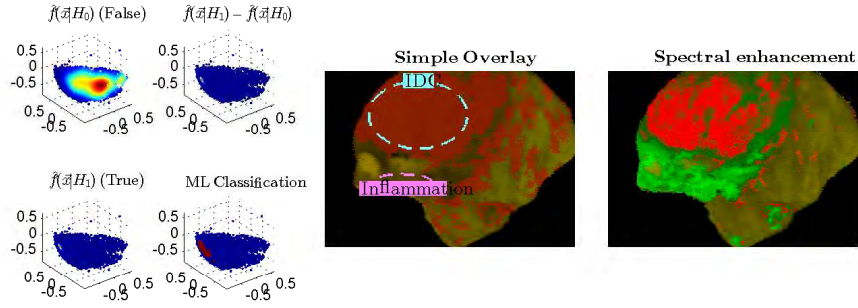


Figura 5.26: Muestra 25. El resultado interesante aquí es que el tejido inflamado, el IDC y el tejido normal existente en la foto son distinguibles entre sí.

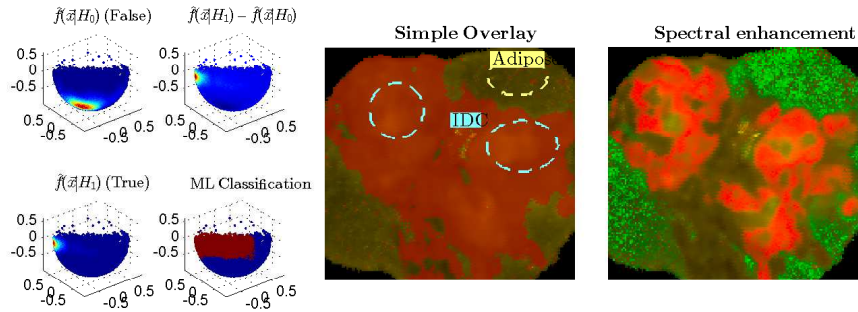


Figura 5.27: Muestra 27. Mientras que en el overlay se obtienen bordes precisos para el tejido especificado por la ROI, el procedimiento de realce multispectral proporciona las probabilidades de que cada píxel sea de un tipo u otro.

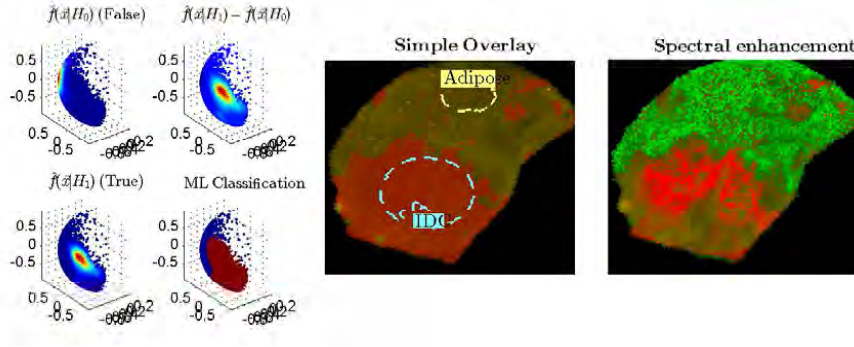


Figura 5.28: Clasificación de la Muestra 4 (IDC+Adiposo).
Los espectros de adiposo tienen fuertes variaciones respecto a la reflectancia media.

La Muestra 29 merece un párrafo que detalle lo que en ésta ocurre. Dicha muestra expone la desventaja de utilizar este método cuando se utilizan pocos píxeles, o los píxeles erróneos, para detectar. En esta muestra el resultado no es tan positivo como en los demás – existen variaciones en el tejido canceroso y éstas no entran en la ROI, así que tampoco entran en el clasificador, quedando visible un hueco de incertidumbre en el resultado de mejora multiespectral. La ROI se llena en el clasificador, pero en una situación clínica quizá convendría especificar más puntos de análisis (Figura 5.29). Aun así, las zonas marcadas son clasificadas correctamente.

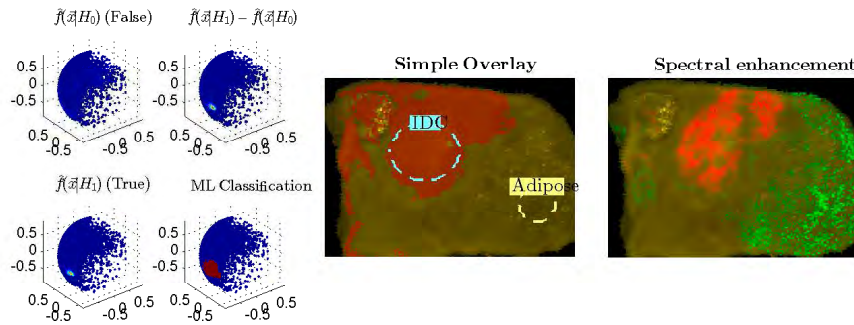


Figura 5.29: Muestra 29 (IDC + Adiposo).

Capítulo 6

Conclusiones

*”Electrical science has revealed to us the true nature of light,
has provided us with innumerable appliances and instruments of precision,
and has thereby vastly added to the exactness of our knowledge.”*
— Nikola Tesla

6.1. Resumen

Este trabajo ha comenzado estableciendo el contexto fundamental de todo procedimiento de cirugía con conservación de pecho. En estos métodos, la determinación de los márgenes queda dificultada ante la ausencia de partes diferenciables en todo tejido mamario. Establecer procedimientos capaces de diagnosticar o de identificar con fidelidad las diferencias entre tejidos tan difusos **durante la operación** tendría consecuencias muy positivas en las tasas de morbilidad y reaparición del cáncer de mama en cirugía BCT [3–6].

Con el propósito de contemplar las propiedades particulares del tejido conectivo/epitelial mamario, el Thayer School of Engineering desarrolló un sistema espectroscópico confocal, con el propósito de generar una amplia base de datos de especímenes, mediante la cual poder encontrar características ópticas diferenciadoras [12]. Existen numerosos artículos en los que características como la dispersión difusa y la reflectancia difusa simple es estudiada, permitiendo diseñar sistemas de sensibilidad y especificidad circa el 90-95 % [10, 12, 13], utilizando métodos como PCA+ICA, o clasificadores de *k nearest neighbors* (kNN).

Haciendo uso de la base de datos, se han expuesto dos trabajos principales. En el primero, la implementación de los métodos lineales propuestos originalmente por Mitsui y Hashimoto [24] llevó a la conclusión de que éstos poseen una baja capacidad de contraste. En su lugar, se han introducido nuevos métodos que no amplifican el residuo, sino las características más frecuentes e importantes disponibles en los datos: las características espectrales de las primeras componentes principales, que guardan relación con la respuesta espectral de los cromóforos presentes en el tejido. Con estos métodos nuevos, queda

a mano del cirujano saber si el tejido que más se amplifica es tejido normal, graso o tumoral, y deberá comprender lo que ocurre en PCA. De ser así, es posible determinar los márgenes con magnífico contraste, de forma totalmente ciega y sin entrenamiento, pero su aplicación clínica puede hacerse complicada, puesto que no tienen capacidad de diagnóstico.

El segundo trabajo principal trata sobre hallar un sistema capaz de clasificar o diagnosticar los tejidos presentes en la muestra. Tras reducir la dimensionalidad del problema utilizando la SVD de la matriz de datos, se utilizan unos pocos píxeles en un Estimador Kernel de Densidad Direccional para estimar las PDFs de las direcciones de los tejidos malignos y no malignos, para luego evaluar dichas PDFs el resto de píxeles de la imagen. Los resultados de precisión (*accuracy*), sensibilidad y especificidad son del 98 % en los tres casos, con un Diagnostic Odds Ratio de 30622 – algo muy positivo, teniendo en cuenta que un $\text{DOR} > 1$ ya relaciona positivamente un test de clasificación con la verdadera clase de los datos.

Todos los métodos quedan indicados, de forma simplificada, en el diagrama de la Figura 6.1 (siguiente página), así como los pasos en orden llevados a cabo desde los datos de partida hasta la imagen final. Es aquí donde se contempla la verdadera ordenación de los procedimientos explicados en el sistema final; de haber utilizado este orden para explicar cada subsistema, este documento habría resultado mucho más árido. Por lo general, en primer lugar se llevan a cabo las tareas de preprocesado y filtrado de los datos. Posteriormente, un método de reducción de dimensionalidad permite conocer características relevantes de los mismos, ayudando a la introducción de cada procedimiento de realce o clasificación. Una vez los procedimientos principales han finalizado, se utilizan técnicas de reconstrucción multiespectral para mostrar en una pantalla el espectro realzado.

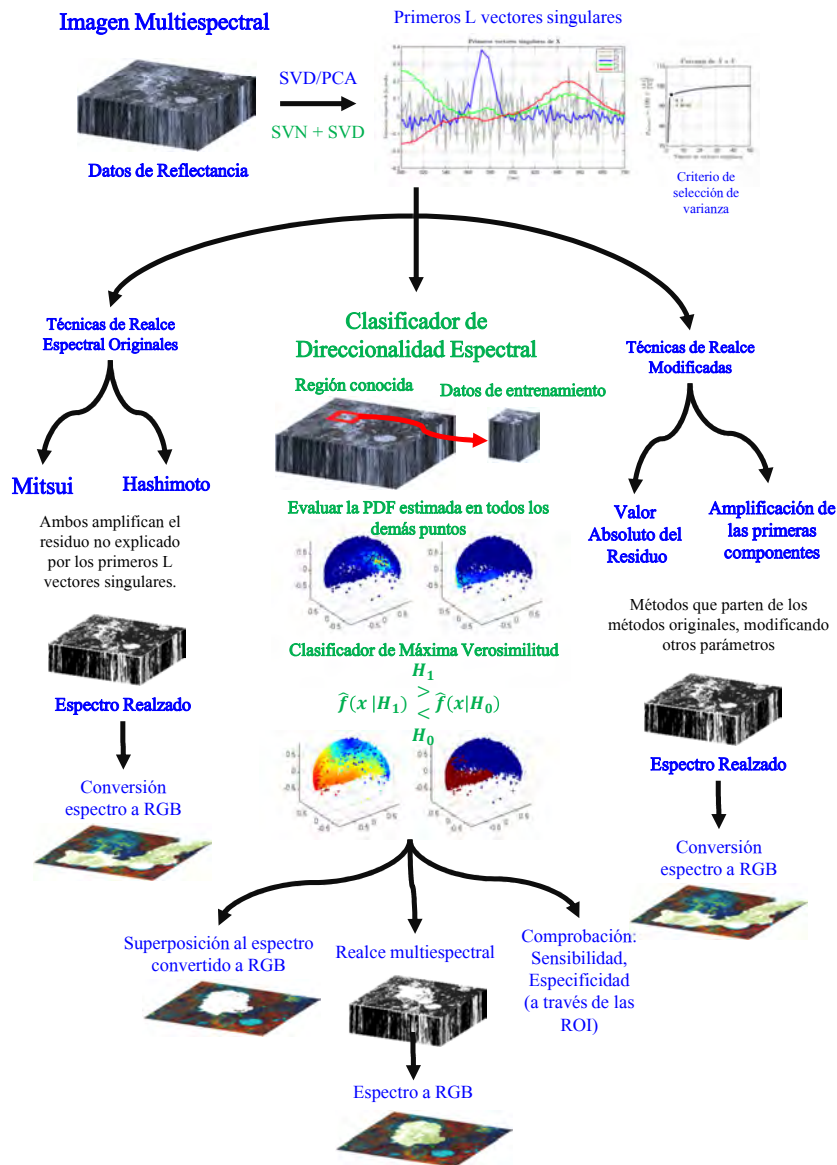


Figura 6.1: Diagrama completo de todos los sistemas utilizados.

Como conclusiones finales, podemos establecer las siguientes:

- Los métodos de realce multiespectral de Mitsui y Hashimoto pueden modificarse para obtener nuevas características espectrales de forma cualitativa.
- Sin embargo, todo método de realce multiespectral está limitado al contexto de cada imagen; si desconocemos qué tejido es el presente en la imagen, la determinación de los márgenes mediante técnicas de realce multiespectral se torna más complicada.
- Los sistemas de clasificación de la direccionalidad de señales espectroscópicas tienen una muy alta capacidad de diagnóstico en el análisis tisular epitelial mamario. En el caso presentado, está garantizada una sensibilidad y especificidad del 98 % a la hora de diferenciar tejido maligno de tejido no maligno.
- La cantidad de datos de entrenamiento necesarios para lograr buenas estimaciones de PDFs no es grande para el caso del Estimador Kernel de Densidad Direccional, haciendo posible construir una estima decente apuntando a reducidas regiones en la pantalla.
- Un clasificador ML es buen clasificador para el análisis de espectros de tejido mamario, bajo el montaje establecido.

Líneas futuras de desarrollo. El sistema está lejos de estar terminado, ya que existen multitud de metodologías que pueden mejorar sus resultados. Algunos de ellos son los siguientes:

- La estandarización de los datos con la SNV tiene buenos resultados en sistemas de medida de reflectancia difusa; sin embargo, existen procedimientos de estandarización basados en *wavelets* que quizá puedan hacer dicho procedimiento de forma eficiente, sin necesitar eliminar la media [25].
- En todos los procedimientos hemos utilizado la SVD/PCA, puesto que sólo se analizan las características espectrales de cada píxel (y, por tanto, sólo es interesante analizar cada vector por separado). En cambio, la utilización de métodos de Descomposición en Valores Singulares de Mayor Orden (*Higher-Order Singular Value Decomposition*), o MPCA, harían posible realizar una descomposición en valores singulares directamente sobre el tensor, sin que sea necesario efectuar su matrización. Incluso, podría proporcionar mayor información sobre el tumor y su fisiología.

Aportaciones de este trabajo. Los resultados de este Trabajo de Fin de Grado han sido incorporados en los trabajos siguientes, aceptados por la comunidad científica nacional e internacional:

1. Olga M. Conde, E. Real, A. Pardo, J. M. López-Higuera, "*Fiber-optic technologies for tissue diagnosis in cardiovascular and oncology applications*", 14th *International Conference on Optical Communications and Networks (ICOON 2015)*. Ponencia invitada de Olga M. Conde, los días 3-5 de Julio de 2015, en Nanjing, China.
2. A. Pardo, E. Real, Brian W. Pogue, José M. López-Higuera, Olga M. Conde, "*Realce multiespectral de tejidos tumorales*", en la *XI Reunión Nacional de Óptica*. Ponencia oral de A. Pardo, a exponer el 1-4 de Septiembre de 2015 en Salamanca, España. Esta ponencia, que trata del Clasificador de Direccionalidad Espectral, ha sido seleccionada como "*Outstanding contribution of a young researcher to the XI RNO*".

Bibliografía

- [1] R. Hesketh, *"Introduction to Cancer Biology – A Concise Journey from Epidemiology through Cell and Molecular Biology to Treatment and Prospects"*, 1st Ed., Cambridge University Press, 2013
- [2] American Cancer Society, *"Global Cancer – Facts & Figures"*, 2013, American Cancer Society, Inc.
- [3] Tari A. King, Patrick I. Borgen, *"Atlas of Procedures in Breast Cancer Surgery"*, 1st Ed., Taylor & Francis Group, London and New York.
- [4] Breastcancer.org, *"Your Guide to the Breast Cancer Pathology Report"*. Copyright 2013, breastcancer.org
- [5] A. Fituossi, MG Berry, B. Couturaud, R.J. Salmon, *"Oncoplastic and Reconstructive Surgery for Breast Cancer – The Institut Curie Experience"*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009
- [6] Karl von Smitten, *"Margin Status After Breast-Conserving Treatment of Breast Cancer: How Much Free Margin Is Enough?"*, Journal of Surgical Oncology, p. 585-587, 2008 Wiley-Liss, Inc.
- [7] Ashley M. Laughney, V. Krishaswamy, E. J. Rizzo, M. C. Schwab, R. J. Barth, Brian W. Pogue, K. D. Paulsen, W. A. Wells, *"Scatter Spectroscopic Imaging Distinguishes between Breast Pathologies in Tissues relevant to Surgical Margin Assessment"*, Clinical Cancer Research, Vol. 18(22); pp. 6315-6325. AACR, 2012.
- [8] Tomas Svensson, *"Pharmaceutical and Biomedical Applications of Spectroscopy in the Photon Migration Regime"*, Doctoral Thesis, Lund University, 2008.
- [9] S. Skripenova, L.J. Layfield, *"Initial Margin Status for Invasive Ductal Carcinoma of the Breast and Subsequent Identification of Carcinoma in Reexcision Specimens"*, Arch Pathol Lab Med – Vol 134, p. 110-114, January 2010.
- [10] A. Eguizábal, A. M. Laughney, P. B. García-Allende, V. Krishnaswamy, W. A. Wells, K. D. Paulsen, B. W. Pogue, J. M. López-Higuera, O. M. Conde, *"Direct identification of breast cancer pathologies using blind separation of label-free localized*

- reflectance measurements*", Biomedical Optics Express, 1 July 2013, Vol 4, No. 7, Optical Society of America.
- [11] P. B. García-Allende, V. Krishnaswamy, P. J. Hoopes, K. S. Samkoe, O. M. Conde, B. W. Pogue, "*Automated identificatiion of tumor microscopic morphology based on macroscopically measured scatter signatures*", Journal of Biomedical Optics Vol. 14(3), 034034 (May/June 2009)
- [12] V. Krishaswamy, P. J. Hoopes, K. S. Samkoe, J. A. O'Hara, T. Hasan, B.W. Pogue, "*Quantitative imaging of Scattering Changes Associated With Epithelial Proliferation, Necrosis and Fobrosis in Tumors using Microsampling Reflectance Spectroscopy*", Journal of Biomedical Optics, Vol. 14(1), 014004, 2010 January 29th.
- [13] A. M. Laughney, P. B. García-Allende, O. M. Conde, W. A. Wells, K. D. Paulsen, "*Automated classification of breast pathology uusing local measures of broadband reflectance*", Journal of Biomedical Optics 15(6), 066019 (November/December 2010)
- [14] Gustav Mie, "*Contributions on the Optics of Turbid Media, Particularly Colloidal Metal Solutions*", Annalen der Physik, Series IV, 25, No. 3 (1908), 377-445.
- [15] O. W. Petersen, L. Ronnov-Hessen, A. R. Howlett, M J. Bissell, "*Interaction with basement membrane serves to rapidly distinguish growth and differentiation patterns of normal and malignant human breast epithelial cells*", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 89, pp. 9064-9068, October 1992.
- [16] Janos Schanda, "*Colorimetry: Understanding the CIE System*", Wiley Interscience, 2007.
- [17] N. Ohta, A. Robertson, "*Colorimetry: Fundamentals and Applications*", 1st Ed., Wiley Series in Imaging Science and Technology, 2006.
- [18] P. Anuarbe Cortés, "*Colorimetría: Estado del arte*", Grupo de Ingeniería Fotónica.
- [19] Cleve Moler, "*Numerical Computing with MATLAB*", Chapter 10: "*Eigenvalues and Singular Values*". Society for Industrial and Applied Mathematics, Copyright 2004, Cleve Moler.
- [20] James W. Demmel, "*Applied Numerical Linear Algebra*", 1st Ed., Society for Industrial and Applied Mathematics, 1997.
- [21] Gilbert Strang, "*Linear Algebra and Its Applications*", 4th Ed., Cengage (previously Brooks/Cole) (2006).
- [22] I. T. Jolliffe, "*Principal Component Analysis*", 2nd Edition, Springer Series in Statistics, Springer, 2002.

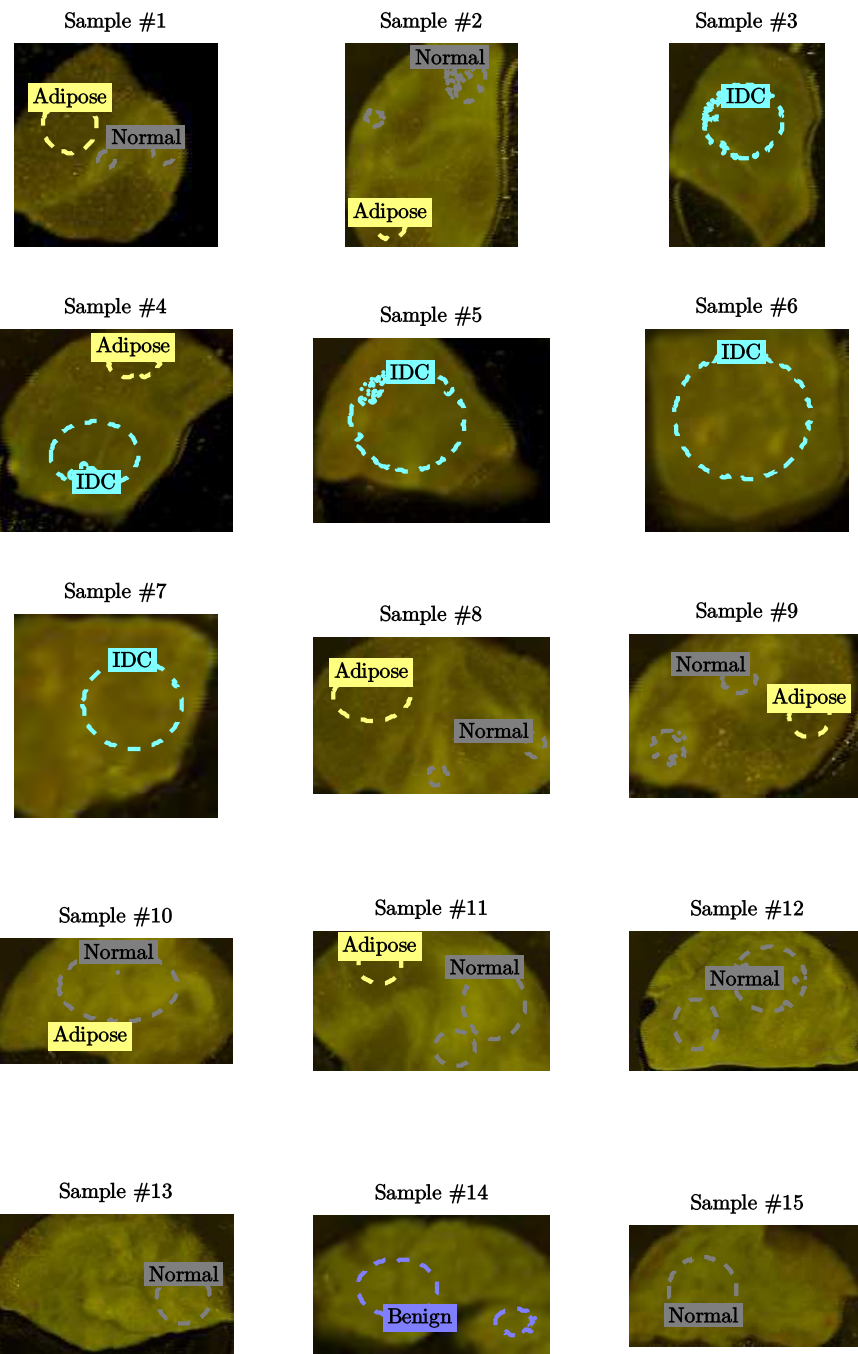
- [23] Daniel P. Berrar, Werner Dubitzky, Martin Granzow, "*A Practical Approach to Microarray Data Analysis*", Chapter 5: *Singular Value Decomposition and Principal Component Analysis*, Ed. Springer, IISBN: 978-0-306-47815-4
- [24] N. Hashimoto, Y. Murakami, P. A. Bautista, M. Yamaguchi, T. Obi, N. Ohyama, K. Uto, Y. Kosugi, "*Multispectral image enhancement for effective visualization*", Optics Express, 9 May 2011, Vol. 19, No. 10; published 28 Apr 2011.
- [25] R. J. Barnes, M. S. Dhanoa, S. J. Lister, "*Standard Normal Variate Transformation and De-trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra*", Journal of Applied Spectroscopy, Vol. 43, No. 5, pp. 772-777 (1989).
- [26] Timothy W. Randolph, "*Scale-based normalization of spectral data*", Cancer Biomark, 2006, 2(3-4), pp. 135-144.
- [27] David W. Scott, "*Multivariate Density Estimation: Theory, Practice, and Visualization*", Second Ed., Wiley Series in Probability and Statistics, 2015.
- [28] B. W. Silverman, "*Density Estimation for Statistics and Data Analysis*", First Ed., Chapman & Hall/CRC, 1998.
- [29] Z. D. Bai, C. Radhakrishna Rao, L. C. Zhao, "*Kernel Estimators of Density Function of Directional Data*", Journal of Multivariate Analysis, Vol. 17, p. 24-39 (1988).
- [30] Eduardo García-Portugués, Rosa M. Crujeiras, Wenceslao González-Manteiga, "*Kernel Density Estimation for Directional-Linear Data*", Journal of Multivariate Analysis, Vol. 121, October 2013, Pages 152-175.
- [31] Eduardo García-Portugués, "*Exact risk improvement of bandwidth selectors for kernel density estimation with directional data*", Electronic Journal of Statistics, Vol. 7 (2013), Pages 1655-1685.
- [32] Inderjit S. Dhillon, Suvrit Sra, "*Modeling Data using Directional Distributions*", Technical Report # TR-03-06, The University of Texas at Austin, 25 January, 2003, revised 7 June, 2003.

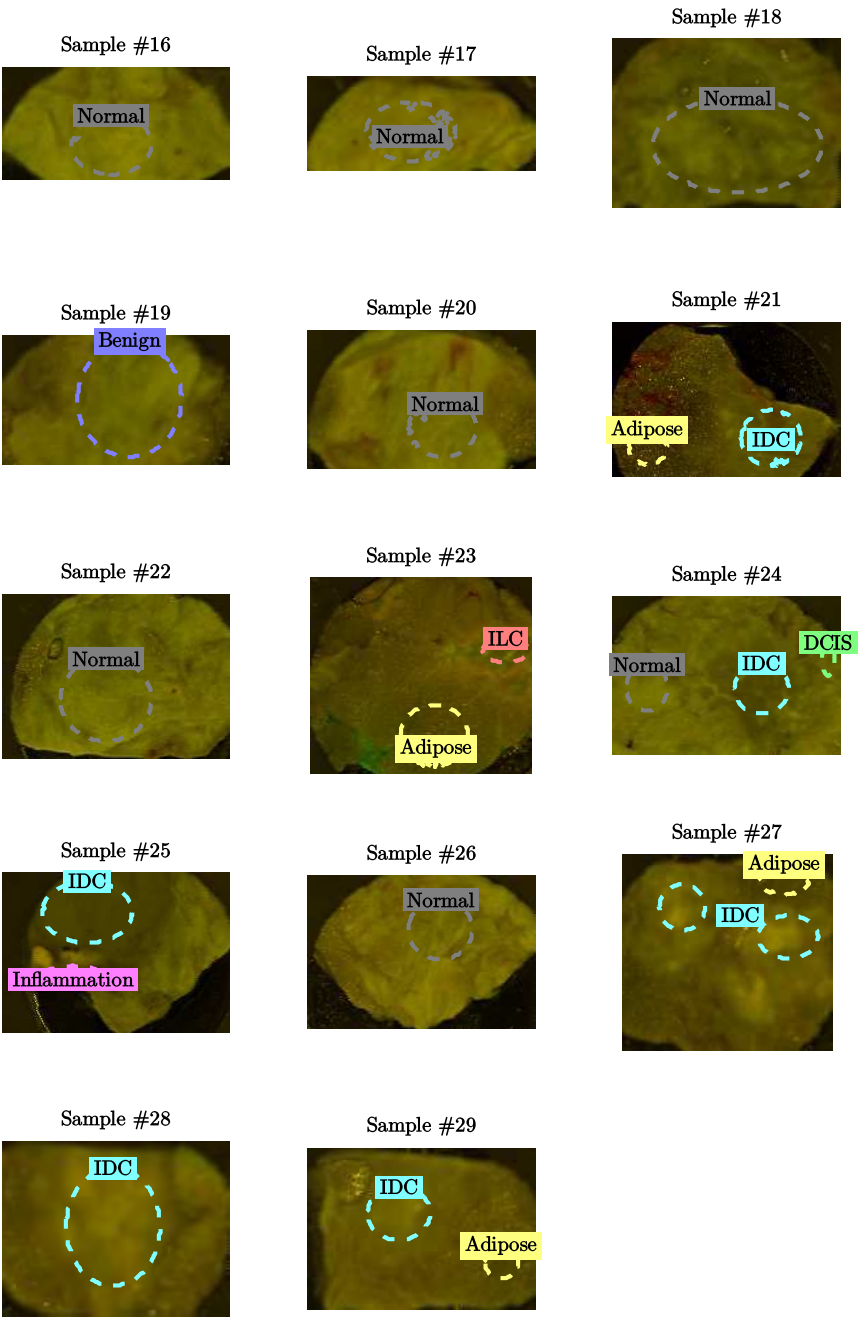
Anexo 1.

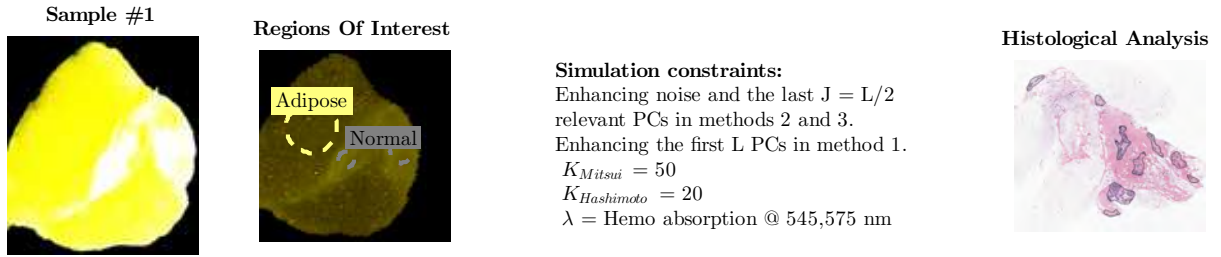
Resultados completos

En las siguientes páginas, se ofrece el análisis exhaustivo de cada espécimen y los resultados de llevar a cabo todas las diferentes simulaciones. El propósito de este anexo es servir de referencia a todo aquél que quiera replicar los resultados – algo que siempre se agradece.

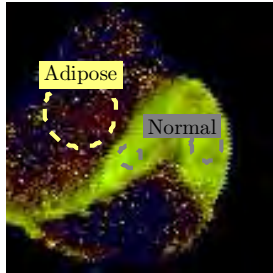
Todas las muestras y ROIs.



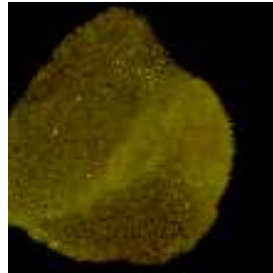




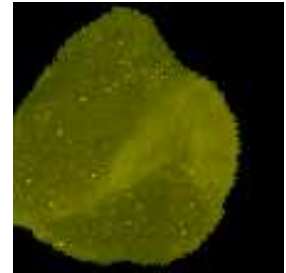
Mitsui. Amplif. primeras L=5



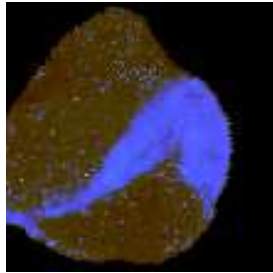
Mitsui Original. J=3



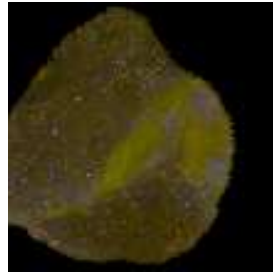
Mitsui Abs, J=3



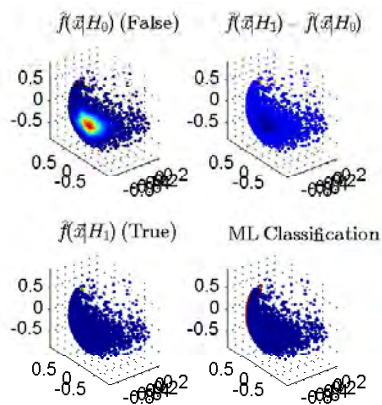
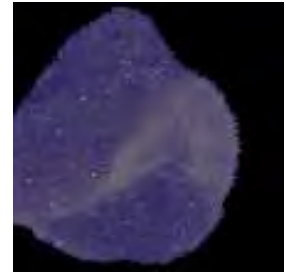
Hashimoto. Amplif. primeras L=5



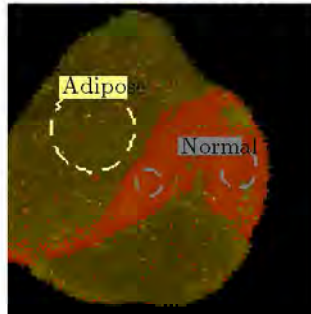
Hashimoto Original. J=3



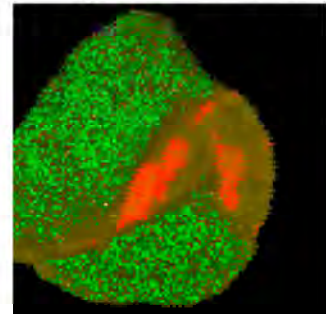
Hashimoto Abs, J=3

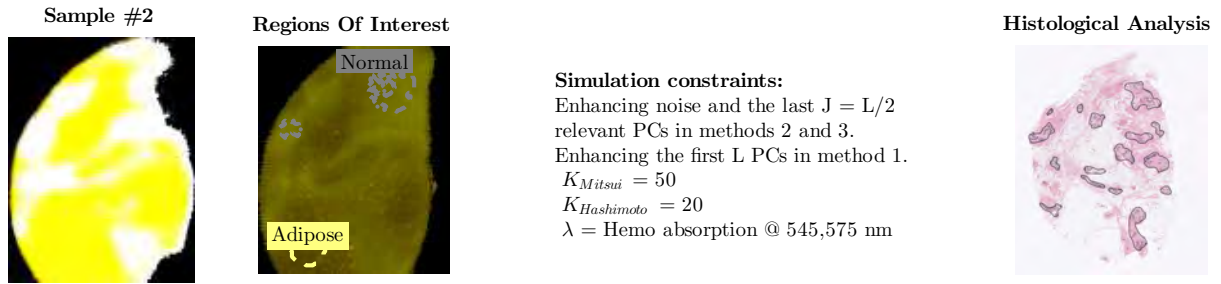


Simple Overlay

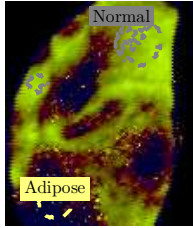


Spectral enhancement





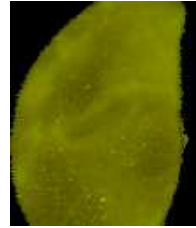
Mitsui. Amplif. primeras L=5



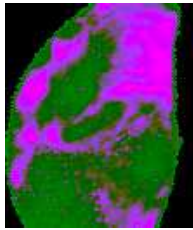
Mitsui Original. J=3



Mitsui Abs, J=3



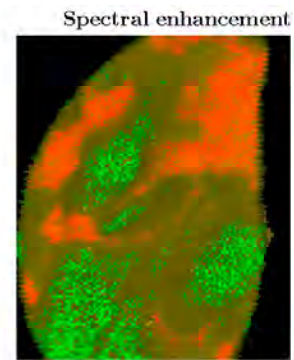
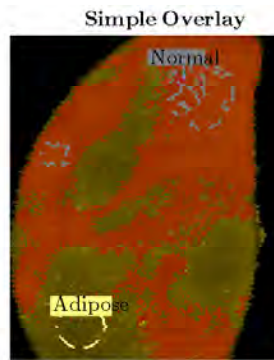
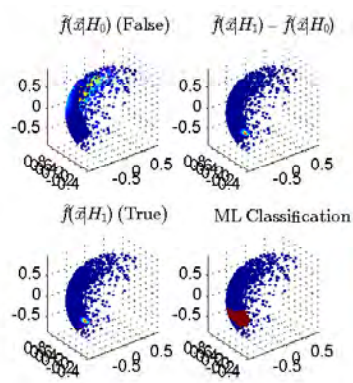
Hashimoto. Amplif. primeras L=5

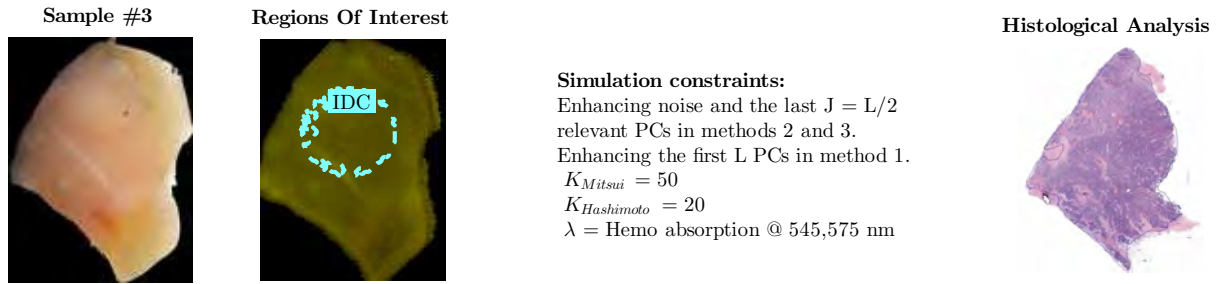


Hashimoto Original. J=3

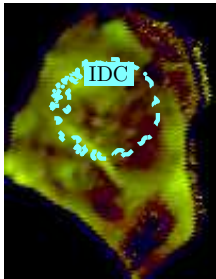


Hashimoto Abs, J=3

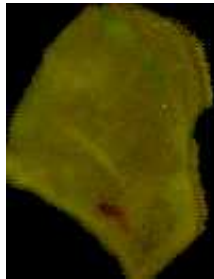




Mitsui. Amplif. primeras L=5



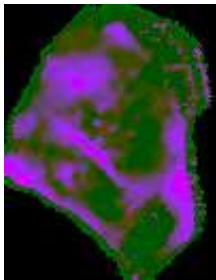
Mitsui Original. J=3



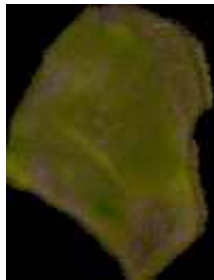
Mitsui Abs, J=3



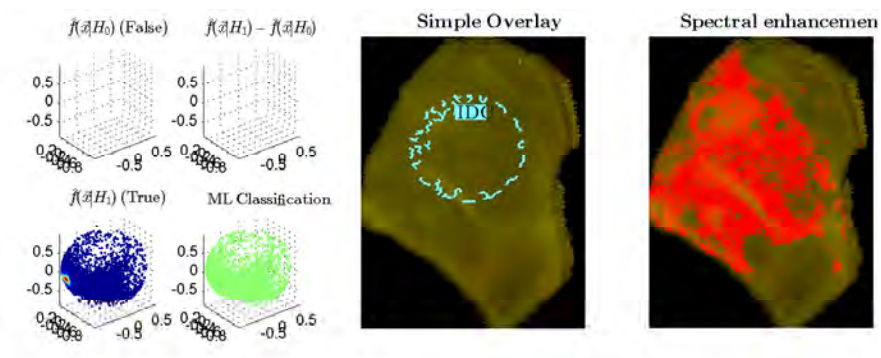
Hashimoto. Amplif. primeras L=5

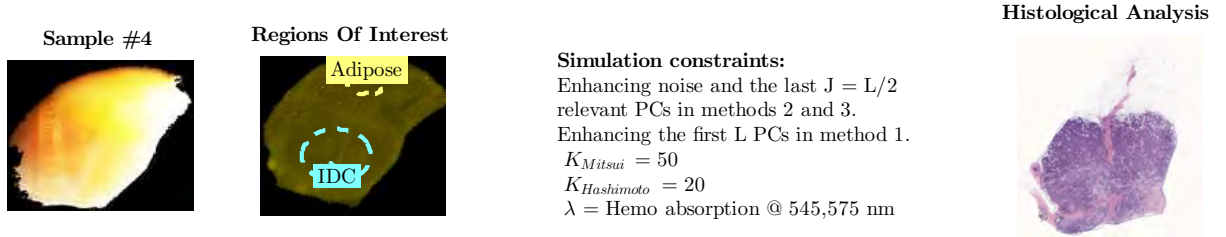


Hashimoto Original. J=3

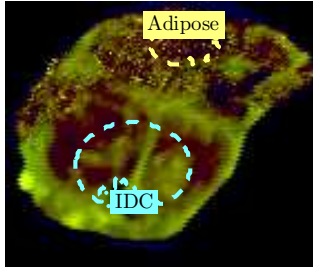


Hashimoto Abs, J=3

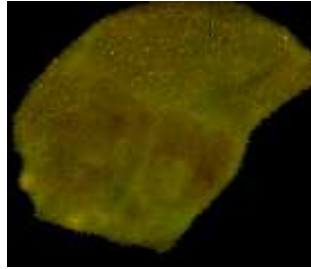




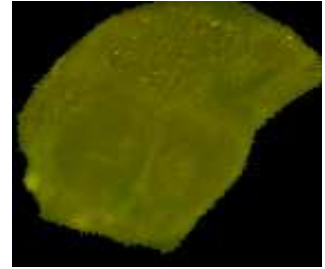
Mitsui. Amplif. primeras L=5



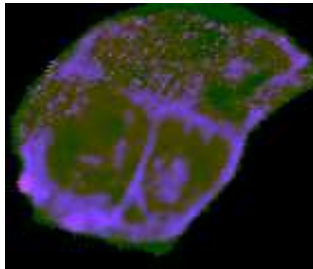
Mitsui Original. J=3



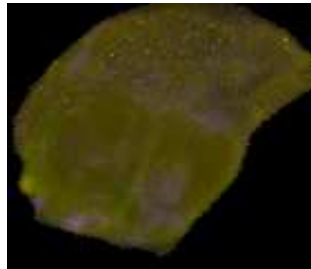
Mitsui Abs, J=3



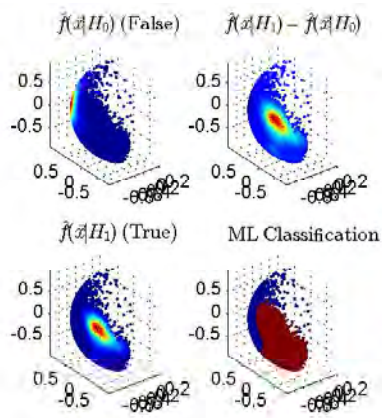
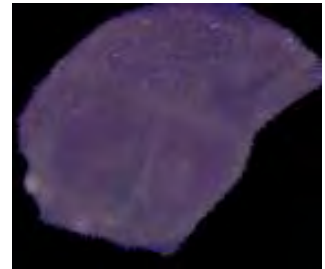
Hashimoto. Amplif. primeras L=5



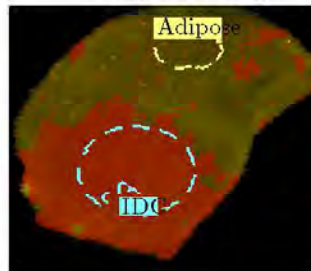
Hashimoto Original. J=3



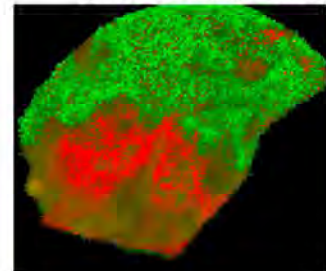
Hashimoto Abs, J=3

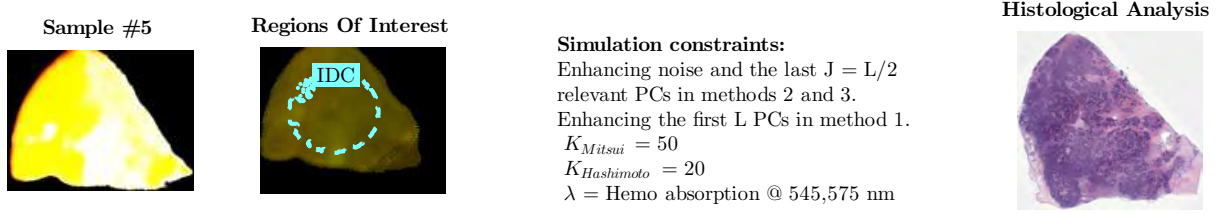


Simple Overlay

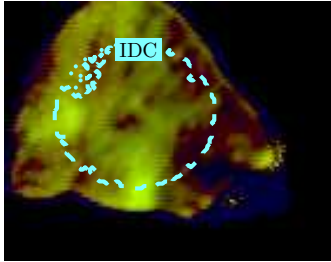


Spectral enhancement

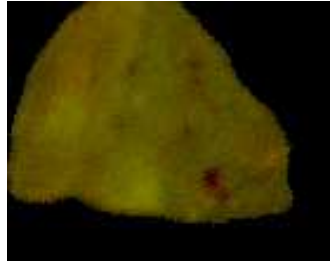




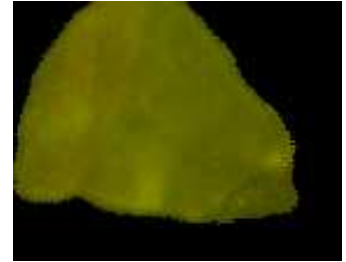
Mitsui. Amplif. primeras L=4



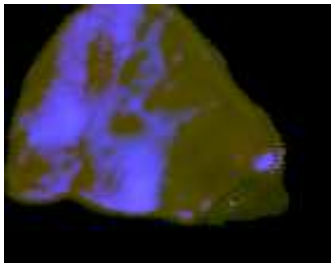
Mitsui Original. J=2



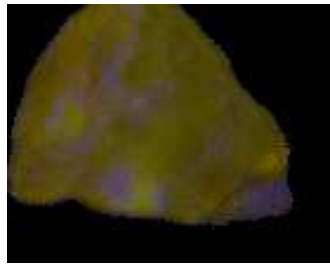
Mitsui Abs, J=2



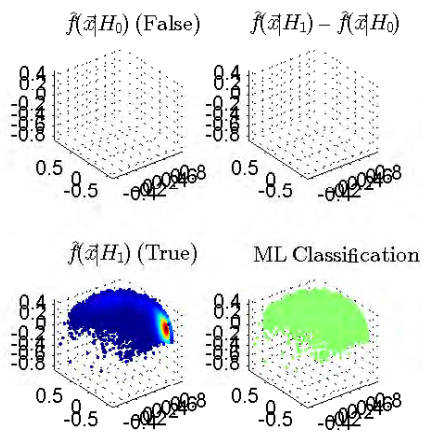
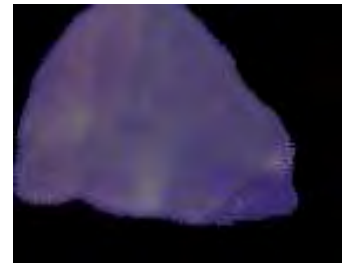
Hashimoto. Amplif. primeras L=4



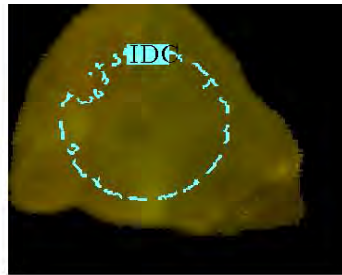
Hashimoto Original. J=2



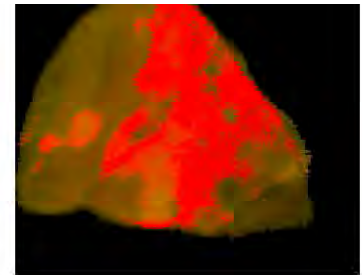
Hashimoto Abs, J=2

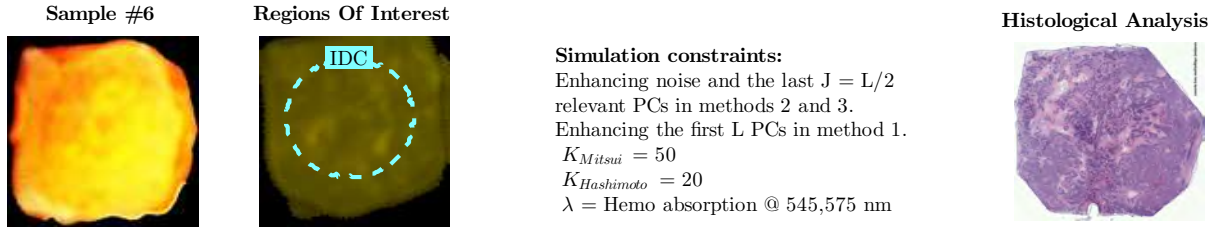


Simple Overlay

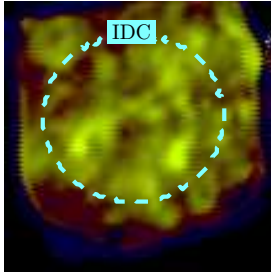


Spectral enhancement

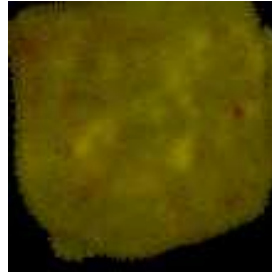




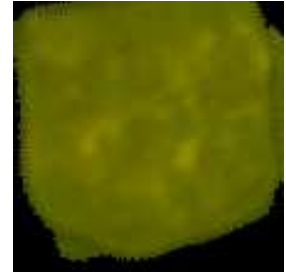
Mitsui. Amplif. primeras L=4



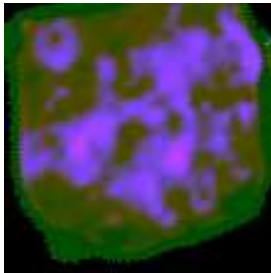
Mitsui Original. J=2



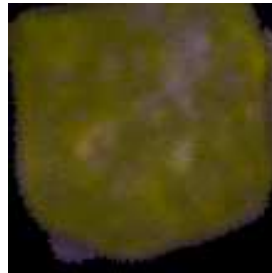
Mitsui Abs, J=2



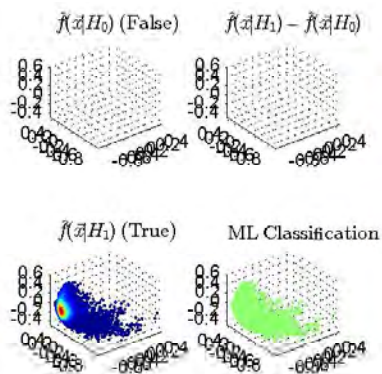
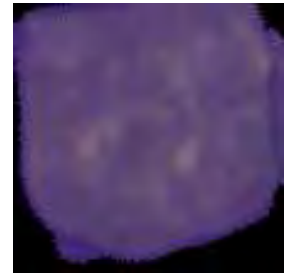
Hashimoto. Amplif. primeras L=4



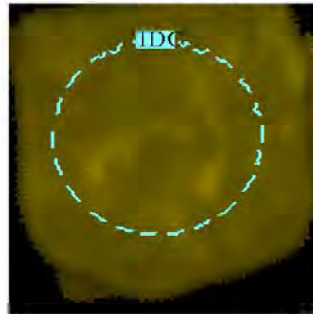
Hashimoto Original. J=2



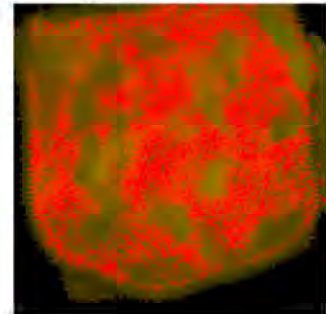
Hashimoto Abs, J=2

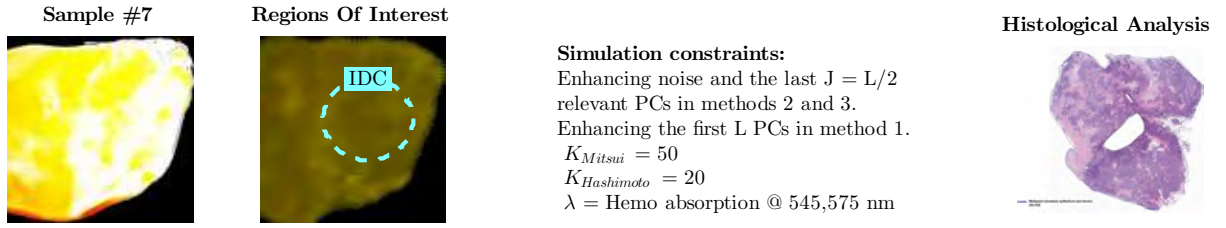


Simple Overlay

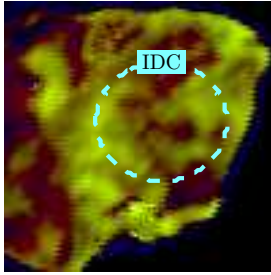


Spectral enhancement

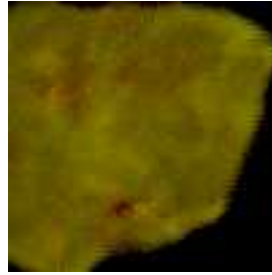




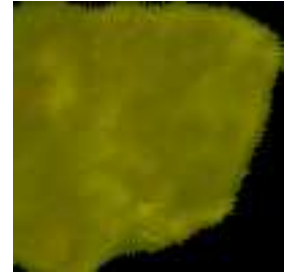
Mitsui. Amplif. primeras L=4



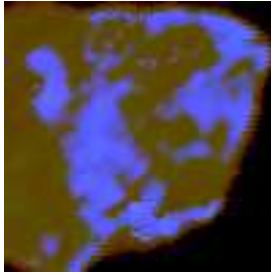
Mitsui Original. J=2



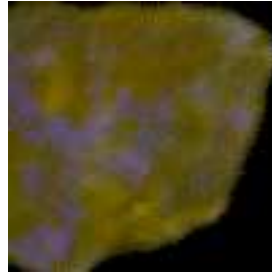
Mitsui Abs, J=2



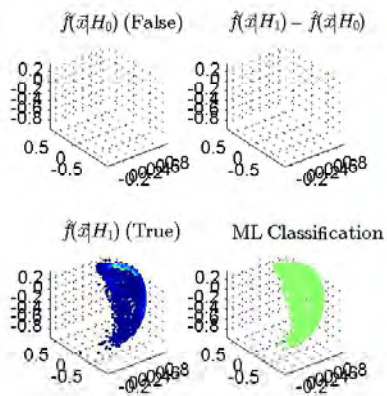
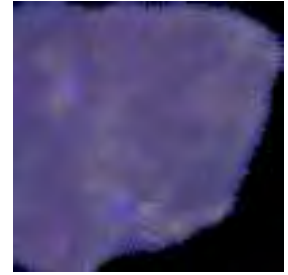
Hashimoto. Amplif. primeras L=4



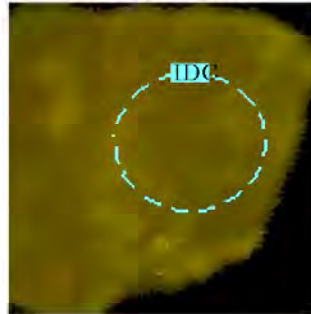
Hashimoto Original. J=2



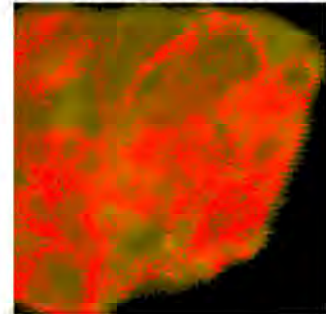
Hashimoto Abs, J=2


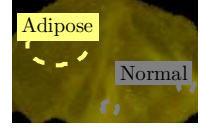
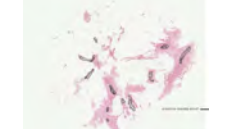


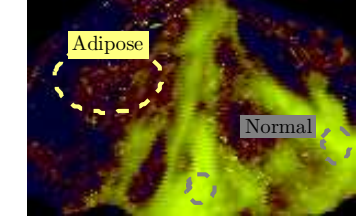
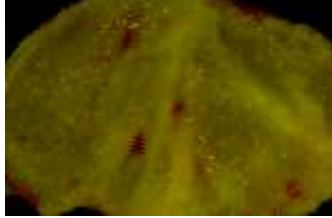
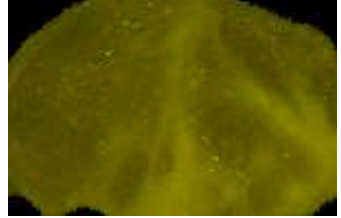
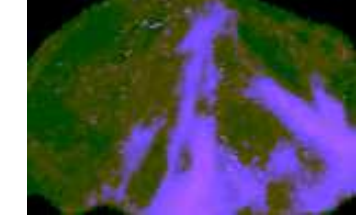
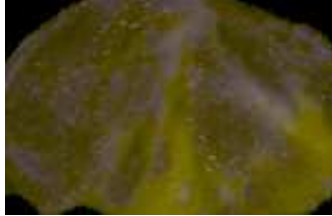
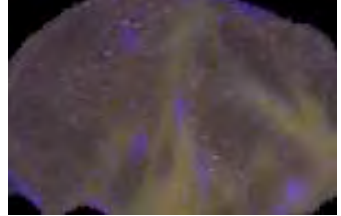
Simple Overlay

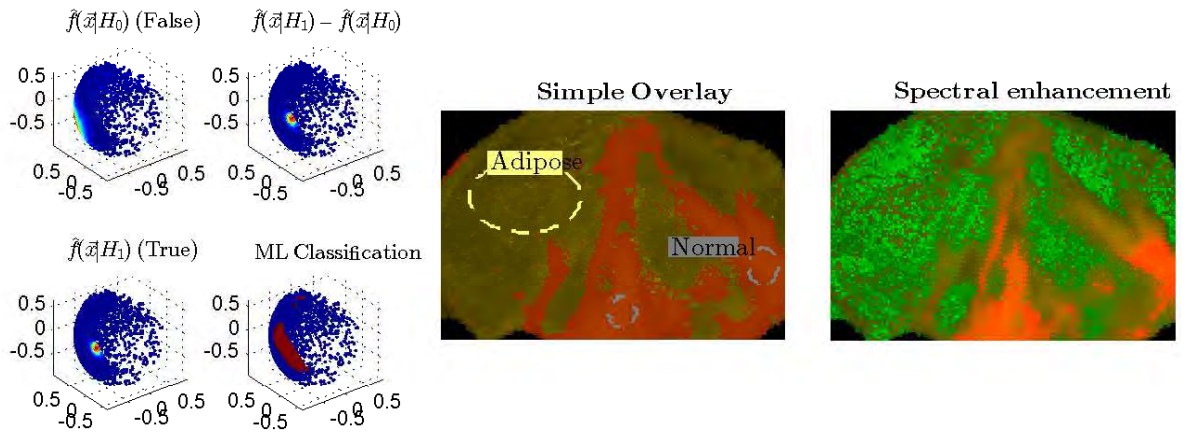


Spectral enhancement

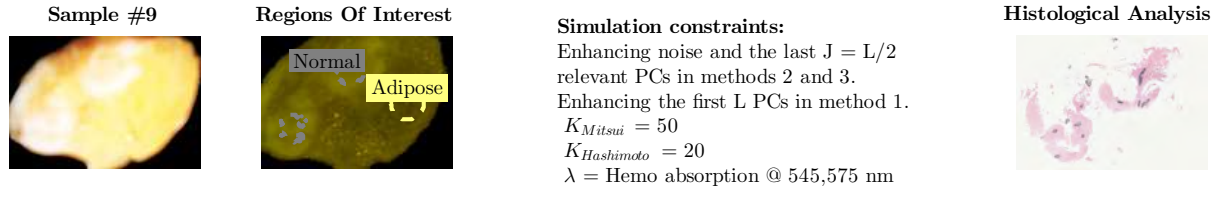


<p>Sample #8</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints: Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3. Enhancing the first L PCs in method 1. $K_{Mitsui} = 50$ $K_{Hashimoto} = 20$ $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
--	--	--	--

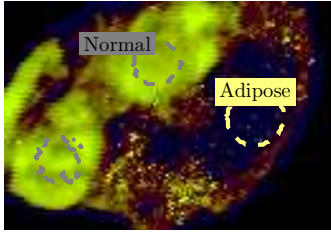
<p>Mitsui. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Mitsui Original. J=2</p> 	<p>Mitsui Abs, J=2</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Hashimoto Original. J=2</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=2</p> 



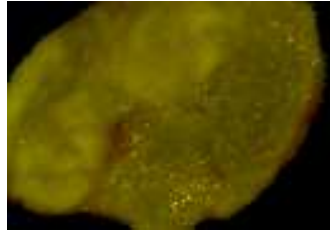
APÉNDICE . ANEXO 1.
RESULTADOS COMPLETOS



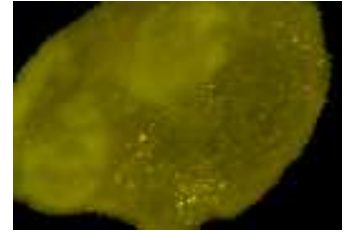
Mitsui. Amplif. primeras L=5



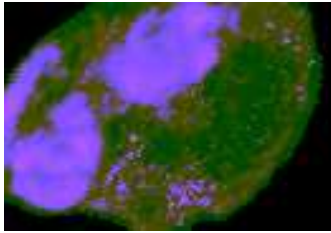
Mitsui Original. J=3



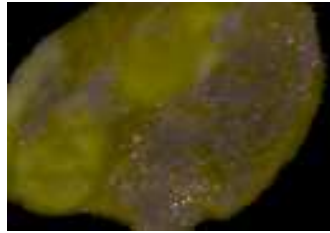
Mitsui Abs, J=3



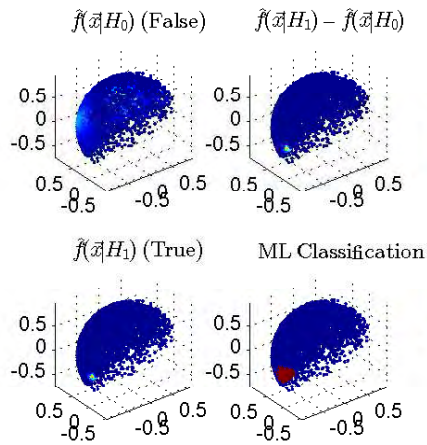
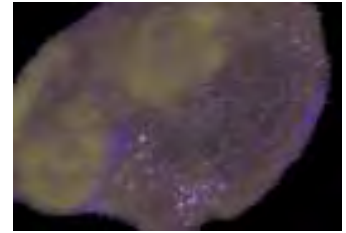
Hashimoto. Amplif. primeras L=5



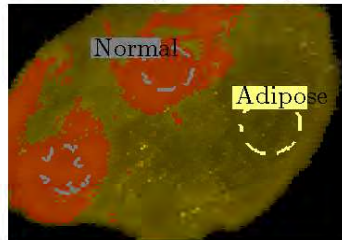
Hashimoto Original. J=3



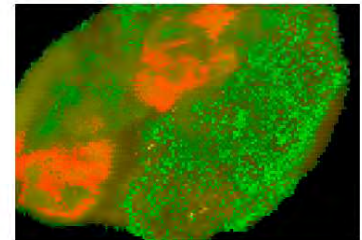
Hashimoto Abs, J=3

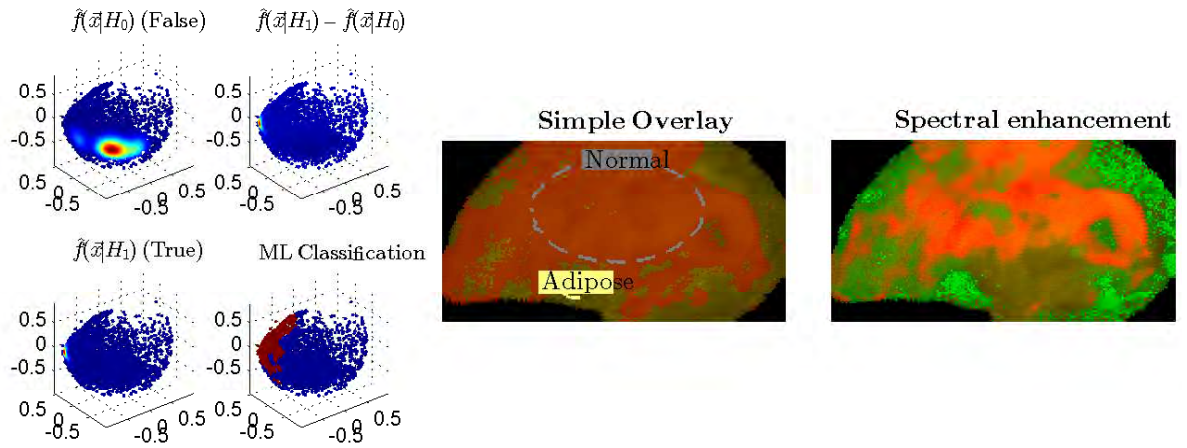
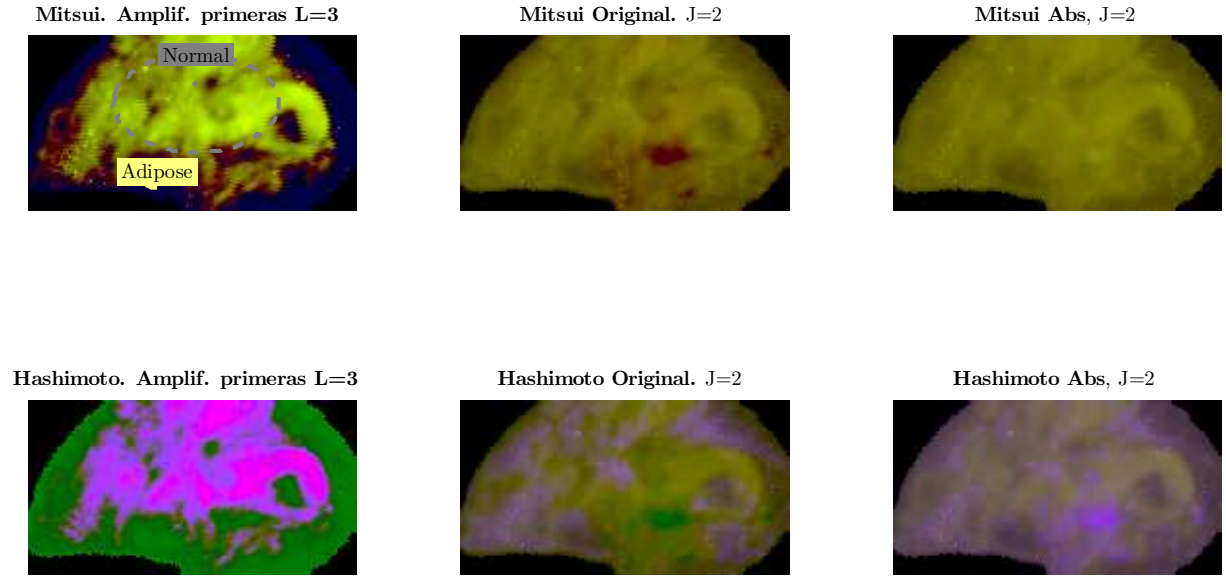
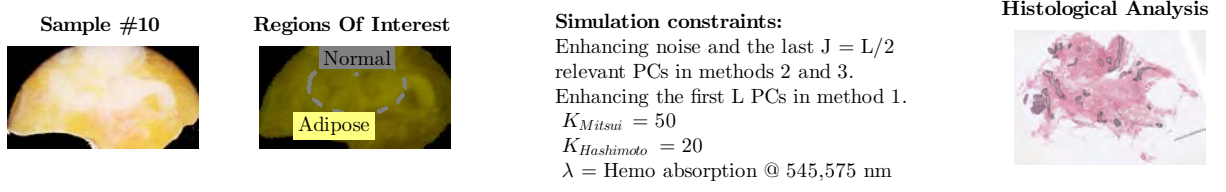



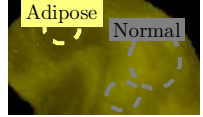
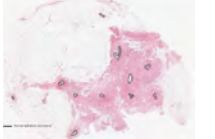
Simple Overlay

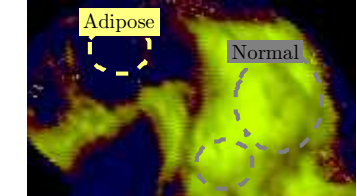
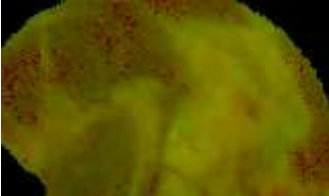

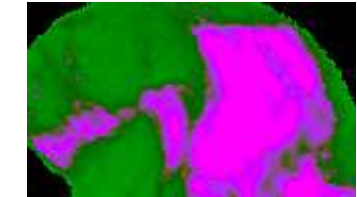
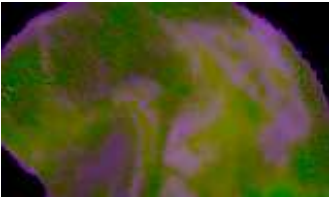
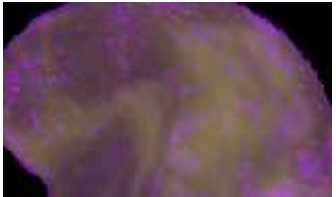


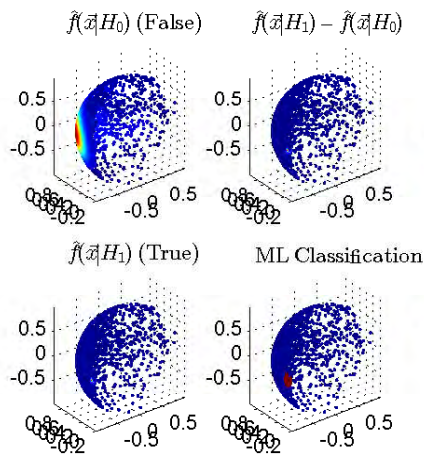
Spectral enhancement


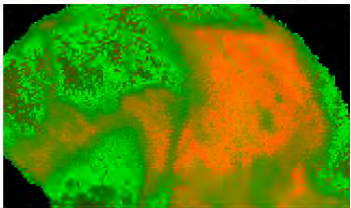




<p>Sample #11</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints:</p> <p>Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3.</p> <p>Enhancing the first L PCs in method 1.</p> <p>$K_{Mitsui} = 50$</p> <p>$K_{Hashimoto} = 20$</p> <p>$\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
---	--	--	--

<p>Mitsui. Amplif. primeras L=2</p> 	<p>Mitsui Original. J=1</p> 	<p>Mitsui Abs, J=1</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=2</p> 	<p>Hashimoto Original. J=1</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=1</p> 



<p>Simple Overlay</p> 	<p>Spectral enhancement</p> 
--	---

Sample #12



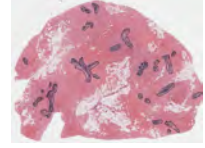
Regions Of Interest



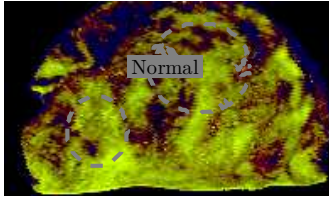
Simulation constraints:

Enhancing noise and the last $J = L/2$
relevant PCs in methods 2 and 3.
Enhancing the first L PCs in method 1.
 $K_{Mitsui} = 50$
 $K_{Hashimoto} = 20$
 λ = Hemo absorption @ 545,575 nm

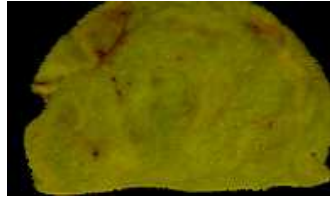
Histological Analysis



Mitsui. Amplif. primeras L=4



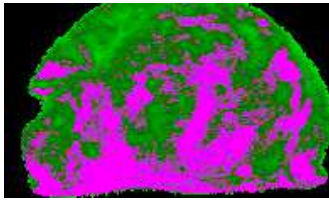
Mitsui Original. J=2



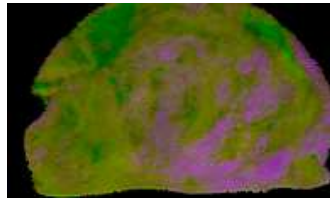
Mitsui Abs, J=2



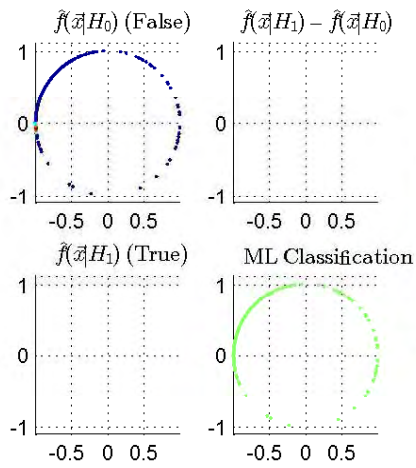
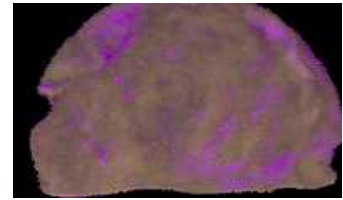
Hashimoto. Amplif. primeras L=4



Hashimoto Original. J=2



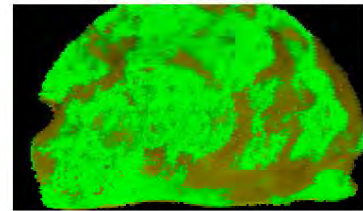
Hashimoto Abs, J=2



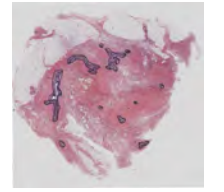


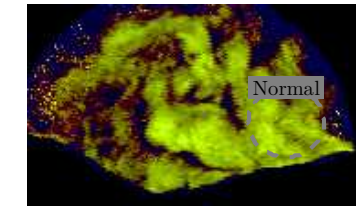
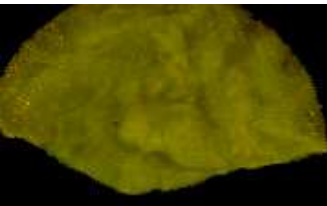
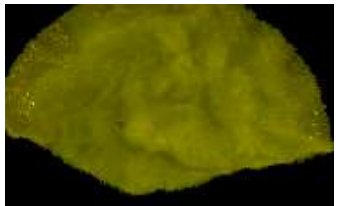
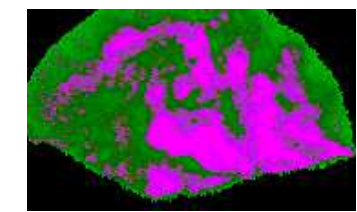
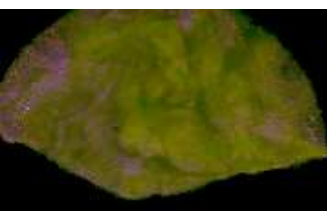
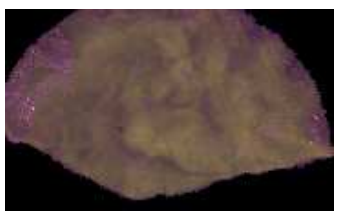
Simple Overlay

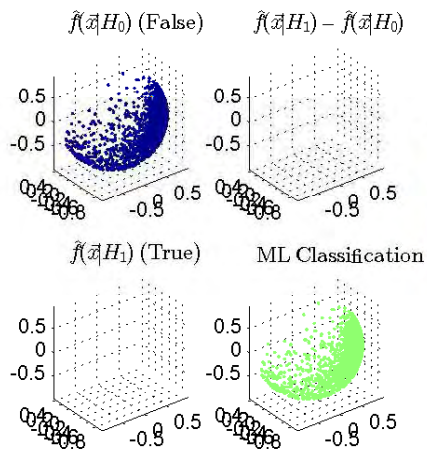


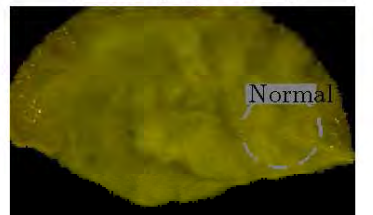
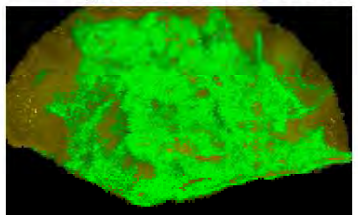
Spectral enhancement



<p>Sample #13</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints: Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3. Enhancing the first L PCs in method 1. $K_{Mitsui} = 50$ $K_{Hashimoto} = 20$ $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
---	--	--	--

<p>Mitsui. Amplif. primeras L=3</p> 	<p>Mitsui Original. J=2</p> 	<p>Mitsui Abs, J=2</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=3</p> 	<p>Hashimoto Original. J=2</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=2</p> 



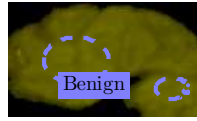
<p>Simple Overlay</p> 	<p>Spectral enhancement</p> 
--	---

Histological Analysis

Sample #14

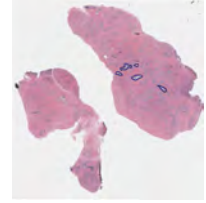


Regions Of Interest

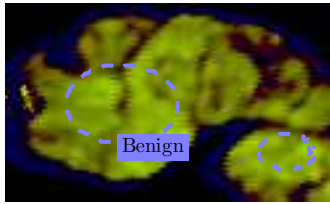


Simulation constraints:

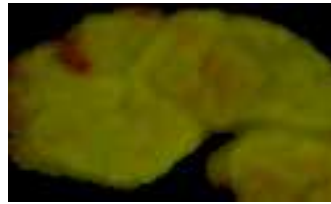
Enhancing noise and the last $J = L/2$
relevant PCs in methods 2 and 3.
Enhancing the first L PCs in method 1.
 $K_{Mitsui} = 50$
 $K_{Hashimoto} = 20$
 $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$



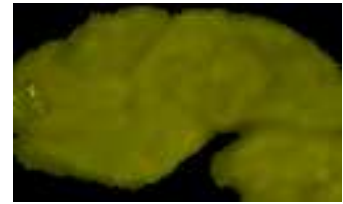
Mitsui. Amplif. primeras L=2



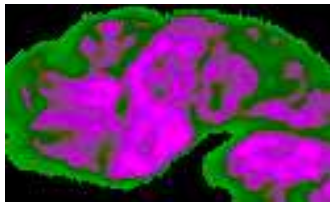
Mitsui Original. J=1



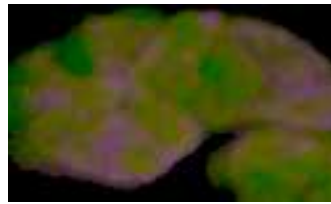
Mitsui Abs, J=1



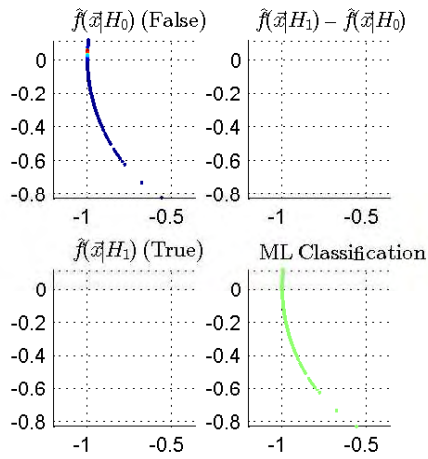
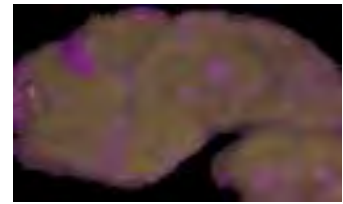
Hashimoto. Amplif. primeras L=2



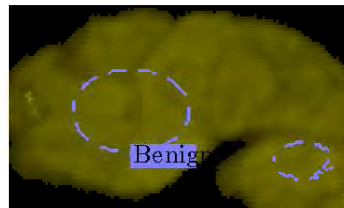
Hashimoto Original. J=1



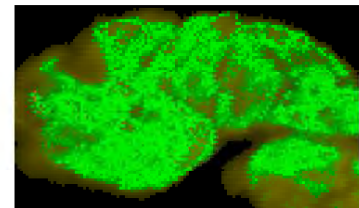
Hashimoto Abs, J=1



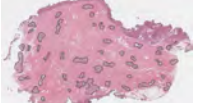


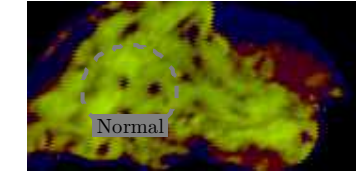
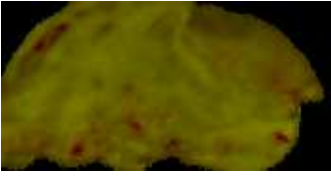

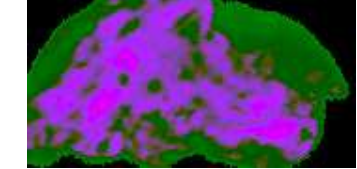
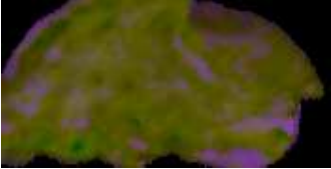
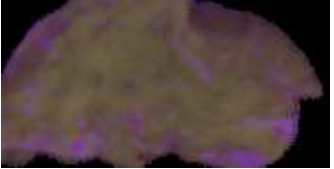
Simple Overlay

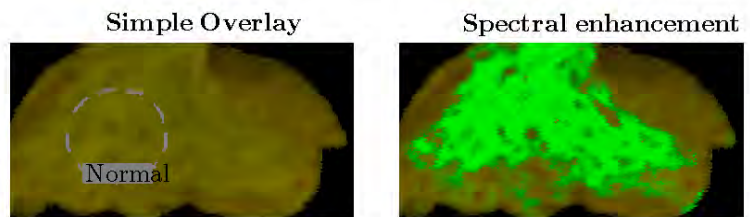
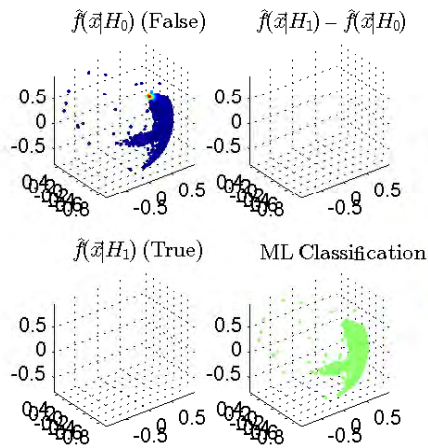


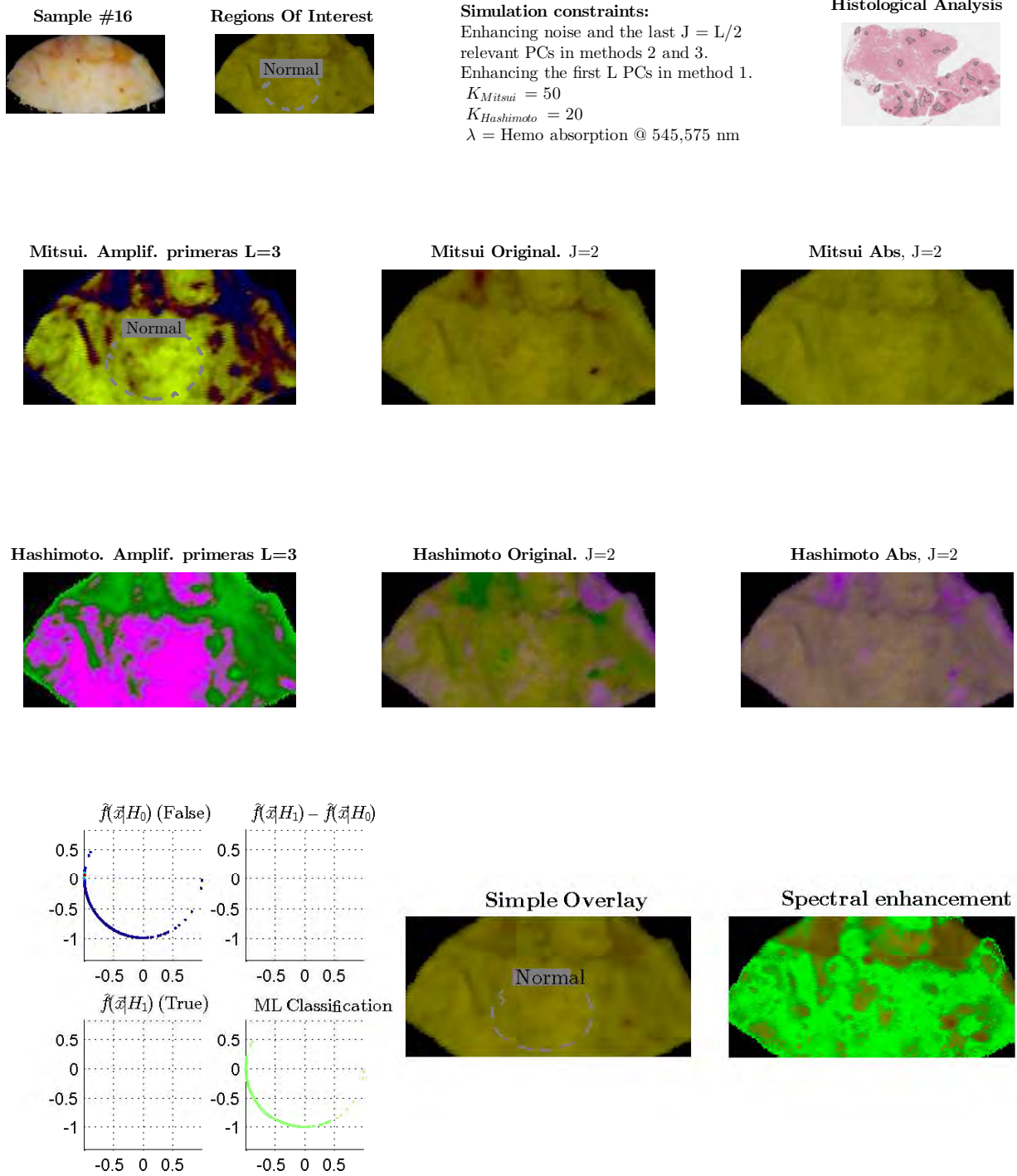
Spectral enhancement



<p>Sample #15</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints: Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3. Enhancing the first L PCs in method 1. $K_{Mitsui} = 50$ $K_{Hashimoto} = 20$ $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
---	--	---	--

<p>Mitsui. Amplif. primeras L=3</p> 	<p>Mitsui Original. J=2</p> 	<p>Mitsui Abs, J=2</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=3</p> 	<p>Hashimoto Original. J=2</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=2</p> 





Sample #17



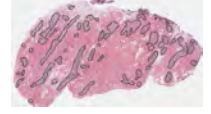
Regions Of Interest



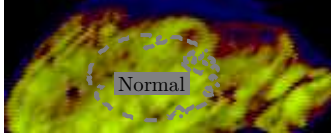
Simulation constraints:

Enhancing noise and the last $J = L/2$
relevant PCs in methods 2 and 3.
Enhancing the first L PCs in method 1.
 $K_{Mitsui} = 50$
 $K_{Hashimoto} = 20$
 $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$

Histological Analysis



Mitsui. Amplif. primeras L=3



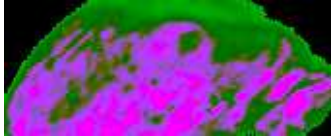
Mitsui Original. J=2



Mitsui Abs, J=2



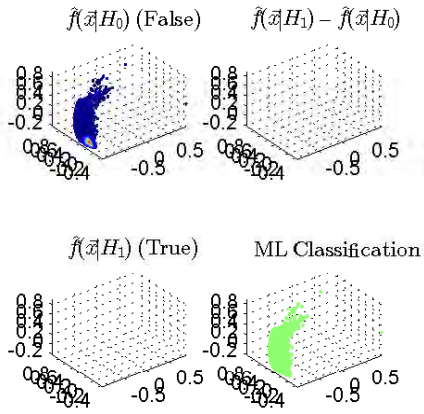
Hashimoto. Amplif. primeras L=3



Hashimoto Original. J=2



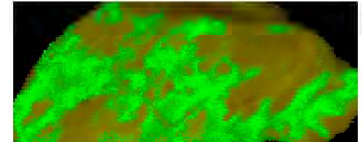
Hashimoto Abs, J=2

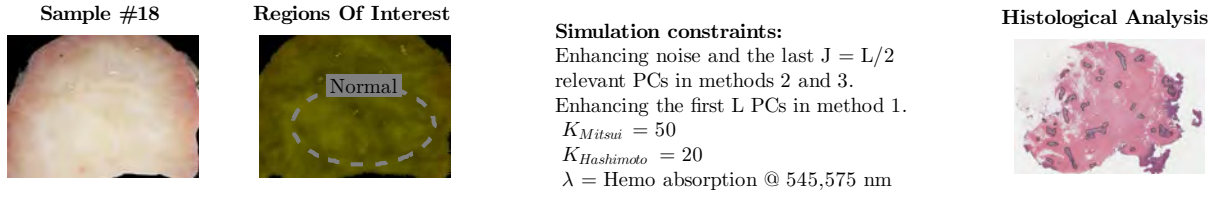


Simple Overlay

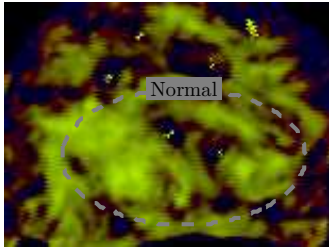


Spectral enhancement

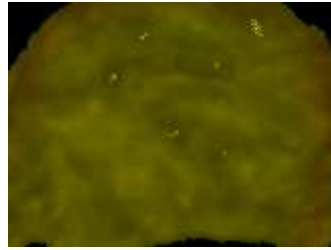




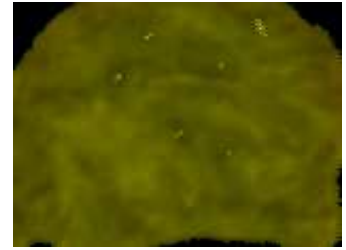
Mitsui. Amplif. primeras L=3



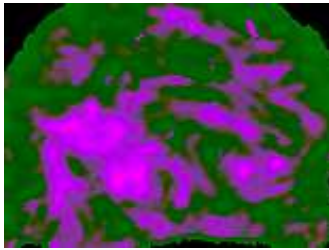
Mitsui Original. J=2



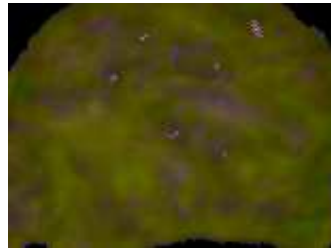
Mitsui Abs, J=2



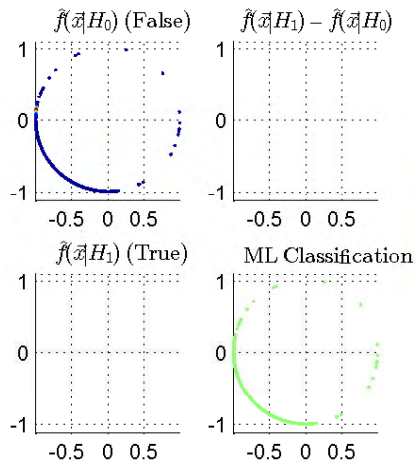
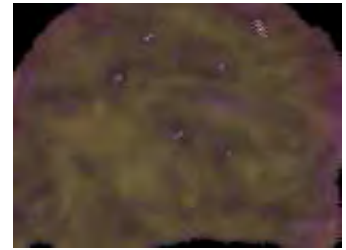
Hashimoto. Amplif. primeras L=3



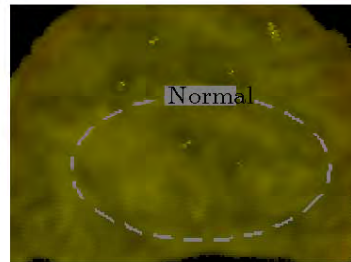
Hashimoto Original. J=2



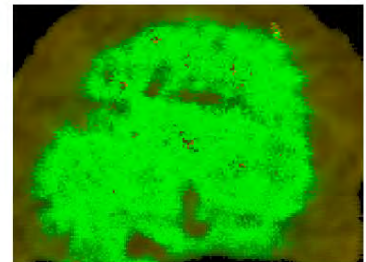
Hashimoto Abs, J=2

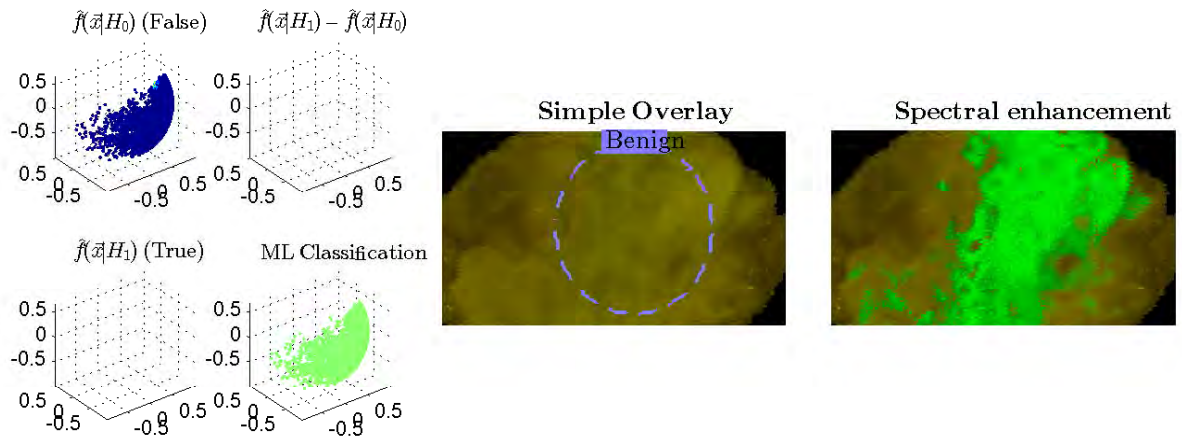
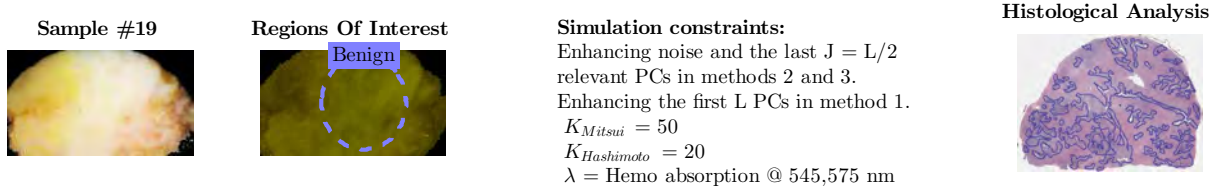


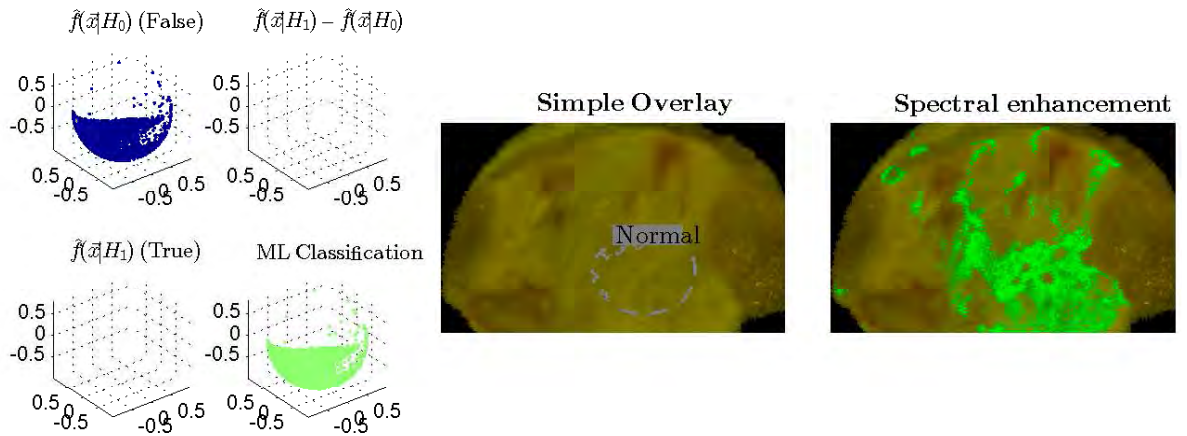
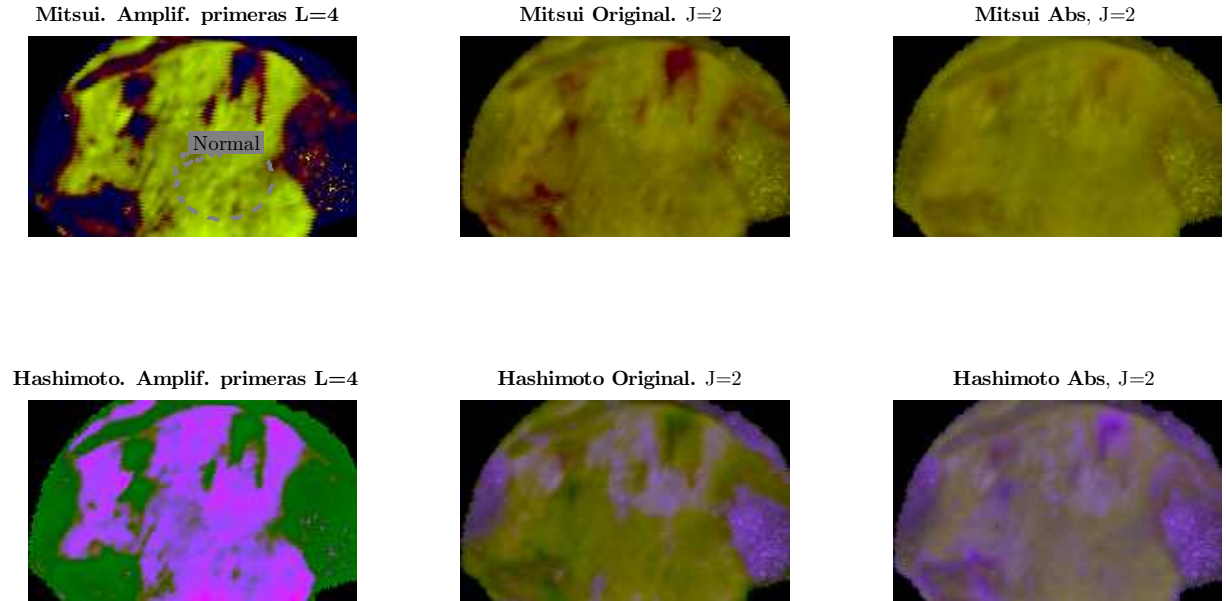
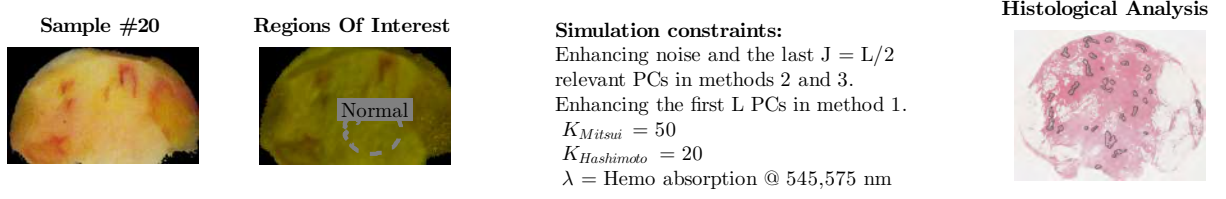
Simple Overlay

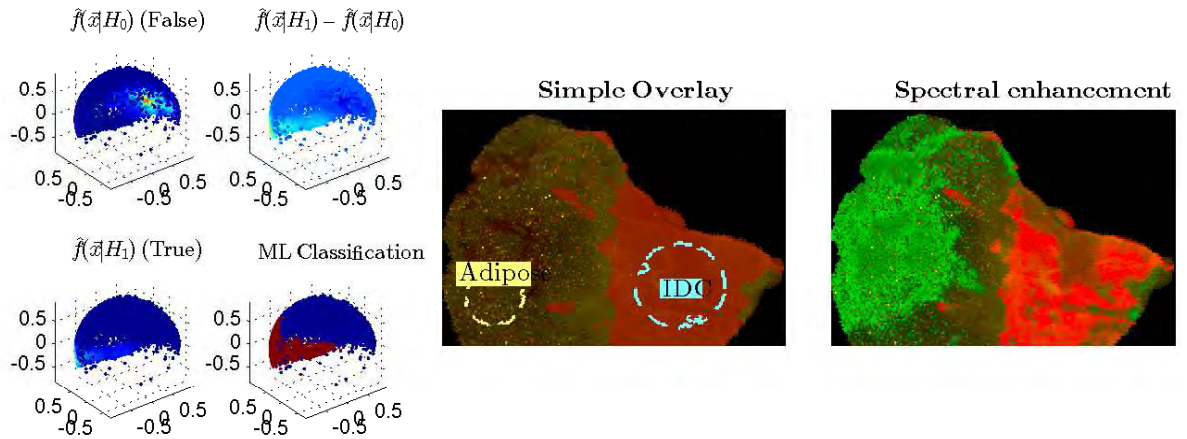
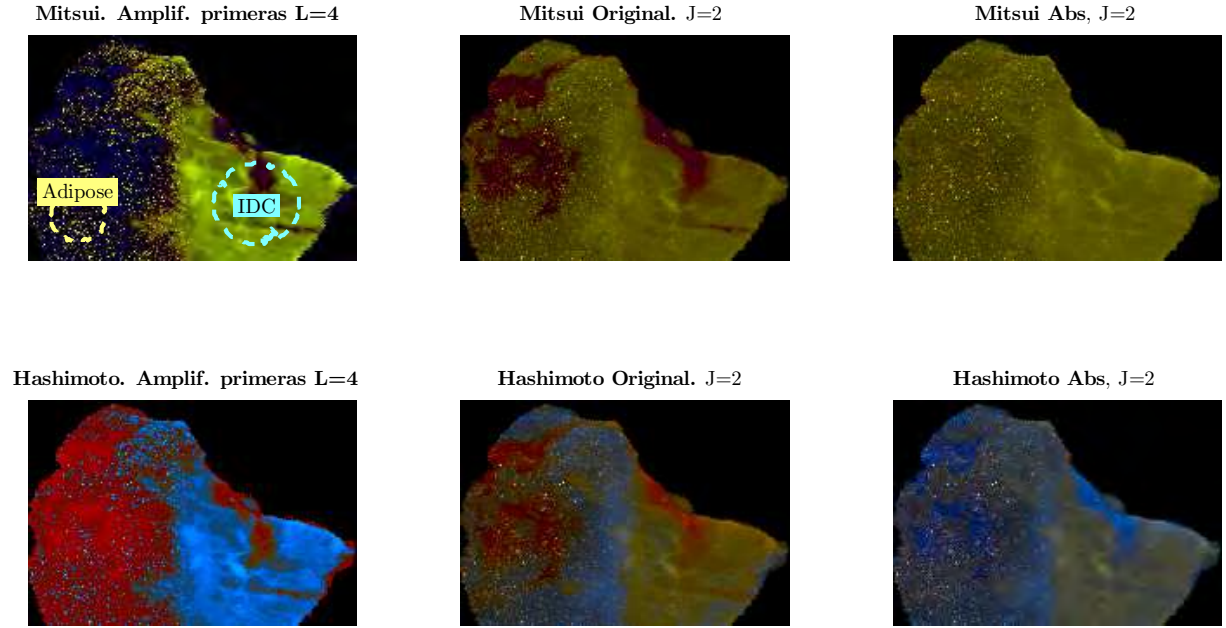
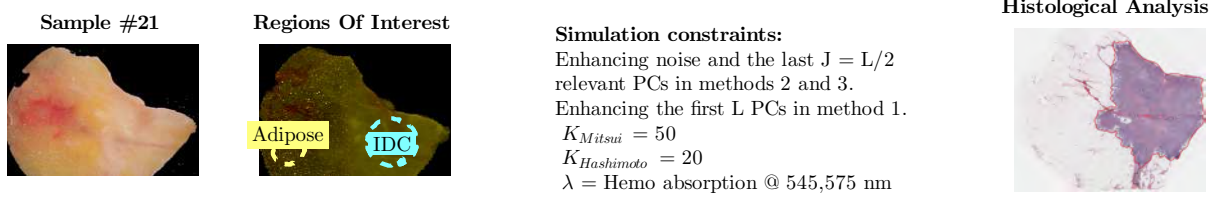



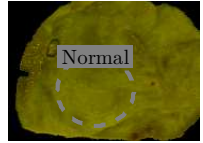
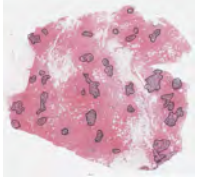
Spectral enhancement

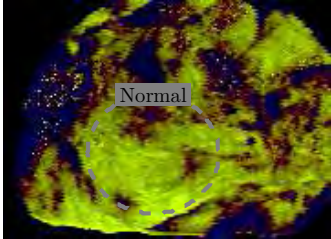
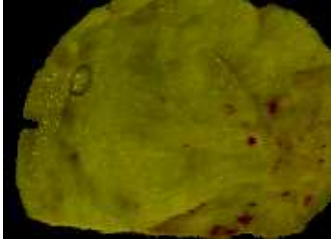
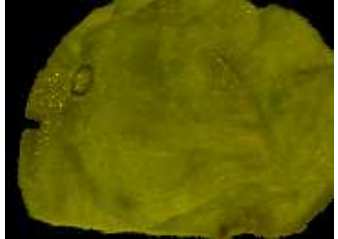
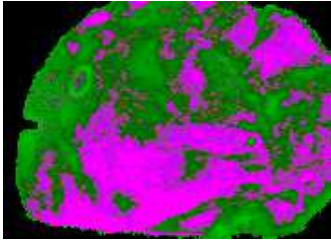
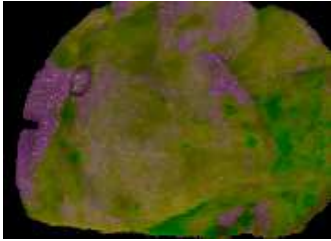
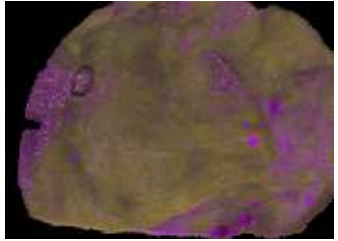


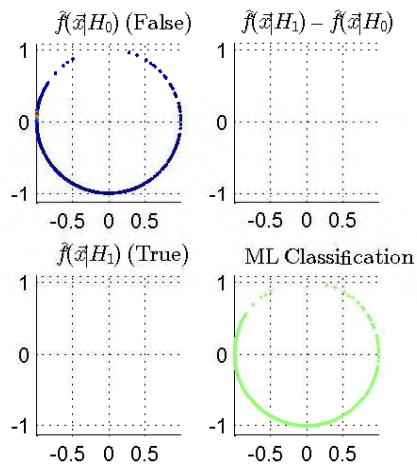


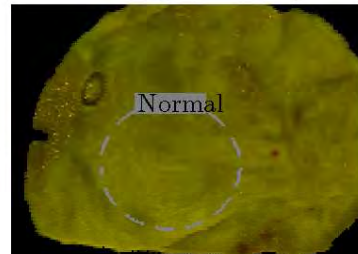
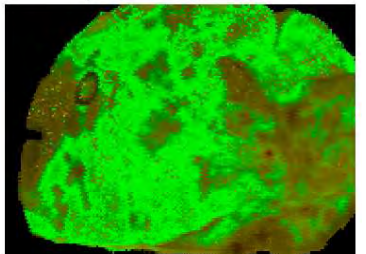


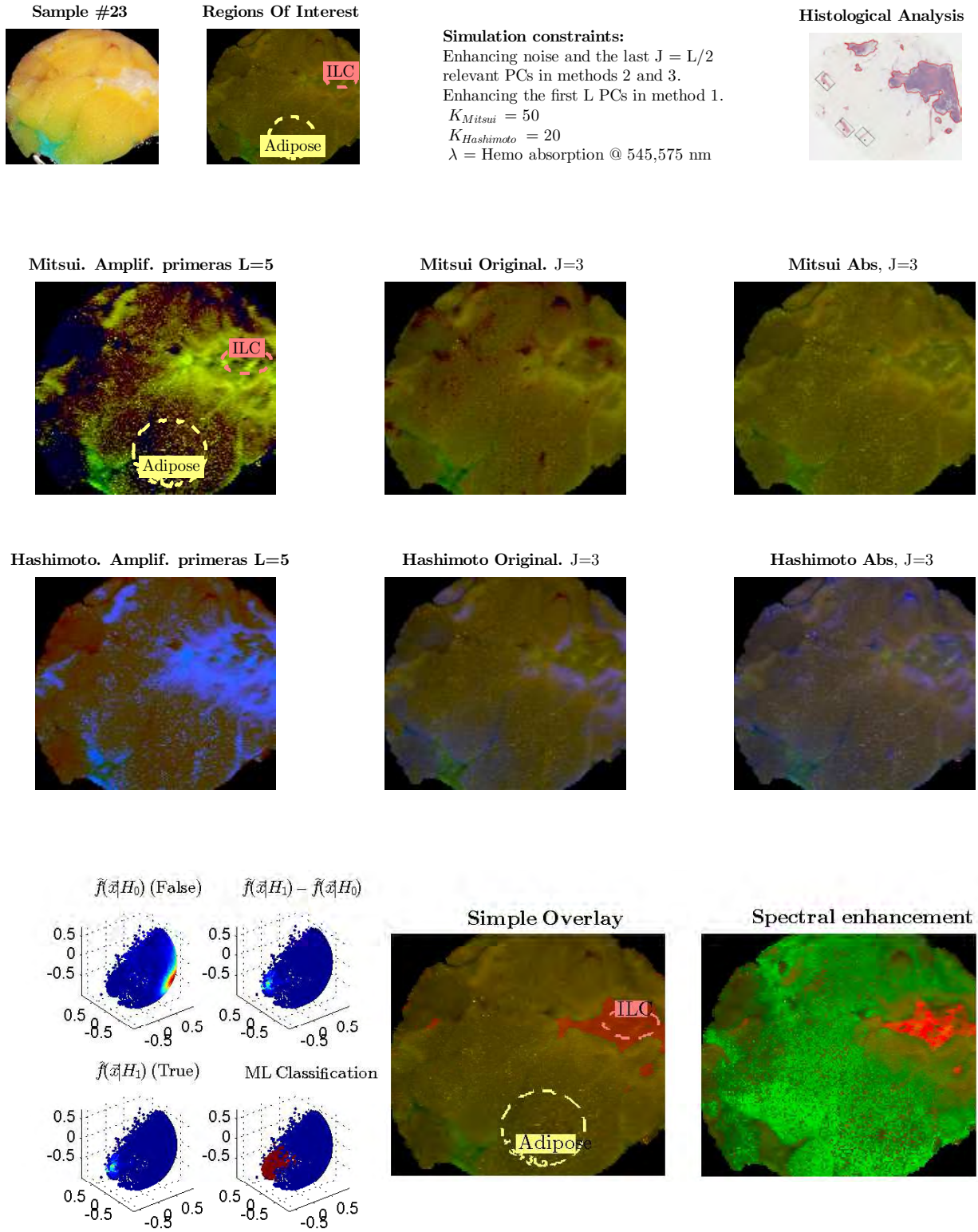



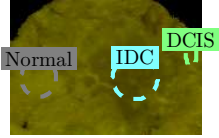
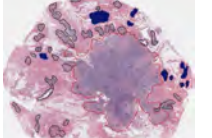
<p>Sample #22</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints: Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3. Enhancing the first L PCs in method 1. $K_{Mitsui} = 50$ $K_{Hashimoto} = 20$ $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
---	--	--	--

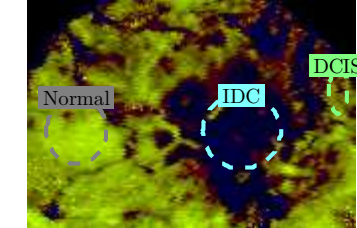
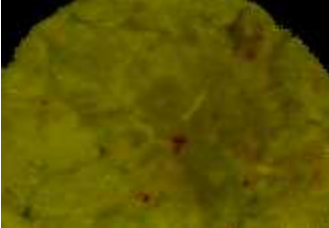
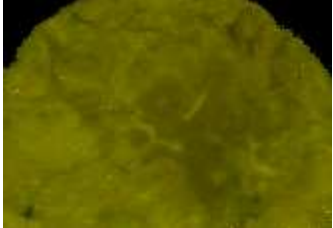
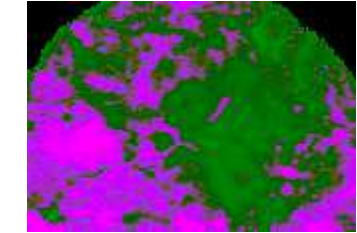
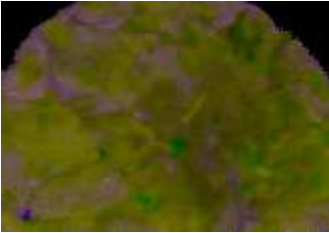
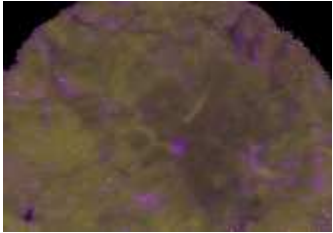
<p>Mitsui. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Mitsui Original. J=2</p> 	<p>Mitsui Abs, J=2</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Hashimoto Original. J=2</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=2</p> 

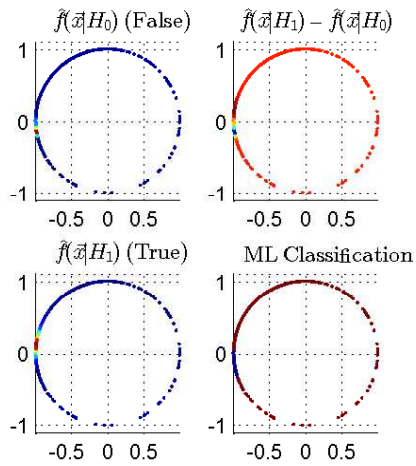


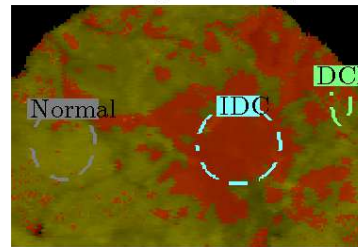
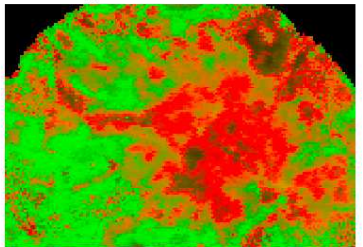
<p>Simple Overlay</p> 	<p>Spectral enhancement</p> 
--	---

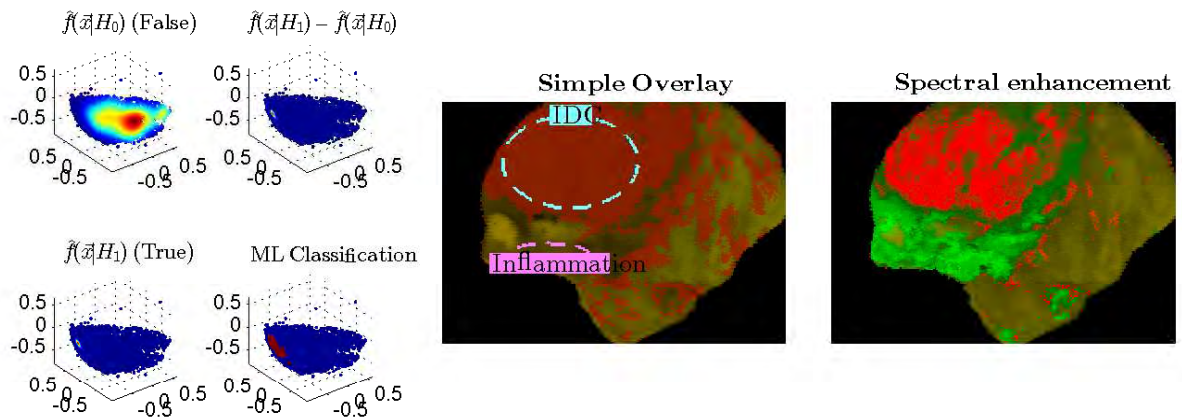
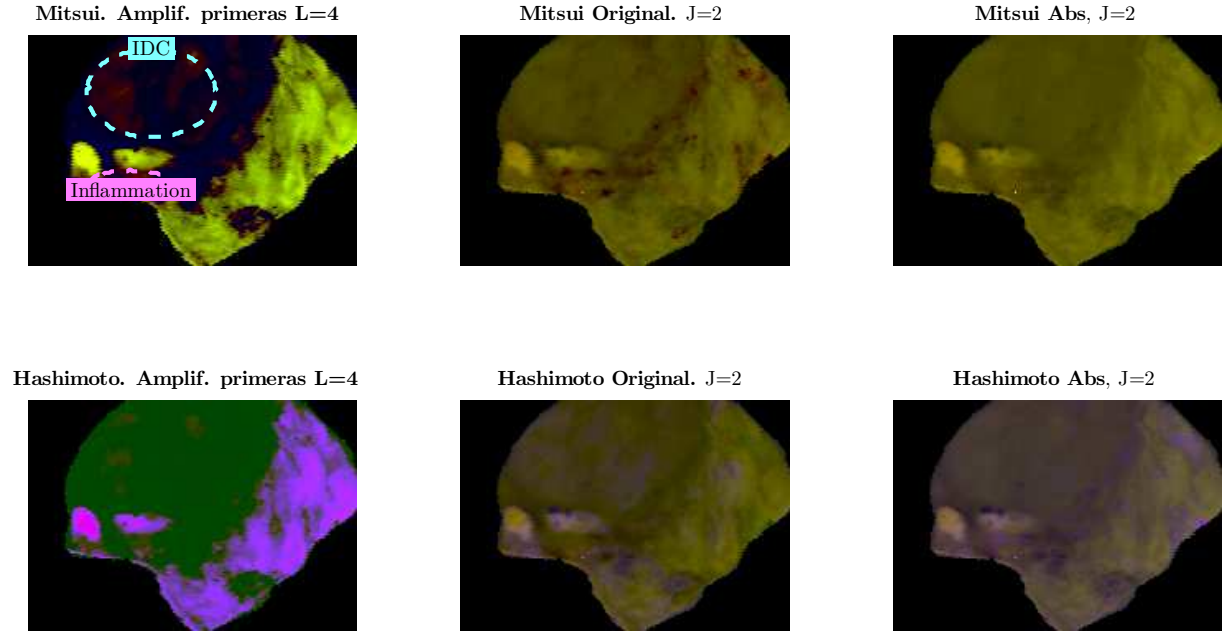
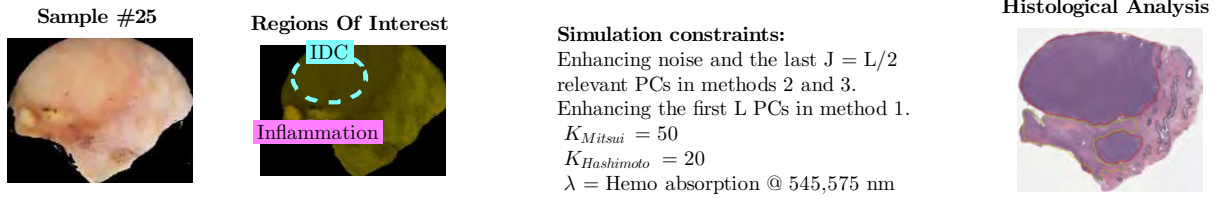



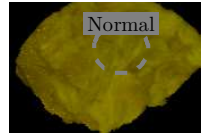
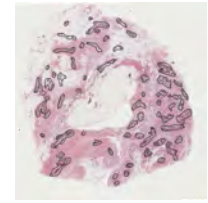
<p>Sample #24</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints: Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3. Enhancing the first L PCs in method 1. $K_{Mitsui} = 50$ $K_{Hashimoto} = 20$ $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545,575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
---	--	---	--

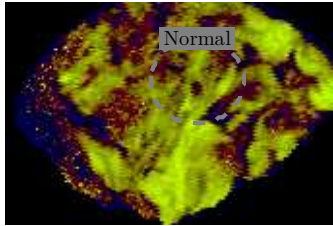
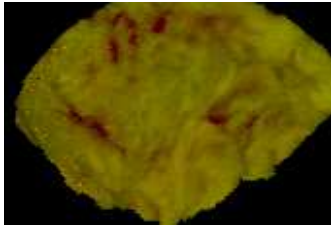
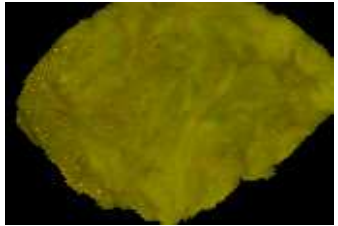
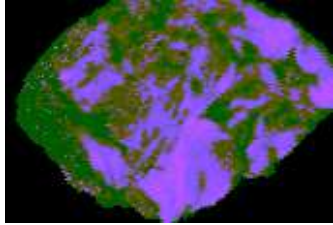
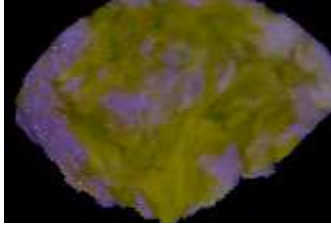
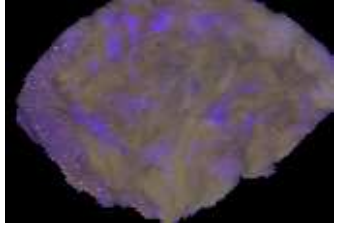
<p>Mitsui. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Mitsui Original. J=2</p> 	<p>Mitsui Abs, J=2</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Hashimoto Original. J=2</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=2</p> 

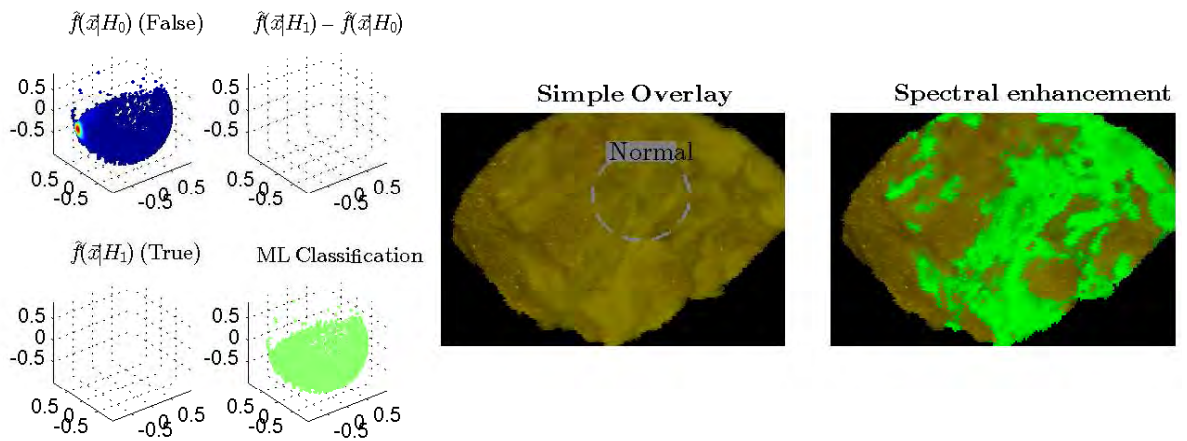


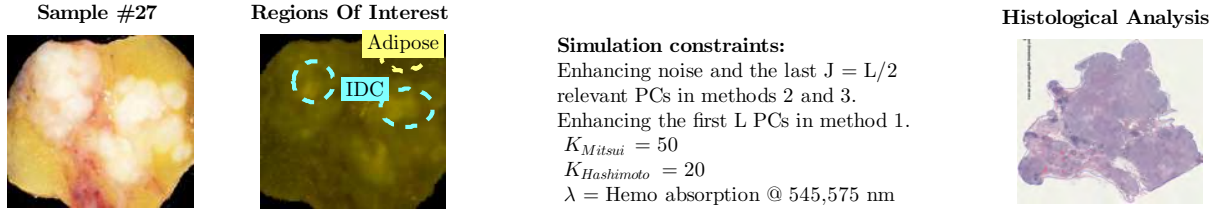
<p>Simple Overlay</p> 	<p>Spectral enhancement</p> 
--	---



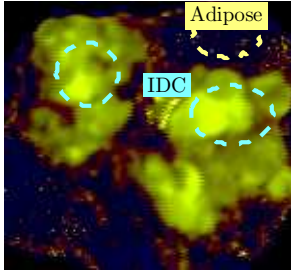
<p>Sample #26</p> 	<p>Regions Of Interest</p> 	<p>Simulation constraints: Enhancing noise and the last $J = L/2$ relevant PCs in methods 2 and 3. Enhancing the first L PCs in method 1. $K_{Mitsui} = 50$ $K_{Hashimoto} = 20$ $\lambda = \text{Hemo absorption @ } 545, 575 \text{ nm}$</p>	<p>Histological Analysis</p> 
---	--	---	--

<p>Mitsui. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Mitsui Original. J=2</p> 	<p>Mitsui Abs, J=2</p> 
<p>Hashimoto. Amplif. primeras L=4</p> 	<p>Hashimoto Original. J=2</p> 	<p>Hashimoto Abs, J=2</p> 

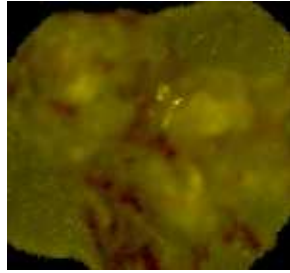




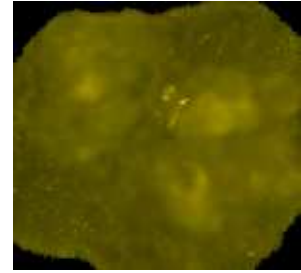
Mitsui. Amplif. primeras L=3



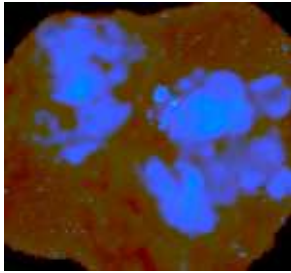
Mitsui Original. J=2



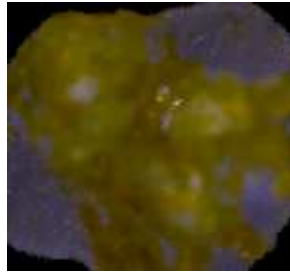
Mitsui Abs, J=2



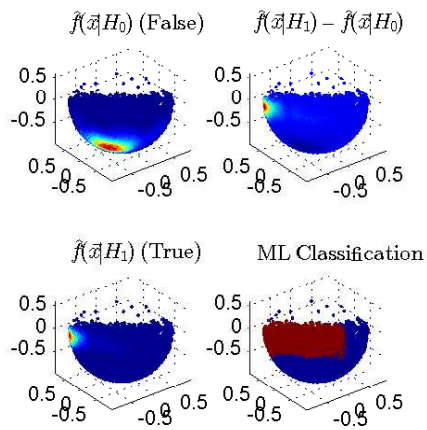
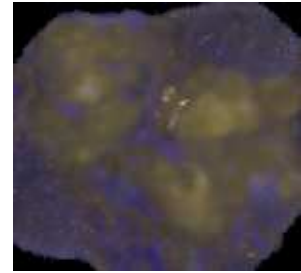
Hashimoto. Amplif. primeras L=3



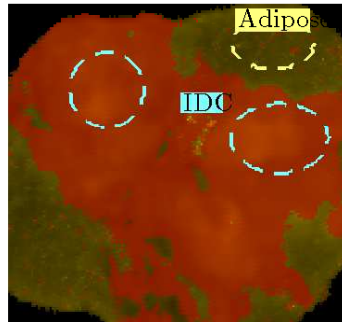
Hashimoto Original. J=2



Hashimoto Abs, J=2



Simple Overlay



Spectral enhancement

